



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
IZTACALA

**“RELACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN SÉRICA
DE LA LIPOCALINA 2 Y LA INGESTA DE
ALIMENTO EN RATONES CON ENFERMEDAD
PERIODONTAL Y DIABETES TIPO 2”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

CIRUJANO DENTISTA

P R E S E N T A :

MENDOZA GUTIÉRREZ SHERLY MARLENE

TUTORA:

DRA. GARCÍA HERNÁNDEZ ANA LILIA

Comité tutor:

Dr. Isaac Obed Pérez Martínez

M. en C. Saúl Ernesto Cifuentes Mendiola

M. en C. Claudia Daniela Montes Ángeles



Ciudad de México, Mayo 2022



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.

ÍNDICE

Introducción	1
Marco teórico	4
Antecedentes	4
Objetivos	5
objetivo general	5
objetivos específicos	5
Hipótesis	6
Material y métodos	6
Resultados	9
1. Resultados del consumo de alimento	9
2. Resultados del consumo de kilocalorías	11
3. Peso y circunferencia abdominal de los ratones	12
4. Resultados de IMC	14
5. Resultados de glucosa y concentración de insulina	15
6. Resultados de resistencia a la insulina	17
7. Resultados de tolerancia a la glucosa (12 y 21 semanas)	18
8. Resultados curva de tolerancia a la insulina (13 y 21 semanas)	19
9. Resultados de LCN2 en suero por semana	21
10. Medición de la pérdida ósea vestibular	23
11. Medición de la pérdida ósea palatina	24
12. Mapa de correlación Pearson	26
Discusión	27
Conclusiones	31
Bibliografía	32

Investigación realizada gracias al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (UNAM-DGAPA-PAPIIT) por el financiamiento para la realización de este trabajo con numero de proyecto: IN213122 y el financiamiento del proyecto FESI-PAPCA 2021-2022-27

AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIA

Agradezco a la UNAM, que me dio la Educación Media y la Superior, a la FES Iztacala, a la FES Zaragoza, a la Clínica Almaraz, y al Laboratorio de Investigación de la Fes Iztacala, por permitirme ser parte de su comunidad.

Agradezco a la doctora Ana Lilia García Hernández y al Doctor Isaac Obed Pérez Martínez, quienes creyeron y confiaron en mí, porque con paciencia me dieron la oportunidad de conocerlos y aprender de su ejemplo; a mis compañeros: el M. en. C Saúl Ernesto Cifuentes Mendiola y a la Maestra Diana Laura Solís Suarez que participaron conmigo de sus conocimientos, investigaciones y que con ellos conocí el ámbito científico de mi carrera.

Agradezco a mi odontopediatra Sonia, al Doctor Said El Yacoubi y a la C.D Ortodoncista Marisol Reyes Tapia q. e. p. d. Quienes fueron mis primeros guías en esta profesión y que me acogieron con gran calidez humana iluminando mi camino hacia esta profesión.

Agradezco a la lealtad de mi madre C.P. Lyz Marlene, al incansable ánimo de mi hermano Balam Quitzé y a la fortaleza de mi abuela Paulina Cervantes, por el amor incondicional y constante aliento que me han otorgado siempre.

Agradezco a todos mis pacientes que confiaron en mí desde el principio de mi carrera y a mis queridos amigos con quienes compartí esta aventura profesional.

A las circunstancias sociales en las que he vivido; donde la ignorancia, miseria mental y espiritual que, acompañada de la corrupción, me enseñaron que al recibir esta oportunidad de educación y crecimiento puedo y debo ser un factor de cambio que genere bienestar social y personal.

A mis mascotas por su fidelidad y compañía en las largas noches de estudio y desvelo, y a todos los ratones de laboratorio del mundo, por su noble cooperación.

Me dedico este trabajo a mi misma por mi valentía y perseverancia, porque fui, soy y seré mi logro más hermoso.

RESUMEN

Introducción: La lipocalina 2 (LCN2) es una proteína sintetizada por las células tubulares renales que pertenece a las lipocalinas, un grupo de transportadores de pequeñas moléculas lipofílicas como los esteroides, lipopolisacáridos, hierro y ácidos grasos en circulación. La expresión alterada de LCN2 ha sido asignada a roles críticos en varias condiciones patológicas. En estudios recientes se identificó la participación de la LCN-2 en el metabolismo energético ya que es altamente expresada en el tejido adiposo, especialmente en estados patológicos como la obesidad, la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) y la periodontitis (P). Lo que sugiere que esta podría ser un biomarcador potencial y/o un objetivo terapéutico en enfermedades metabólicas e inflamatorias. Se sabe que la LCN2 desempeña un papel importante en la regulación del apetito, de manera que a mayor concentración de LCN2, existe menor apetito, y a menor concentración hay más apetito, también se sabe que está implicada en la progresión de la resistencia a la insulina. Sin embargo, su expresión en los tejidos periodontales cuando hay presencia de DM2 sigue sin estar claro debido a la falta de estudios contundentes que abarquen su función y relación en este contexto. **Objetivo:** Explorar la relación existente entre la concentración sérica de LCN2 y el consumo de alimentos en ratones de la cepa C57BL/6 a los que se les indujo DM2 y enfermedad periodontal. **Material y métodos:** Se utilizaron ratones macho de la cepa C57BL/6 de 4 semanas de edad divididos en seis grupos experimentales (n=3 por grupo): controles intactos, con periodontitis (P), con DM2 y con Diabetes tipo 2 y periodontitis (DM2+P). A estos 2 últimos se les administró una dieta hipercalórica, también se les inyectó bajas dosis de estreptozotocina (STZ). A todos los grupos de estudio se les midió el consumo de alimento en gramos y calorías de día y noche durante todo el experimento. Se realizaron curvas de tolerancia a la glucosa e insulina para determinar el establecimiento de la DM2 a las 12 semanas. A las 19 semanas de edad se les colocó una ligadura en el segundo molar maxilar para la inducción de periodontitis. A la semana 21, la medición de la pérdida ósea se realizó con un vernier electrónico. Se determinaron las concentraciones séricas de LCN2 mediante ELISA. Los datos

se analizaron con pruebas paramétricas usando el software Graphpad.

Resultados: Se encontró un incremento de LCN2 en el suero de los ratones con periodontitis y periodontitis con DM2 en comparación con los ratones que solo presentaban DM2 y en relación con los ratones Intactos. También se encontraron altos niveles de LCN2 en los ratones del grupo P. Encontramos una correlación negativa entre los niveles de LCN2 y el consumo de alimento en los grupos intactos, con P y DM2. Y una correlación positiva en las concentraciones de LCN2 y el nivel de la altura ósea en los ratones del grupo P, mientras que en el grupo DM2+P las altas concentraciones de LCN2 se relacionaron con un aumento del consumo de alimento y con una menor pérdida de la altura ósea. **Conclusiones:** Los niveles de LCN2 se incrementan en la DM2 y Periodontitis, la concentración es aún mayor cuando estas dos enfermedades van juntas. En los ratones con DM2 y Periodontitis, la LCN2 presenta alteraciones en su función de disminuir el apetito, lo que indica que esta proteína podría jugar un papel importante en la relación bidireccional de la DM2 y la Periodontitis.

PALABRAS CLAVE: lipocalina 2; diabetes mellitus 2; periodontitis crónica; enfermedades metabólicas.

ABSTRACT

Introduction: Lipocalin 2 (LCN2) is a protein synthesized by renal tubular cells that belongs to the lipocalins, a group of small lipophilic carrier molecules; such as steroids, lipopolysaccharides, iron and fatty acids in circulation. Altered expression of LCN2 has been assigned to critical roles in various pathological conditions. Recent studies have identified the participation of LCN2 in energy metabolism since it's highly expressed in adipose tissue, especially in pathological states such as obesity, type 2 diabetes mellitus (DM2) and periodontitis (P). This suggests that this could be a potential biomarker and/or therapeutic target in metabolic and inflammatory diseases. It's known that LCN2 plays an important role in the regulation of appetite, which means that at higher concentrations of LCN2, there is less appetite, and at lower concentrations there is more appetite, it's also known that LCN2 is involved in the progression of insulin resistance . However, its expression in periodontal tissues when DM2 is present remains unclear due to the lack of conclusive studies covering its function and relationship in this specific context.

Objective: In this study, our objective was to explore the relationship between serum concentration of LCN2 and food consumption in mice of the C57BL/6 strain in which DM2 and periodontal disease were induced. **Material and methods:** 4-week-old male mice of the C57BL/6 strain were used, divided into four experimental groups (n=3 per group): intact controls, with periodontitis (P), with DM2, and with type 2 diabetes and periodontitis. (DM2+P). These last 2 were given a hypercaloric diet, they were also injected with low doses of streptozotocin (STZ). All study groups were measured for food intake in grams and calories every day and night throughout the whole experiment. Subsequently glucose and insulin tolerance curves were performed to determine the establishment of DM2 at 12 weeks. At 19 weeks of age, a ligature was placed on the maxillary second molar for the induction of periodontitis. At week 21, bone loss was measured with an electronic vernier. Serum concentrations of LCN2 were determined by ELISA and statistical parametric tests were performed to analyse the obtained data using Graphpad software. **Results:** An increase in LCN2 was observed in the serum of mice with periodontitis and periodontitis with DM2, compared to mice with only DM2 and relative to Intact mice.

High levels of LCN2 were also found in mice from the P group. We observed a negative correlation between LCN2 levels and food intake in the intact, P and DM2 groups. And a positive correlation in the concentrations of LCN2 and the level of bone height in the mice of the P group, while in the DM2+P group the high concentrations of LCN2 were related to an increase in food intake and a lower loss of bone height. **Conclusions:** LCN2 levels are increased in DM2 and Periodontitis, the concentration is even higher when these two diseases go together. In mice with DM2 and Periodontitis, LCN2 shows alterations in its function of reducing appetite, which indicates that this protein could play an important role in the bidirectional relationship between DM2 and Periodontitis.

KEY WORDS: lipocalin 2; diabetes mellitus 2; periodontitis; metabolic diseases.

INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus tipo 2 (DM2), es uno de los trastornos metabólicos más comunes en México y en el mundo. La DM2 es causada por una combinación de dos factores principales: secreción defectuosa de insulina por parte de las células β pancreáticas y el desarrollo de resistencia a la insulina en los tejidos periféricos. Los efectos en los mecanismos implicados en la liberación, captación o actividad de la insulina pueden conducir a un desequilibrio metabólico responsable del desarrollo de la enfermedad. **(1)**.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) Desde 2014, hay alrededor de 422 millones de personas con diabetes. Siendo que la DM2 abarca el 90% de los casos. La prevalencia total de la DM2 aumenta de forma significativa en relación con la edad y alcanza cifras de entre 10-15% en la población mayor de 65 años **(2)**. La DM2 es una enfermedad grave que puede afectar los ojos, el corazón, los nervios, los riñones y a nivel oral, el periodonto. **(3)**

La periodontitis es una enfermedad inflamatoria crónica común de la cavidad bucal, mediada por microorganismos anaerobios específicos que provocan la activación de las células del sistema inmune encargadas de producir citocinas proinflamatorias como IL-1, IL-6, TNF- α e IL-17, prostanoïdes como la prostaglandina E2 y metaloproteasas de la matriz (MMP's) cuya presencia contribuye a la destrucción progresiva e irreversible de las fibras de colágena del ligamento periodontal y la reabsorción del hueso alveolar, con formación de bolsas periodontales, recesión gingival o ambas. La periodontitis, es una condición con una alta prevalencia, ya que afecta del 10-15% de la población adulta y tiene un impacto negativo en la calidad de vida de quien la padece **(4)**. Existe una relación bidireccional entre el grado de hiperglucemia y la gravedad de. la periodontitis. Los mecanismos que sustentan los vínculos entre estas dos condiciones no se comprenden completamente, pero involucran aspectos del funcionamiento inmunológico, la actividad de los neutrófilos y la biología de las citocinas proinflamatorias incrementadas. **(5)**.

En estudios recientes se ha identificado que la expresión de LCN2 regula el metabolismo energético, la resistencia a la insulina, pero también tiene influencia en la inflamación sistémica crónica de bajo grado en la DM2. **(6)**

La LCN2 o también llamada lipocalina asociada a la gelatinasa de neutrófilos (NGAL) es una glucoproteína de 25 kDa producida por neutrófilos, adipocitos, macrófagos, hepatocitos, células renales y osteoblastos. La LCN2 está involucrada en una amplia variedad de procesos, y su función es dependiente del microambiente donde se produce y el ligando al que se une **(7)**. Se sabe que puede unirse a la metaloproteasa de matriz 9 (MMP-9) para incrementar su estabilidad y actividad lo cual es importante para la extravasación de neutrófilos, así como para la invasión y metástasis del cáncer **(8)**. También tiene efectos proinflamatorios ya que es capaz de dirigir la infiltración de células inmunes, influye en la polarización hacia un perfil inflamatorio M1, promueve la formación de células espumosas, la expresión del inflamosoma NLRP3 y se considera una proteína secuestradora de hierro en la respuesta inmune innata antibacteriana **(9)**. Estudios más recientes han descrito la participación de la LCN2 en el metabolismo energético ya que es altamente expresada en el tejido adiposo, especialmente en estados patológicos como la obesidad y la DM2 porque es fuertemente inducida por el TNF- α e IFN- γ **(10)**

La LCN2 al ser una proteína secretada por neutrófilos, adipocitos, macrófagos, hepatocitos, células renales y osteoblastos **(11)**, en conjunto con otros factores (estrés, falta de ejercicio) está implicada en diversas enfermedades metabólicas como la DM2, la obesidad o la osteoporosis.

Ahora bien, referente a la función metabólica de la LCN2, se le han atribuido capacidades tanto perjudiciales como beneficiosas en enfermedades metabólicas. La inflamación metabólica, como se observa en la diabetes y la obesidad, se ha asociado estrechamente con el alza de LCN2 en el plasma sanguíneo y otros tejidos, tanto en humanos como en roedores, lo que sugiere su papel pro-diabético y pro-obesogénico. Por el contrario, otros estudios implican un papel antidiabético y anti-obesogénico de la LCN2, por el cual una deficiencia en el gen LCN2 da como resultado el deterioro de la sensibilidad a la insulina y mejora la expansión de grasa

inducida por una dieta rica en grasas **(12)**. Es por este motivo que entender los mecanismos de acción de dicha lipocalina podría acercarnos a un mejor entendimiento y posibles tratamientos preventivos para enfermedades tan frecuentes como la DM2.

La LCN2 derivada del tejido óseo regula el metabolismo energético, pues es un órgano endocrino que regula la ingesta de alimentos **(13)** también es capaz de regular el desarrollo, integrar la función de diversos órganos y tejidos y coordinar los procesos metabólicos del organismo mediante la síntesis y liberación de hormonas secretadas a la circulación. El remodelado óseo requiere de un gran y continuo suplemento de energía para las células óseas. Para cubrir este gran coste energético, debe existir una correulación entre el metabolismo energético y el hueso. En otras palabras, el remodelado óseo puede jugar un papel importante en cómo la glucosa y la energía son manejadas por el cuerpo. Es así como la LCN2 secretada por los osteoblastos suprime el apetito y disminuye la masa grasa al tiempo que mejora el metabolismo de la glucosa. **(14, 15)**

En este trabajo nos centraremos en investigar la relación de las concentraciones de la LCN2 y el consumo de alimento en ratones C57BL/6 con enfermedad periodontal y DM2.

MARCO TEORÍCO

Antecedentes

Desde el año 2012 se han realizado algunas investigaciones con respecto a la participación de la LCN2 como mediador de la destrucción del tejido conjuntivo y del hueso; así mismo se han realizado varios estudios sobre la colaboración de la LCN2 en el desarrollo de la diabetes, sin embargo, a la fecha no existen estudios contundentes que abarquen la función, relación y la expresión de la LCN2 en los tejidos periodontales en la DM2.

En un estudio similar a este tema, realizado en 2022 por Merve Ceylan et.al, se evaluaron los niveles en líquido crevicular gingival (GCF) de: LCN2, Sema3A y factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) en pacientes periodontalmente sanos (H), gingivitis (G) y periodontitis (P), y sus cambios después del tratamiento periodontal no quirúrgico. La terapia periodontal no quirúrgica dio como resultado una mejora significativa de todos los parámetros clínicos y disminuciones significativas de los niveles de GCF LCN2 y TNF- α , en comparación con el valor inicial por lo que se encontró que los niveles de LCN2 y TNF- α en GCF se correlacionan con parámetros clínicos y podrían resultar útiles como herramientas de detección no invasivas para la periodontitis.

Así mismo se ha observado que en pacientes con DM2 y periodontitis las concentraciones de LCN2 en líquido gingivocrevicular, suero y fluido lagrimal son mayores que en pacientes sanos **(16)**. De forma similar, se han encontrado concentraciones elevadas de LCN2 en muestras de orina de pacientes con DM2 y estas tienen una correlación positiva fuerte con parámetros clínicos de periodontitis, tales como la presencia de sangrado al sondeo y el número de bolsas periodontales. Es importante resaltar que en estos estudios se ha reportado que el incremento de LCN2 se asocia a una mayor severidad de la periodontitis y niveles de glucosa elevados **(17)**

Debido a que los AGE's son un componente importante en el desarrollo de las complicaciones de la DM2, se ha estudiado su influencia en la expresión de LCN2

durante la periodontitis. En un estudio *in vitro* se determinó que los AGE's en presencia de un estímulo bacteriano inducen la expresión de LCN2 e IL-6 en células epiteliales gingivales de humano, a través de la señalización de MAPK y NF-kB. De forma interesante, el uso de un anticuerpo inhibidor de los receptores de AGE's (RAGE's) disminuyó la expresión de LCN2 en estas células, por lo que se sugiere que esta molécula tiene un papel sumamente importante en la relación bidireccional de la DM2 y la periodontitis **(18)**, sin embargo, hasta el momento no se ha visto la relación de la función anoxigénica de LCN2 en la periodontitis asociada a la DM2.

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar la relación de las concentraciones séricas de la LCN2 con la ingesta de alimento de ratones con Periodontitis y DM2

Objetivos específicos

En ratones sanos y con DM2 a los que se les indujo periodontitis en los molares maxilares:

1. Medir las características somatométricas.
2. Medir la ingesta alimentaria.
3. Caracterizar el perfil glucémico.
4. Medir la pérdida ósea alveolar.
5. Determinar la concentración sérica de LCN2.
6. Relacionar estadísticamente las concentraciones de LCN2 con la ingesta alimenticia y la pérdida ósea alveolar.

HIPÓTESIS

Las concentraciones de LCN2 sérica se relacionarán negativamente con el consumo de alimento de ratones con periodontitis asociada a la DM2.

MATERIAL Y METODOS

Diseño del estudio.

El estudio fue de tipo experimental, comparativo, transversal y prospectivo. Los procedimientos experimentales se realizaron en el Laboratorio de Investigación Odontológica, Sección de Inmunidad Oral y Regulación Ósea, FES Iztacala de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Modelo experimental: Se utilizaron ratones macho de la cepa C57BL/6 obtenidos del bioterio de la FES Iztacala, UNAM de 4 semanas de edad. Los ratones se mantuvieron en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas con acceso libre de agua y alimento. Se dividieron en seis grupos experimentales (n=3 por grupo): controles intactos, con periodontitis, con DM2 y con DM2 y periodontitis.

Inducción de DM2: Se administró una dieta hipercalórica (para provocar obesidad y resistencia a la insulina desde las 4 semanas y hasta el momento del sacrificio) y por la inyección de bajas dosis de estreptozotocina (STZ) (durante 7 días a partir de las 10 semanas de iniciada la dieta) de acuerdo con lo reportado por Yu et al., 2017; esto con el objetivo de provocar una deficiencia parcial de insulina que se asemeja a lo presentado en la DM2. En concreto, el primer día se administró una dosis de 50mg/Kg y los días 2-7 una dosis de 25mg/Kg. Los ratones se consideraron diabéticos al alcanzar una concentración de glucosa en ayunas >250mg/dL y resistencia a la insulina.

Monitoreo del desarrollo de DM2. Se realizaron curvas de tolerancia a la glucosa e insulina al cumplir 9 semanas de edad, 3 días previos al tratamiento con STZ, a las 12 y 13 semanas de edad y antes del sacrificio. Para la toma de glucosa, los ratones se sometieron a ayuno durante 4 a 6 horas previas a la obtención de muestras de sangre, siempre en los mismos horarios: 9:00 a.m. a 15:00 p.m. Esto se realizó mediante una pequeña incisión en la vena caudal y posteriormente se

midió la glucosa con ayuda de un glucómetro (Accu-Check). De la sangre restante se obtuvo el suero sanguíneo por medio de centrifugación y se midieron los niveles de insulina con el kit “Insulin Mouse ELISA Kit” (Thermo Fisher).

Inducción de periodontitis: A las 19 semanas de edad se anestesiaron a los ratones con una solución de ketamina (10mg/ml) y xilacina (1mg/ml) vía intraperitoneal (0.1ml/10g de peso de ratón) para colocar una ligadura conforme a lo establecido por Abe y cols. (2013), en los segundos molares superiores insertando una sutura a través de los espacios interproximales y anudando la ligadura por la cara vestibular del segundo molar usando sutura de seda 6-0 (Atramat®)

Obtención de muestras: Se sacrificaron a todos los grupos a las 21 semanas de edad mediante sobredosis de CO₂ y se recuperó la sangre periférica y los maxilares. Unos hemimaxilares se tomaron para su análisis morfométrico.

Medición de la pérdida ósea alveolar: La medición de la pérdida ósea se realizó conforme a lo establecido por Hasturk et. al (2006). Brevemente, los hemimaxilares se hirvieron durante 10 minutos para facilitar la remoción de los tejidos blandos, se blanquearon durante 5 minutos en cloro concentrado y se sumergieron durante 15 minutos en una solución de eosina 0.5% y azul de metileno 1%. Finalmente se lavaron y cepillarón por 5 minutos en agua corriente para remover el exceso de colorante. Se midió la pérdida ósea alveolar tomando como referencia inicial la unión cemento-esmalte y hasta la cresta ósea alveolar en la superficie bucal y palatina de los tres molares presentes. Esto se hizo con ayuda de un explorador endodóntico con un tope de silicón que será posicionado tanto en los surcos como en las cúspides. La distancia obtenida se transportó a un calibrador vernier analógico de precisión 0.02mm y expresada en milímetros (14394, TRUPER®).

Cuantificación de LCN-2: Se utilizó una placa de 96 pozos de fondo plano precubierta con anticuerpo de captura específico para LCN2. Se construyó la curva estándar a partir de 0 y hasta 5000 pg/mL. En la placa se colocaron 50 µL de amortiguador de ensayo B y se agregarán 50 µL de las diluciones estándar y de muestra. Se incubó por 2 h, a temperatura ambiente y con agitación leve. Se lavó la placa 4 veces. Se agregó 100 µL de Anticuerpo de Detección y se incubó por 1 h, a temperatura ambiente y con agitación leve. Se lavó la placa 4 veces. Se agregó 100 µL de Estreptavidina-HRP y se incubó por 30 min, a temperatura ambiente y con agitación leve. Se lavó la placa 5 veces. Se agregó 100 µL de solución sustrato y se incubó la placa por 15 min, a temperatura ambiente y protegido de la luz. Se puso 100 µL de Solución Stop y se leyó la placa a 450 nm con una corrección de longitud de onda de 570 nm.

Análisis estadístico.

Los datos experimentales se analizarán usando el programa estadístico Graphpad Prism 8. Se aplicó una prueba de ANOVA de dos vías, seguida de una prueba de Tukey post hoc. Se consideró estadísticamente significativo con un valor de $p \leq 0.05$.

Se realizaron análisis de correlación de Pearson entre la concentración de LCN2 con la ingesta de alimentos y la pérdida ósea alveolar, se consideró correlación positiva si $r = 0 < 1$; o correlación negativa si $r = -1 < 0$.

RESULTADOS

1. RESULTADOS DEL CONSUMO DE ALIMENTO.

A) GRAMOS DE COMIDA CONSUMIDOS (DIURNO).



B). GRAMOS DE COMIDA CONSUMIDOS (NOCTURNO).

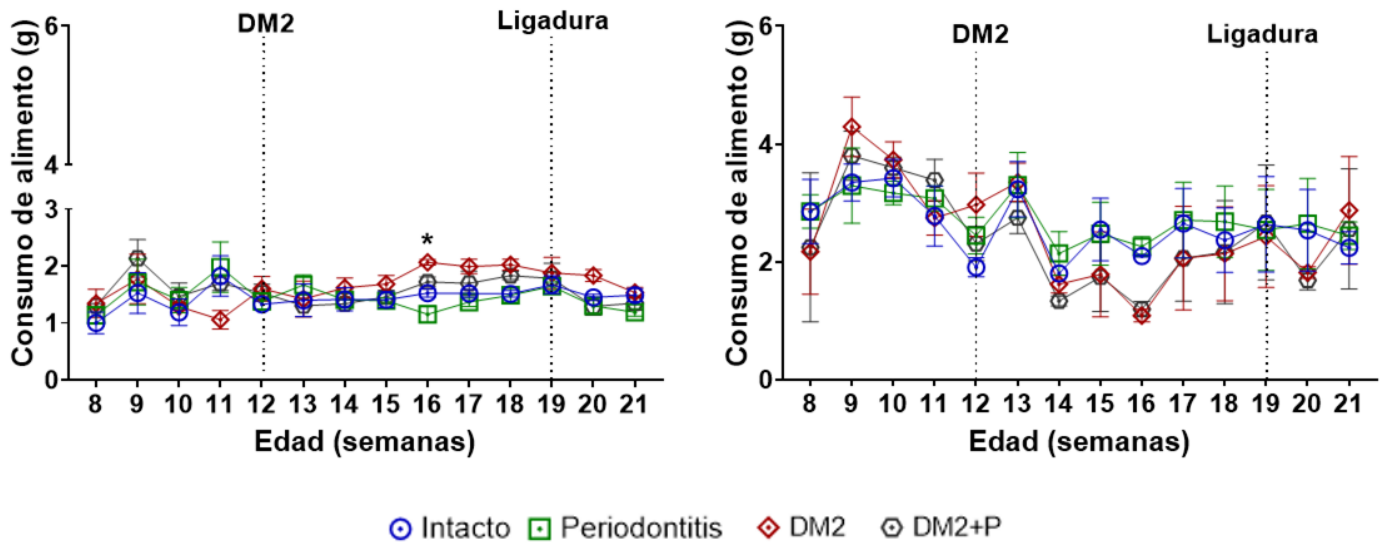


FIGURA 1. RESULTADOS DEL CONSUMO DE ALIMENTO EN GRAMOS.

A) Resultados del consumo diurno de alimento en gramos desde la semana 8 hasta la semana 21 de edad.

B) Resultados del consumo nocturno de alimento en gramos desde la semana 8 hasta la semana 21 de edad.

Las gráficas muestran la media más-menos EEM. *= $P < 0.05$ (Vs Intactos) y #= $P < .000$ (Vs Periodontitis)

A). GRAMOS DE COMIDA CONSUMIDOS POR SEMANA (DIURNO): La combinación de DM y periodontitis no modifica la ingesta diurna de alimentos, estos datos son trascendentales porque el monitoreo en la relación consumo de alimento/enfermedad nos ayudó a entender el mecanismo de acción de la LCN2 frente a enfermedades metabólicas. En esta figura se representa el consumo semanal de alimento en los ratones, donde es notable que al inicio del experimento todos ellos presentan un consumo de alimento similar entre sí, porque hasta la semana 8 y 9 ningún grupo había desarrollado enfermedad alguna. Los ratones con

dieta hipercalórica (DM2 y DM2+P) consumían solo unos gramos más en relación con los intactos. Los resultados mostraron que es a partir de la semana 12 en donde dos de los grupos inducidos con DM2, gradualmente comienzan a mostrar un incremento en su consumo de comida, alcanzando su pico más alto en la semana 16 con el grupo DM2, seguido del grupo DM2+P. Con respecto al grupo de ratones con periodontitis, observamos una disminución discreta con relación a los intactos a partir de que se les colocó la ligadura, este comportamiento se repite con el grupo DM2+P en el mismo periodo de tiempo, mientras que los DM2 se mantienen elevados. La razón de esta caída en los ratones con Periodontitis puede tener motivos como: la molestia a la ligadura, o el dolor causado por la inflamación periodontal al comer.

B). GRAMOS DE COMIDA CONSUMIDOS POR SEMANA (NOCTURNO): En la figura B, se muestran los resultados de consumo nocturno en gramos de nuestros 4 grupos experimentales, lo primero que observamos fue un mayor consumo de alimento en la noche, comparado con lo observado en lo diurno debido a que los ratones son animales nocturnos. En primera instancia vemos que los ratones comen en relación a su crecimiento, sin embargo, el grupo con DM2 tuvo un mayor consumo de alimento en comparación con el grupo de los intactos incluso antes de desarrollar diabetes, este comportamiento perdura hasta la semana 13, donde una vez que son diabéticos comienzan a comer menos, hasta que en la semana 16 el descenso es drástico en los grupos DM2 y DM2+P, mientras que los grupos Intactos y los Periodontitis se mantienen estables. Llama la atención que, una vez colocada la ligadura, el grupo DM2+P aumenta su consumo en la última semana de vida, similar al grupo con solo DM2. Esto nos habla de que la DM2 con o sin presencia de periodontitis, aumenta el apetito del organismo, una vez que el equilibrio metabólico se ha visto permanentemente dañado.

2. RESULTADO DE CONSUMO DE KILOCALORIAS

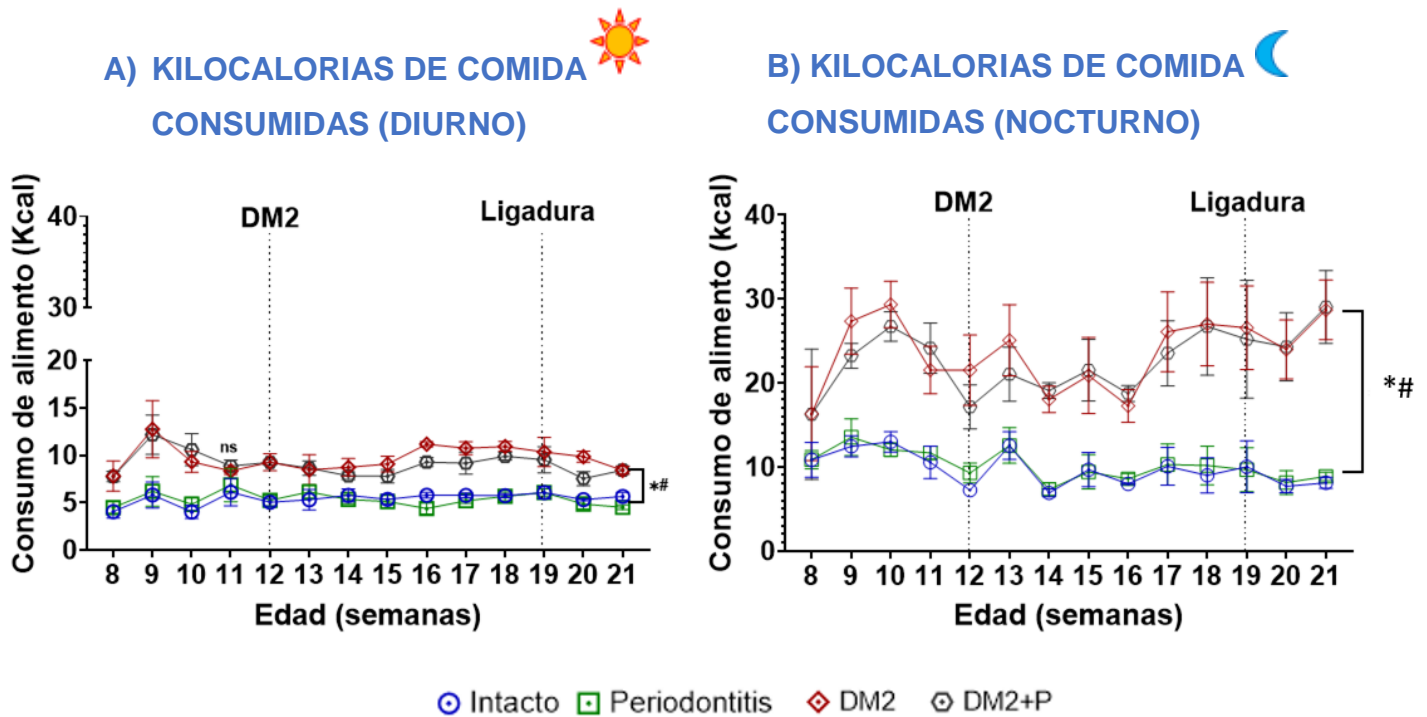


FIGURA 2. RESULTADOS DEL CONSUMO DE ALIMENTO EN KCAL.

- A) Resultados del consumo diurno de alimento en kcal desde la semana 8 hasta la semana 21 de edad. Se muestra la media y error estándar de la medición de comida ingerida en kilocalorías durante el día.
- B) Resultados del consumo nocturno de alimento en kcal desde la semana 8 hasta la semana 21 de edad. Se muestra la media y error estándar de la medición de comida ingerida en kilocalorías durante la noche.

Las gráficas muestran la media más-menos EEM. *= $P < 0.05$ (Vs Intactos) y #= $P < .000$ (Vs Periodontitis)

A). KILOCALORIAS CONSUMIDAS POR SEMANA (DIURNO): Si bien el consumo en gramos no muestra disparidad contundente entre los 4 grupos, debemos considerar el contenido calórico de los alimentos. En esta figura (2 A) apreciamos dicha diferencia de forma separada. Los dos grupos con dieta hipercalórica (DM2 y DM2+P), consumen tres veces el contenido calórico que los grupos con dieta normal (Intactos y P).

B). KILOCALORIAS CONSUMIDAS POR SEMANA (NOCTURNO): En el consumo nocturno de calorías podemos notar como nuevamente, los ratones DM2 son quienes consumen más calorías, con muy poca diferencia de los DM2+P puesto que al final se ven igualados, la conducta es igual entre los grupos Intactos y P, donde no se observa una diferencia significativa con respecto a los intactos.

Es importante observar que una vez inducida la DM2 el consumo continuó en un ascenso constante, en el caso de la ligadura observamos un consumo con una pequeña variación a la baja.

3. PESO Y CIRCUNFERENCIA ABDOMINAL DE LOS RATONES

A). PESO DE LOS RATONES POR SEMANA

B). CIRCUNFERENCIA ABDOMINAL

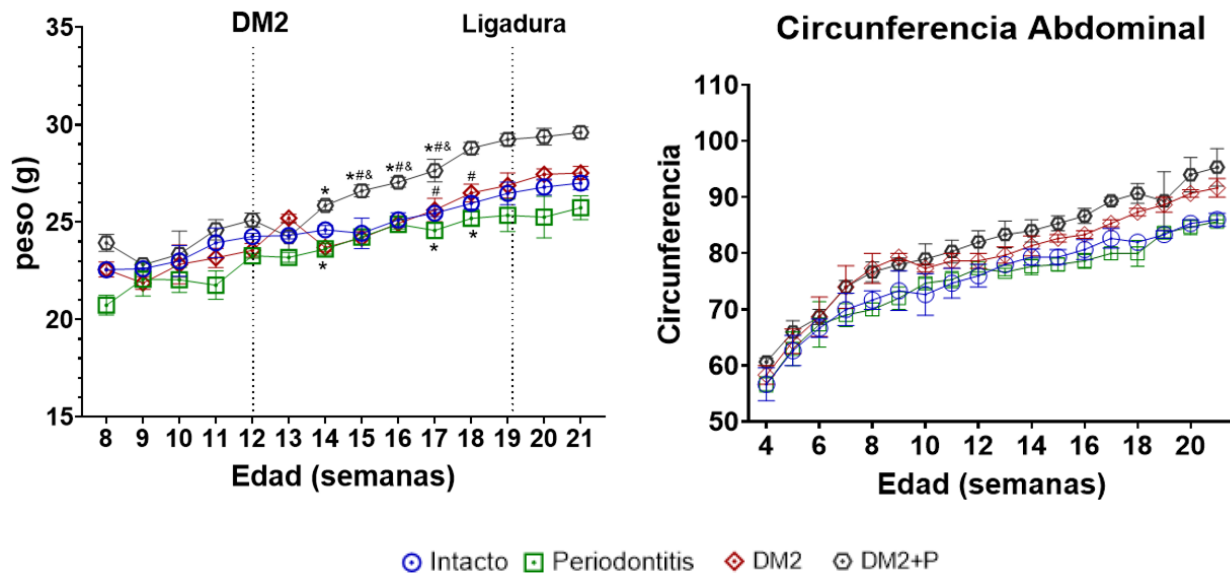


FIGURA 3. PESO POR SEMANA Y CIRCUNFERENCIA ABDOMINAL DE LOS RATONES.

A) Se muestra la media y desviación estándar del peso de los ratones semanalmente; antes de enfermar, al desarrollar DM2 y al colocárseles la ligadura.

B) Se muestran resultados de la medición de circunferencia abdominal en los 4 grupos experimentales tomando en cuenta la barra de error.

Las gráficas muestran la media más-menos EEM. *= $P < 0.05$ (Vs Intactos) y #= $P < .0001$ (Vs Periodontitis) y &= $P < .0001$ (Vs DM2).

A). PESO SE LOS RATONES POR SEMANA: Respecto al peso, obtuvimos resultados interesantes (Figura 3 A). Observamos que antes de la semana 12 tenemos un aumento gradual de peso en todos los grupos que se consideraría normal por el crecimiento paulatino de los ratones, a partir de que se promueve la diabetes en los 2 grupos de estudio con DM2, estos tienen un aumento significativo que rompe el equilibrio, sin embargo se presenta una diferencia grande entre el grupo DM2 y DM2+P a la semana 14, donde DM2 pierde peso, mientras que DM2+P aumenta de una forma exacerbada y nunca recupera sus niveles normales con respecto a los intactos, a partir de la semana 17 los DM2 también aumentan de peso, sin embargo no son diferentes al grupo intacto. El grupo Periodontitis, por el contrario, mantiene un peso bajo durante todo el proceso, y este se ve aún más disminuido después de la colocación de la ligadura.

B). CIRCUNFERENCIA ABDOMINAL: Durante la medición de circunferencia abdominal de los ratones, se observa un aumento gradual relacionado a su crecimiento corporal natural, como era lógico esperar, los grupos DM2 y DMA2+P obtuvieron un crecimiento abdominal más alto y más acelerado debido a su tipo de dieta en comparación a los ratones con dieta normal. De entre todos los grupos, los P obtuvieron menos circunferencia abdominal, sin embargo, no están demasiado alejado de la normatividad.

4. RESULTADOS DE IMC

A). INDICE DE MASA CORPORAL.

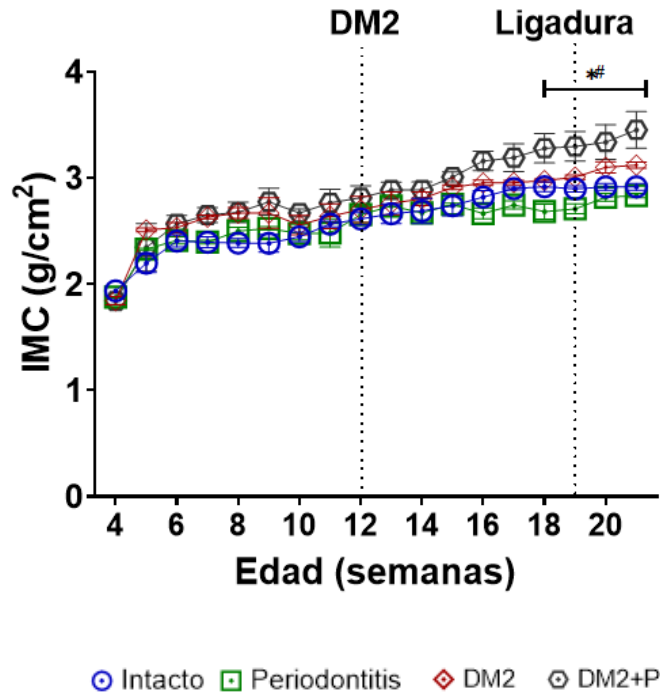


FIGURA 4. RESULTADOS DEL INDICE DE MASA CORPORAL.

A) Se muestran la media y desviación estándar de la medición de IMC en los 4 grupos experimentales.

Las gráficas muestran la media más-menos EEM. *= $P < 0.05$ (Vs Intactos) y #= $P < .0001$ (Vs Periodontitis).

A). Estos resultados nos muestran una diferencia de masa corporal más pronunciada en el grupo DM2+P en relación con los DM2, siendo aún más evidente en comparación a los intactos, mientras que el grupo P mantuvo los niveles más bajos de IMC.

5. RESULTADOS DE GLUCOSA Y CONCENTRACION DE INSULINA.

A) GLUCOSA POR SEMANA.

B) CONCENTRACIÓN DE INSULINA

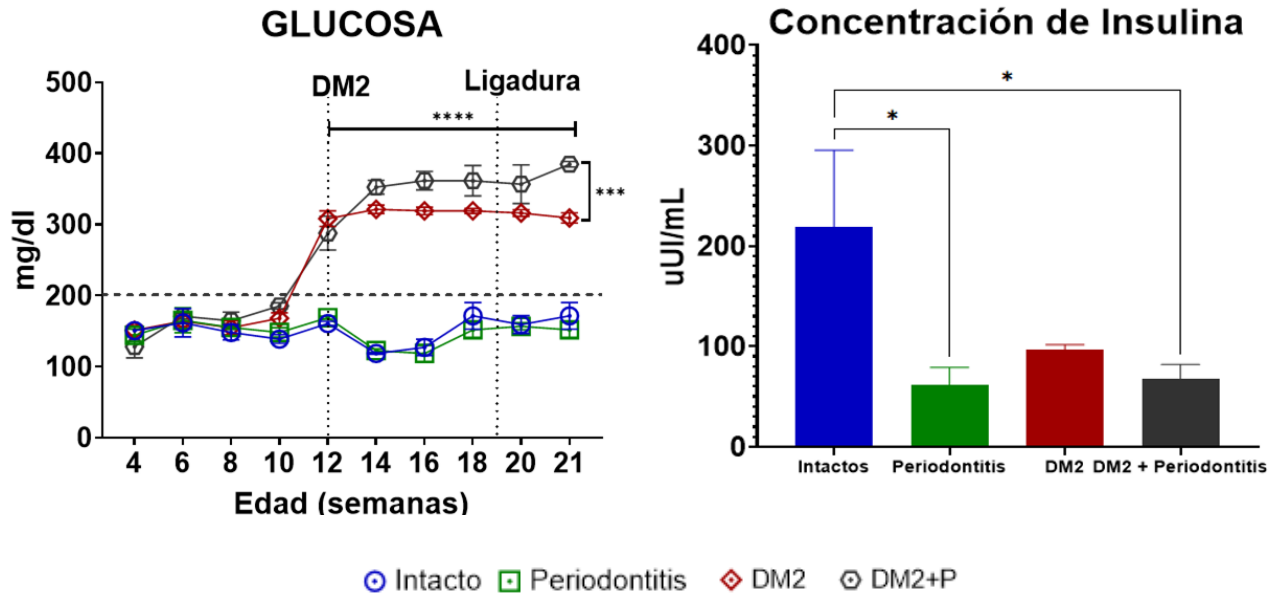


FIGURA 5. GLUCOSA POR SEMANA Y CONCENTRACIÓN DE INSULINA

A) Se muestra la media y desviación estándar del nivel de glucosa en sangre semanalmente destacando la semana donde desarrollaron diabetes, y la semana donde se colocó la ligadura.

B) Se muestran diferencias significativas y márgenes de error al análisis de concentración de insulina en los 4 grupos experimentales

Las gráficas muestran la media más-menos EEM. *=P<0.05, **=P<.005, ***=P=.001 Y ****=P<0001. (Vs Intactos).

A). GLUCOSA: Los grupos con DM2 presentan un incremento en el nivel de glucosa, el grupo periodontitis (figura 5 A). En las pruebas de glucemia, tomando de referencia los niveles fisiológicos de 200mg/dl de glucosa en sangre en ratones, observamos un nivel de glucosa similar en todos los grupos, con una evidente alza en los grupos diabéticos una vez inducida la enfermedad, durante la cual estos 2 grupos de estudio llegaron a 350mg/dl y a partir de la colocación de la ligadura, el grupo DM2+P alcanzó los 400mg/dl, marcando una notable diferencia con los ratones DM2, quienes se mantuvieron en 350mg/dl durante todo el experimento,

esto nos sugiere que la presencia de la periodontitis en el transcurso de la DM2 exacerba la hiperglucemia si lo comparamos con un organismo que solo presenta DM2. El grupo P por su parte, no presento ningún indicio de desequilibrar los niveles de glucosa en sangre.

B). CONCENTRACION DE INSULINA: Los dos grupos con DM2 muestran una disminución en la concentración de insulina en relación a los intactos (figura 5 B). Cuando analizamos la concentración de insulina en los 4 grupos advertimos que a comparación de los parámetros normales en los ratones intactos, el grupo de ratones con periodontitis obtuvo valores más bajos que el resto de los grupos, seguido por el grupo DM2+P, a diferencia del grupo DM2, que si bien también presentó una concentración de insulina por debajo del rango saludable, no se vio tan disminuida como los otros dos grupos, esto nos sugiere que la presencia de periodontitis en el sistema (este acompañada o no por DM2), parece alterar de alguna manera los niveles de insulina en sangre.

6. RESULTADOS DE RESISTENCIA A LA INSULINA.

A)

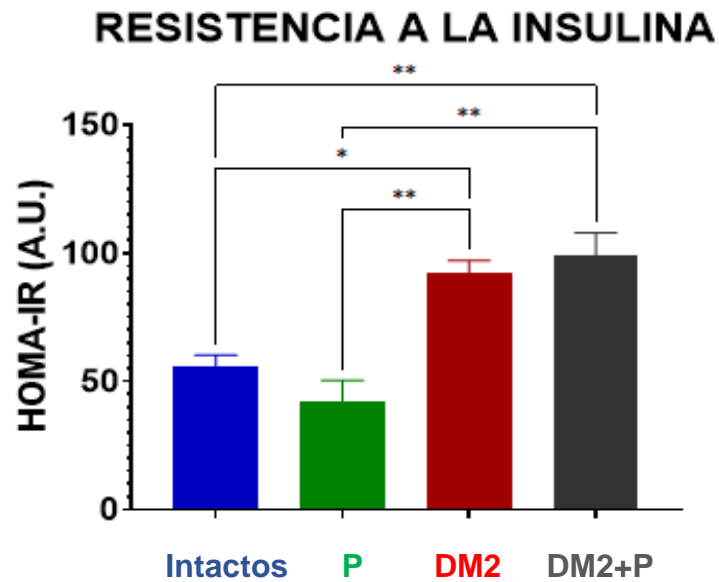


FIGURA 6. RESULTADOS DE RESISTENCIA A LA INSULINA

A) Se muestran las diferencias significativas y barras de error en la prueba HOMA-IR para determinar la resistencia a la insulina en los 4 grupos de investigación.

Las gráficas muestran la media más-menos EEM. *= $P < 0.05$, **= $P < .005$ (Vs intactos)

A). Después de medir la concentración de insulina se realizó un estudio HOMA-IR para determinar el nivel de resistencia a la insulina en los organismos de los 4 grupos de ratones, desde luego, los grupos DM2 Y DM2+P presentaron una resistencia mucho mayor comparados al grupo de ratones intactos

7. RESULTADOS DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA (12 Y 21 SEMANAS)

A) TOLERANCIA A LA GLUCOSA (12 SEMANAS)

B) TOLERANCIA A LA GLUCOSA (21 SEMANAS)

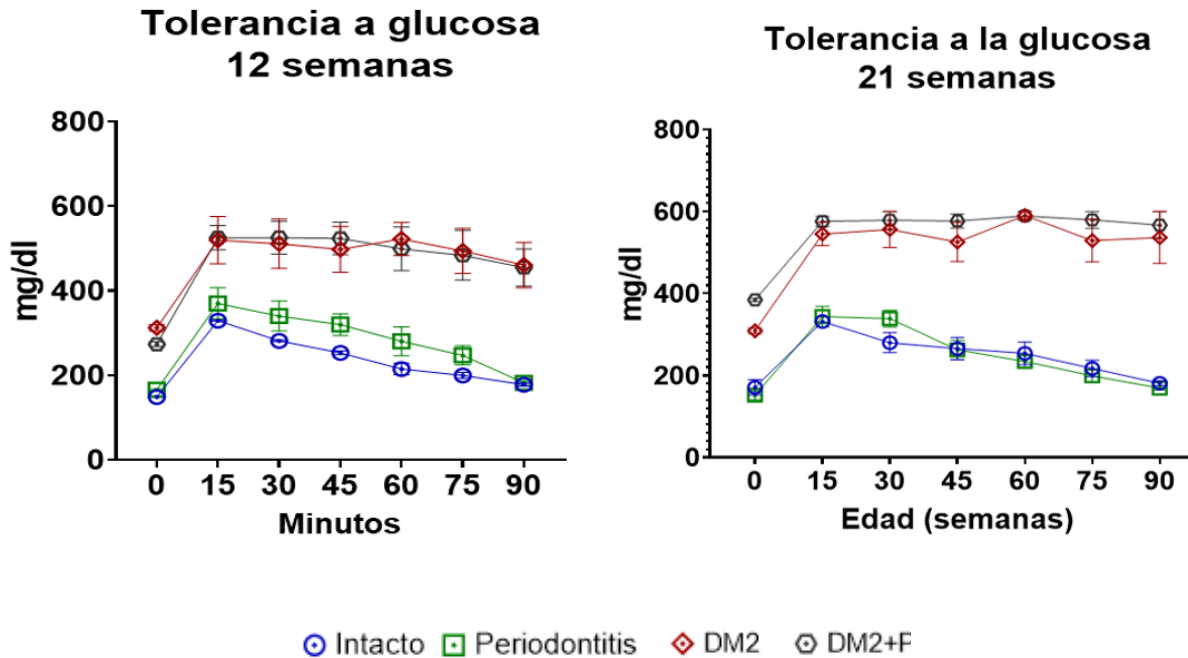


FIGURA 7. TOLERANCIA A LA GLUCOSA A LAS 12 Y 21 SEMANAS.

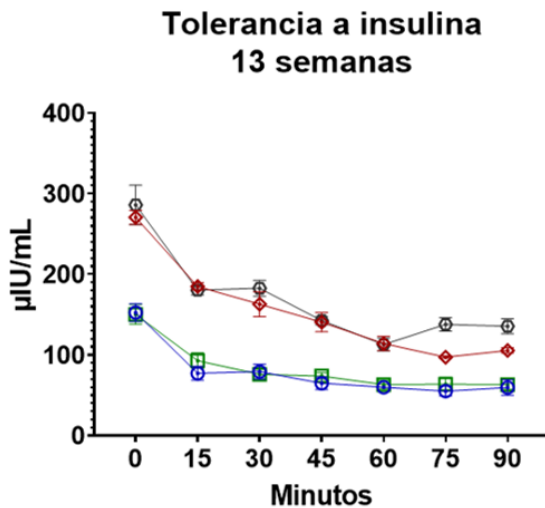
A). Se muestran resultados de los 4 grupos a la medición de tolerancia a la glucosa durante la semana 12 del experimento, es decir cuando desarrollaron DM2 así como su barra de error.

B). Se muestran resultados de los 4 grupos a la medición de tolerancia a la glucosa durante la semana 21 del experimento, justo antes de la culminación del mismo, marcando su barra de error.

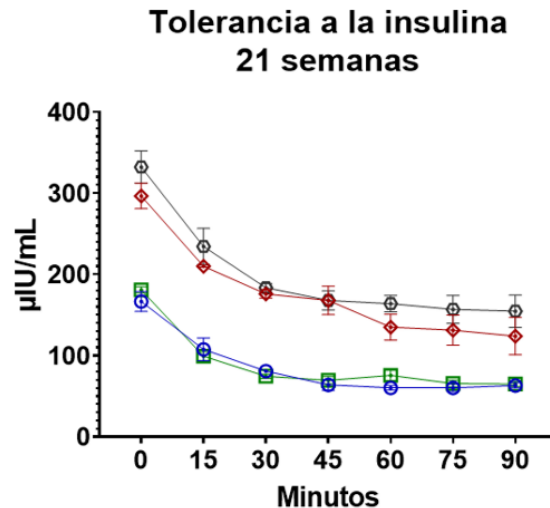
En los estudios de tolerancia a la glucosa se observó que los grupos diabéticos presentan una menor tolerancia a la glucosa, mientras que los grupos sin diabetes son capaces de disminuir los niveles de glucosa con respecto al tiempo hasta alcanzar los niveles normales de glucosa después del bolo de glucosa. Este comportamiento se mantuvo desde la semana 12 (fig 7 A) cuando desarrollaron DM2, hasta la semana 21 (fig 7 B), cuando el grupo periodontitis ya tenía 3 semanas con la enfermedad.

8. RESULTADOS CURVA DE TOLERANCIA A LA INSULINA (13 Y 21 SEMANAS)

A) CURVA DE TOLERANCIA A LA INSULINA (13 SEMANAS)



B) CURVA DE TOLERANCIA A LA INSULINA (21 SEMANAS)



○ Intacto □ Periodontitis ◇ DM2 ⊕ DM2+P

FIGURA 8. CURVAS DE TOLERANCIA A LA INSULINA A LAS 13 Y 21 SEMANAS.

- A) Se muestra la barra de error de los 4 grupos a la medición de tolerancia a la insulina durante la semana 13 del experimento.
- B) Se muestran los resultados en minutos de los 4 grupos a la medición de tolerancia a la insulina durante la semana 21 del experimento, antes de la culminación del mismo, tomando en cuenta la barra de error.

A). CURVA DE TOLERANCIA A LA INSULINA (13 SEM): Se realizó también un estudio de tolerancia a la insulina a las 13 semanas, es decir una semana después de haber desarrollado DM2 en el caso de los dos grupos diabéticos, para poder compararlos a los ratones intactos y con Periodontitis. Se puede observar cómo los grupos sin diabetes se mantienen en el margen de lo normal, mientras que los grupos DM2 y DM2+P presentan una disminución de la sensibilidad a la insulina,

siendo el grupo DM2+P quien presenta mayor resistencia a la insulina, esto evidenciado por la resistencia a disminuir los niveles de glucosa.

B). CURVA DE TOLERANCIA A LA INSULINA (21 SEM): Esta tolerancia a la insulina volvió a medirse a las 21 semanas (semana del sacrificio), tres semanas después de la inducción de periodontitis, no se encontraron cambios importantes, el comportamiento continuó siendo el mismo que a las 13 semanas. El grupo DM2+P continuó siendo el más afectado en cuanto a la resistencia insulínica.

9. RESULTADOS DE LCN2 EN SUERO POR SEMANA.

A)

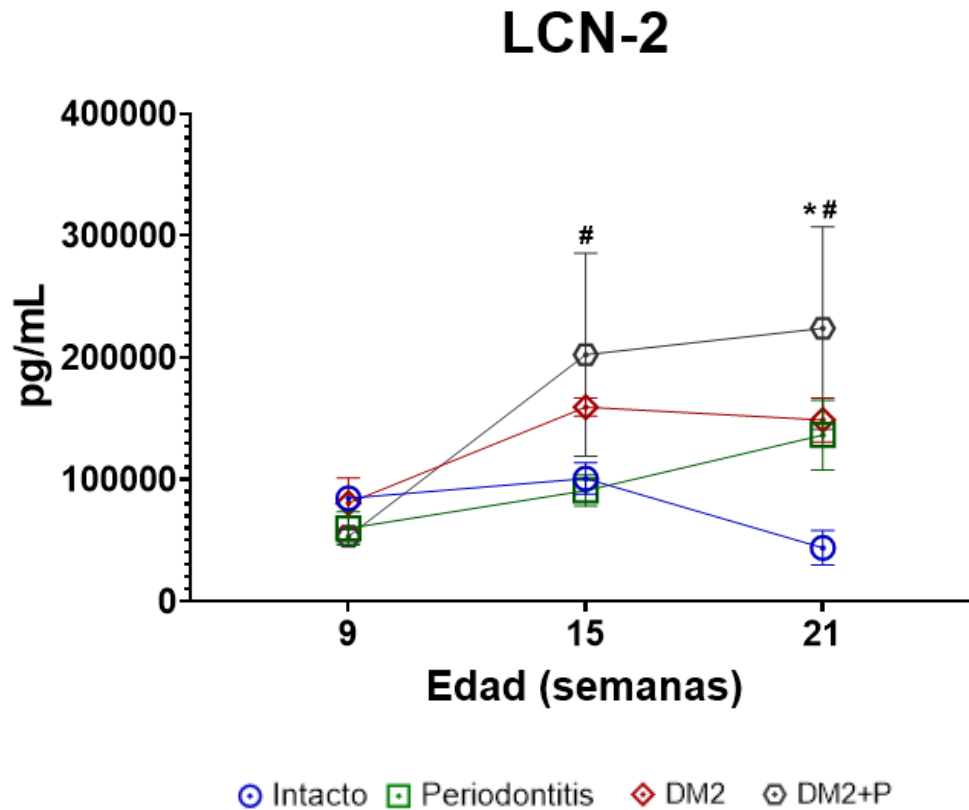


FIGURA 9. RESULTADOS DE RESISTENCIA A LA INSULINA

A) Se muestra la medición de la Lipocalina-2 en el suero de los 4 grupos experimentales antes, durante y después de desarrollar DM2+ PC, así como sus diferencias más significativas.

✓ Las gráficas muestran la media más-menos EEM. *= $P < 0.05$ (Vs intactos) y #= $P < .0001$ (vs Periodontitis)

La medición de la LCN2 en el suero de los ratones se realizó en tres tiempos del experimento; a las 9 semanas (antes del desarrollo de DM2), a las 15 semanas (3 semanas después de la inducción de DM2) y a las 21 semanas (3 semanas después de la ligadura y antes del sacrificio) Al inicio del experimento observamos que los 4 grupos se encuentran con la misma concentración de LCN2.

En la semana 15, cuando se desarrolla la DM2, existe un aumento brusco de LCN2 en suero en los grupos DM2 y DM2+P, a partir de ese desbalance, esta no vuelve a recuperar su nivel basal, comparado a los ratones intactos.

Un hallazgo trascendental en esta fase de la investigación, es que los datos y la gráfica nos muestran que el grupo de periodontitis por si sola, aumenta de una manera anómala el nivel de LCN2 en el suero.

10. MEDICIÓN DE LA PERDIDA OSEA VESTIBULAR.

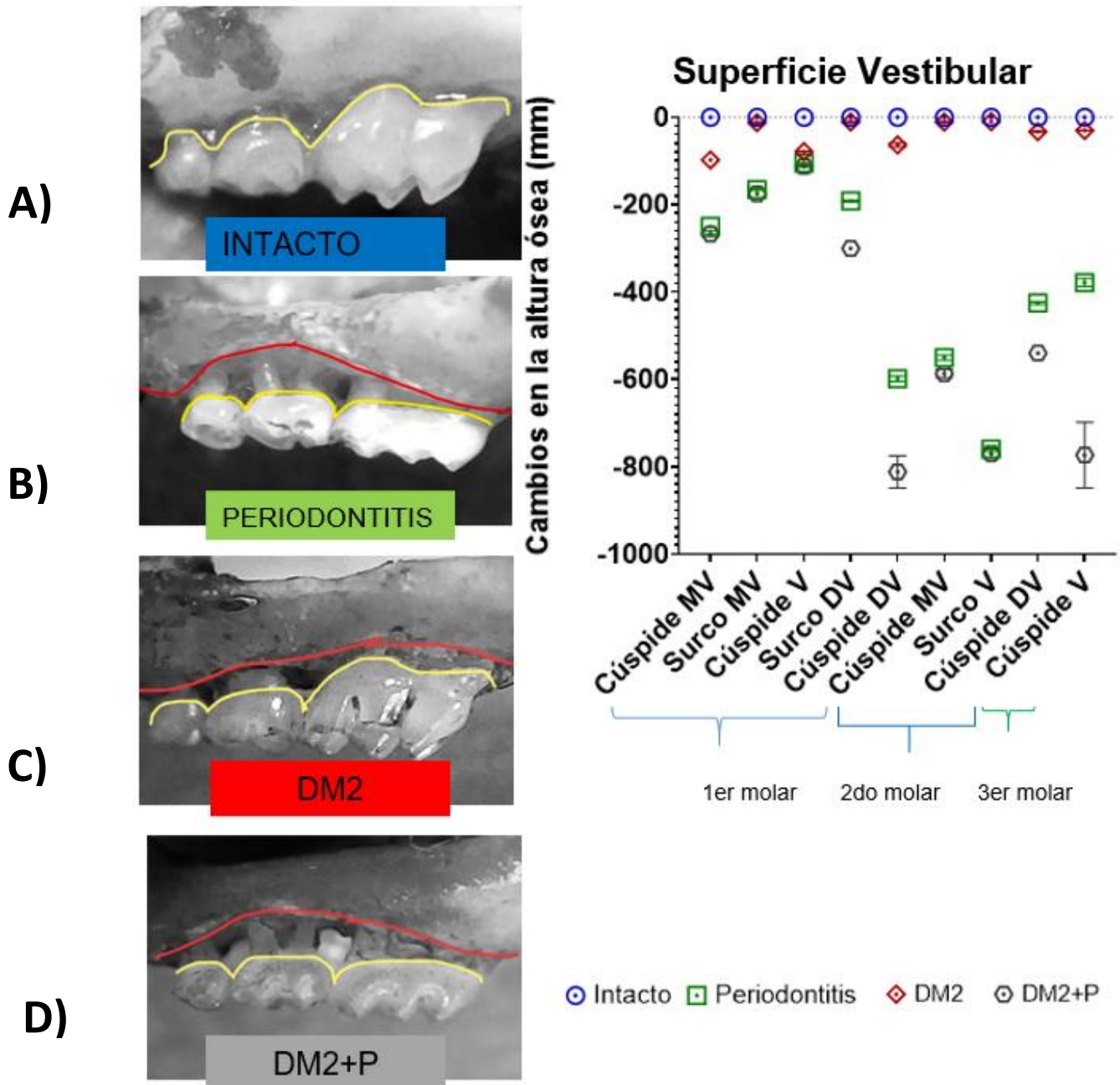


FIGURA 10. RESULTADOS DE LA MEDICIÓN DE PÉRDIDA ÓSEA VESTIBULAR EN LOS MAXILARES DE LOS 4 GRUPOS DE ESTUDIO

A) Se muestra margen óseo alveolar del grupo intacto.

B), C) y D) Se muestra margen alveolar (rojo) en relación a la superficie coronaria (amarillo) de cada grupo experimental.

11. MEDICIÓN DE LA PERDIDA OSEA PALATINA.

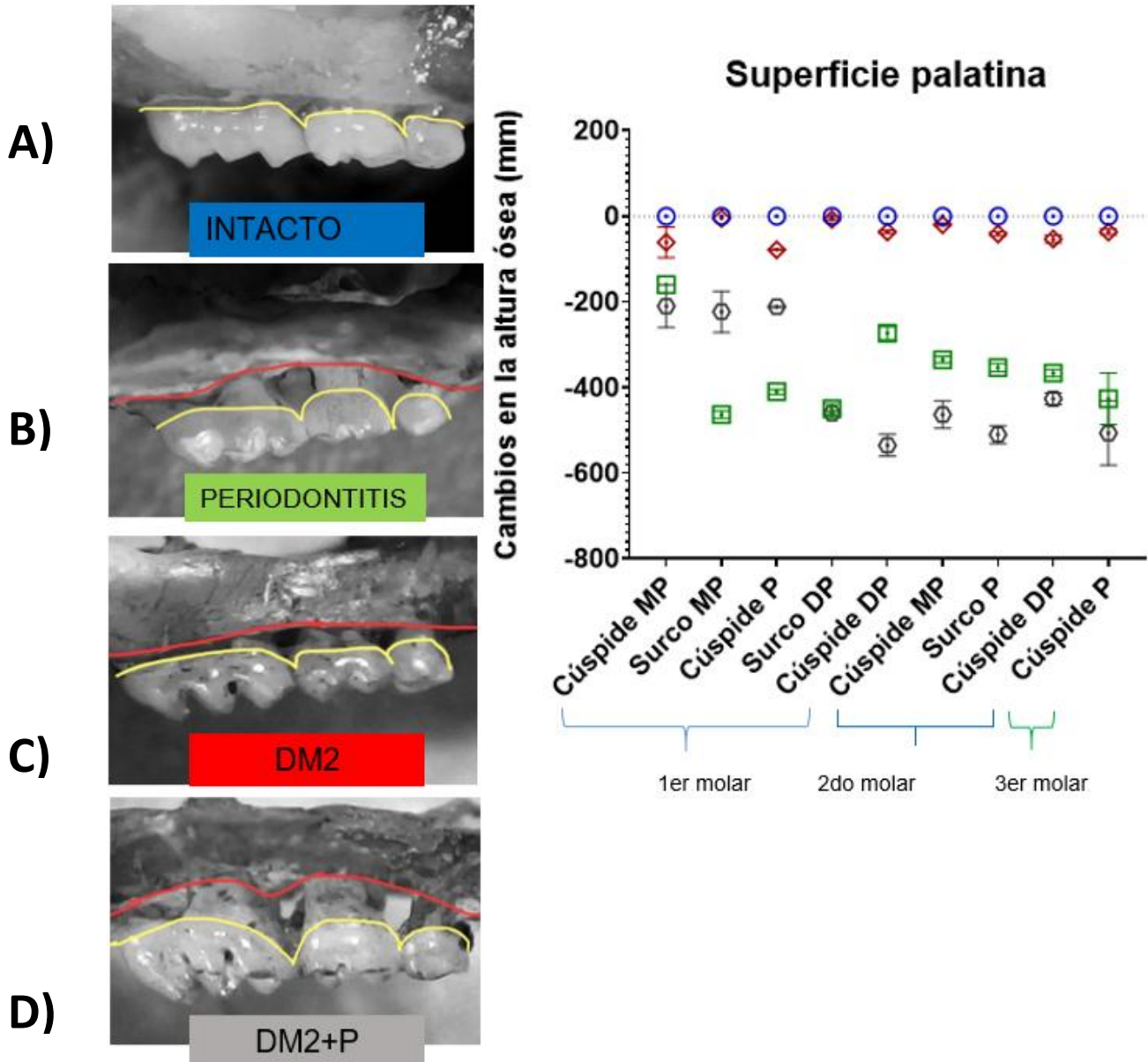


FIGURA 11. RESULTADOS DE LA MEDICIÓN DE PÉRDIDA ÓSEA VESTIBULAR EN LOS MAXILARES DE LOS 4 GRUPOS DE ESTUDIO

A) Se muestra margen óseo alveolar del grupo intacto.

B), C) y D) Se muestra margen alveolar (rojo) en relación a la superficie coronaria (amarillo) de cada grupo experimental.

MEDICIÓN DE LA PERDIDA OSEA VESTIBULAR Y PALATINA

Al tomar las muestras de hueso maxilar de los ratones de cada grupo, pudimos comparar las diferencias anatómicas con respecto a la pérdida ósea que tuvieron durante las 21 semanas. Observamos una resorción ósea grave principalmente en los grupos P y DM2+P, con un índice significativamente más alto en el grupo de los ratones que presentaban ambas enfermedades (DM2 + P) (Figuras 10 D y 11 D)

Por el contrario, resultó sorprendente que el grupo DM2 no presentara una pérdida ósea tan agresiva en relación a los ratones intactos, a pesar de notarse una resorción horizontal moderada del hueso alveolar, los dientes no presentaron pérdida de inserción (Figuras 10 y 11).

12. MAPA DE CORRELACIÓN PEARSON

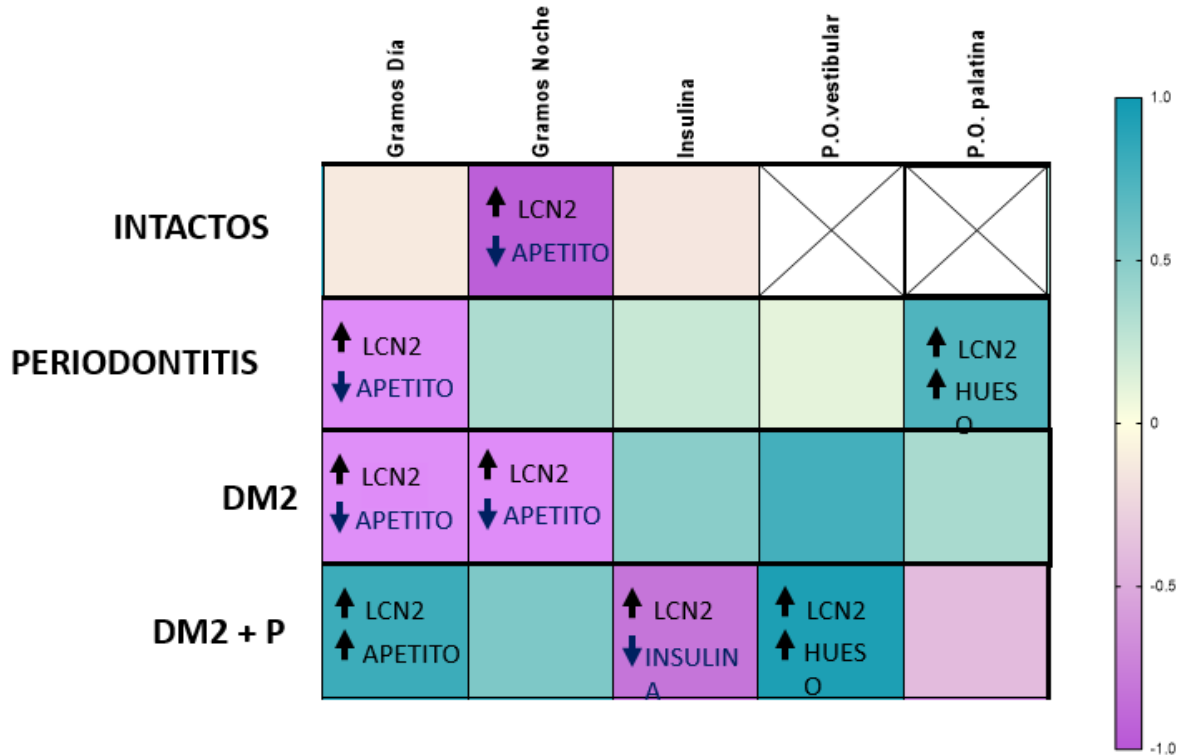


FIGURA 12. RESULTADOS DE MAPA DE CORRELACION PEARSON.

A) Se muestran los resultados de la correlación Pearson, donde se comparan los 4 grupos de estudio con el incremento de apetito, la concentración de insulina en relación al nivel de LCN2 y la pérdida ósea vestibular y palatina. El color morado representa la correlación negativa ($Pr = -1$) entre las variables, el color azul representa la correlación positiva ($Pr = 1$) entre las variables

Al relacionar las concentraciones de LCN2 con el consumo de alimento observamos que, en los ratones intactos, con P y DM2 existe una correlación negativa, lo que significa que a mayor concentración de LCN2 menor consumo de alimento por la inhibición del apetito. Inesperadamente las concentraciones de LCN2 en los ratones del grupo P se correlacionaron de forma positiva con el nivel de la altura ósea. Mientras que en los ratones con DM2+P las altas concentraciones de LCN2 se relacionaron con un aumento del consumo de alimentos e imprevistamente con una menor pérdida de la altura ósea; de forma interesante la LCN2 elevada se relacionó con la disminución de la insulina.

DISCUSIÓN

En este estudio se comprobó que el consumo de alimento y los niveles séricos de LCN2 si están estrechamente relacionados; puesto que a menor concentración de LCN2 existe mayor apetito, y a mayor concentración de LCN2, el apetito disminuye. Sin embargo, cuando se añade un factor de enfermedad metabólica o inflamatoria, los mecanismos de secreción de esta proteína parecen verse afectados, dando como resultado un incremento no saludable en el nivel de LCN2 y perdiendo la eficacia en su función como reguladora de apetito.

De forma inesperada, también se descubrió que la presencia de una enfermedad inflamatoria como la periodontitis por sí misma, logra alterar el equilibrio en la secreción de LCN2 al elevar sus niveles de una forma anormal; así mismo se pudo comprobar que la conjunción de una enfermedad metabólica como la DM2 y la periodontitis, afecta de forma más acentuada los niveles de LCN2, al aumentar drásticamente la concentración de esta proteína en el suero de los roedores.

Actualmente, el diagnóstico periodontal se basa en criterios clínicos más que etiológicos, lo cual proporciona una guía terapéutica limitada. El tratamiento causal periodontal consiste en raspados, enjuagues antisépticos y, ocasionalmente, antibióticos sistémicos, y se ha restado importancia a la intervención quirúrgica, excepto quizás para los tipos más avanzados de periodontitis. Sin embargo, no existen registro de un diagnóstico basado en la medición de biomarcadores como la LCN2, que ha demostrado verse alterada en presencia de esta enfermedad, tampoco han surgido investigaciones contundentes sobre esta proteína que nos acerquen a entender su participación en esta y otras enfermedades inflamatorias y metabólicas, así como la vía por la cual esta podría dirigirse hacia una función terapéutica del sistema.

En los últimos años, han surgido investigaciones respecto a los efectos que produce la LCN2 en enfermedades no solo del tipo canceroso, sino también neurológico y metabólico, en estudios similares se relacionó positivamente el incremento de la

hiperglucemia en pacientes con DM2 y que además padecían de periodontitis, en relación con aquellos que solo tenían DM2.

En un estudio de Ioanna Mosialou., et al. (2017) **(19)** en el que se procuró mostrar que los niveles séricos de LCN2 se correlacionan con los niveles de insulina, la función de las células β , el índice de masa corporal y la resistencia a la insulina, se encontró que silenciar la expresión de LCN2 empeora la disfunción metabólica en ratones obesos genéticos e inducidos por la dieta. Por el contrario, el aumento de los niveles circulantes de LCN2 mejora los parámetros metabólicos y promueve la función de las células β en modelos de ratón con falla de las células β , actuando como un factor de crecimiento necesario para la adaptación de las células β a una mayor carga metabólica. Estos resultados indicaron que la regulación positiva de LCN2 es un mecanismo protector para contrarrestar la intolerancia a la glucosa inducida por la obesidad.

No obstante, en este ramo metabólico, no se ha estudiado específicamente la relación de las concentraciones de LCN2 en el periodonto como parte del sistema que se ve afectado al padecer enfermedades comunes como la diabetes.

Por esta razón el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el comportamiento de la LCN2 en el suero de los ratones con inflamación causada por la presencia de P comparado a aquellos con DM2, y a los casos en donde estas dos enfermedades se conjuntan en un solo modelo murino (DM2+P). Para determinar estos resultados, se tomaron muestras biológicas de los modelos experimentales murinos C57BL/6.

Inicialmente, se halló un nivel mucho más elevado de la proteína LCN2 en el suero de los modelos que padecían DM2+PC simultáneamente, en comparación a aquellos, que solo padecían DM2. Sabemos que la LCN2 en un estado normal fluctúa durante el día, disminuye cuando el cuerpo requiere energía obtenida de los alimentos produciendo apetito, y aumenta cuando requiere que el organismo deje de comer. Sin embargo, en procesos patológicos como la obesidad, el equilibrio de esta proteína se ve tan alterado, que aumenta de una manera poco saludable para obligar al sistema a disminuir su apetito **(20)**, y en casos donde el huésped no logra controlar la ingesta de alimento a tiempo, este equilibrio se ve permanentemente dañado, ocasionando que la proteína no pueda volver a funcionar saludablemente

lo cual suele dirigir al organismo a un deterioro aún mayor, provocando resistencia a la insulina y pudiendo dirigir al desarrollo de diabetes **(21)**.

En esta investigación corroboramos que un aumento de la proteína LCN2 en el suero de los ratones influye negativamente en su consumo de alimento, disminuyendo el apetito. Mientras que una caída en la concentración de la LCN2 está directamente relacionada a un aumento positivo en la ingesta de alimento.

Así mismo, se encontró una pérdida del hueso alveolar exacerbada en el grupo DM2+P, estos resultados nos indicaron con claridad que la LCN2, sin duda se ve aumentada anormalmente durante el curso de enfermedades como la DM2 y la Periodontitis, sin embargo, los altos niveles de LCN2 se relacionaron con una mayor altura ósea, lo que habla del papel protector de la LCN2 en el tejido óseo. Esto coincide con lo reportado por: Delfina Costa et al. (2017) donde observaron que la sobreexpresión de LCN2 en el hueso mejora el compartimento hematopoyético a través de la modulación del microambiente de la médula ósea. **(22)**

Sin embargo, aquello que capturó nuestro interés de forma inesperada, fue el hallazgo de que la periodontitis, sin ningún coadyuvante como la DM2, la obesidad o una dieta hipercalórica, fue capaz de mantener el nivel de LCN2 casi tan alto como lo hubo en un contexto de DM2. La trascendencia de este resultado es que, la ruptura de este equilibrio metabólico, del que solo se tenían antecedentes durante la obesidad y DM2, parece estar sucediendo también en presencia de una enfermedad inflamatoria como la Periodontitis, es decir, nos advierte que esta enfermedad inflamatoria podría estar implicada en la desestabilización metabólica, y probablemente desempeñe un papel interesante en la regulación apetito, pues como vimos en graficas pasadas, los ratones con periodontitis consumen una cantidad menor de alimento y mantienen un peso e IMC menores en relación a los otros grupos.

Por otra parte, durante la evaluación de la pérdida ósea, se pudo observar que el grupo DM2, a pesar de haber presentado signos evidentes de destrucción periodontal en comparación a un modelo sano, estos no tuvieron la misma magnitud que en el grupo DM2+PC, lo que podría proponer que, es la alza de la LCN2 en el

proceso de PC quien en conjunto con la DM2 agrava de forma acelerada la resorción ósea durante la DM2 y no la hiperglucemia por si sola. Sin embargo, no se ha encontrado una correlación directa entre la periodontitis y el incremento de la LCN2, por qué esta proteína se encuentra incrementada en el transcurso de esta enfermedad y de qué manera podría estar acrecentando la resorción ósea. Para saber esto se requieren estudios más específicos.

Según nuestras investigaciones, hasta el momento ningún estudio ha evaluado el efecto de los niveles séricos de la LCN2 en modelos con DM2+P simultáneamente con el objetivo de entender su interacción. Estadísticamente obtuvimos datos significativos y los resultados obtenidos en este estudio indican que el papel de la LCN2 es muy amplio y su función se ve implicada en múltiples procesos biológicos importantes, por lo cual, con las debidas investigaciones, el entendimiento de esta proteína podría representar una alternativa importante para el diagnóstico y tratamiento de enfermedades metabólicas como la obesidad, la DM2 y sus complicaciones tales como la periodontitis, fungiendo como una proteína que vincula a la periodontitis y enfermedades sistémicas.

CONCLUSIONES

- La combinación de DM2 y Periodontitis, incrementa aún más las concentraciones de LCN2.
- El aumento en la concentración de LCN2 está relacionado con la disminución del apetito y la secreción de insulina.
- La combinación de DM2 y Periodontitis en un mismo individuo agrava la pérdida ósea alveolar lo cual se relaciona con el incremento de LCN2
- La periodontitis por si sola genera una ruptura del equilibrio metabólico a nivel sistémico.
- La hiperglucemia no tiene un efecto tan destructivo a nivel periodontal, sin embargo, al verse coadyuvado por la inflamación periodontal, se agrava y acelera el proceso de resorción ósea.

BIBLIOGRAFÍA

1. Galicia-Garcia, U., Benito-Vicente, A., Jebari, S., Larrea-Sebal, A., Siddiqi, H., Uribe, K. B., Ostolaza, H., & Martín, C. (2020). Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus. *International journal of molecular sciences*, 21(17), 6275. <https://doi.org/10.3390/ijms21176275>.
2. Sandra Torrades Biologa.. (2006). Diabetes Mellitus Tipo 2: Una Nueva Epidemia. 26/07/22, de AMBITO FARMACEUTICO divulgación sanitaria Sitio web: <https://es.scribd.com/document/519110894/13088620>.
3. NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, N. (n. d.). Diabetes: Los ojos, el corazón, los nervios, los pies y los riñones national kidney foundation. *Kidney*. Consultado en octubre 03, 2022, de <https://www.kidney.org/es/atoz/content/diabetes-los-ojos-el-corazon-los-nervios-los-pies-y-los-riñones>).
4. Preshaw, P. M., Alba, A. L., Herrera, D., Jepsen, S., Konstantinidis, A., Makrilakis, K., & Taylor, R. (2012). Periodontitis and diabetes: a two-way relationship. *Diabetologia*, 55(1), 21–31. <https://doi.org/10.1007/s00125-011-2342-y>.
5. Reddi, D., & Belibasakis, G. N. (2012). Transcriptional profiling of bone marrow stromal cells in response to *Porphyromonas gingivalis* secreted products. *PloS one*, 7(8), e43899. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0043899>.
6. Kido, R., Hiroshima, Y., Kido, J. I., Ikuta, T., Sakamoto, E., Inagaki, Y., Naruishi, K., & Yumoto, H. (2020). Advanced glycation end-products increase lipocalin 2 expression in human oral epithelial cells. *Journal of periodontal research*, 55(4), 539–550. <https://doi.org/10.1111/jre.12741>.

- 7.** Lin, X., Onda, D. A., Yang, C. H., Lewis, J. R., Levinger, I., & Loh, K. (2020). Roles of bone-derived hormones in type 2 diabetes and cardiovascular pathophysiology. *Molecular metabolism*, 40, 101040. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2020.101040>.
- 8.** Capulli, M., Ponzetti, M., Maurizi, A., Gemini-Piperni, S., Berger, T., Mak, T. W., Teti, A., & Rucci, N. (2018). A Complex Role for Lipocalin 2 in Bone Metabolism: Global Ablation in Mice Induces Osteopenia Caused by an Altered Energy Metabolism. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 33(6), 1141–1153. <https://doi.org/10.1002/jbmr.3406>.
- 9.** Dahl, S. L., Woodworth, J. S., Lerche, C. J., Cramer, E. P., Nielsen, P. R., Moser, C., Thomsen, A. R., Borregaard, N., & Cowland, J. B. (2018). Lipocalin-2 Functions as Inhibitor of Innate Resistance to Mycobacterium tuberculosis. *Frontiers in immunology*, 9, 2717. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02717>.
- 10.** Li, D., Yan Sun, W., Fu, B., Xu, A., & Wang, Y. (2020). Lipocalin-2-The myth of its expression and function. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, 127(2), 142–151. <https://doi.org/10.1111/bcpt.13332>.
- 11.** Wang, W., Ye, S., Qian, L., Xing, Y., Ren, A., Chen, C., Li, S., Xu, J., Liu, Q., Dong, L., Xiao, C., & Zhou, W. (2018). Elevated serum lipocalin 2 levels are associated with indexes of both glucose and bone metabolism in type 2 diabetes mellitus. *Endokrynologia Polska*, 69(3), 276–282. <https://doi.org/10.5603/EP.a2018.0030>.
- 12.** Bhusal, A., Rahman, M. H., Lee, W. H., Bae, Y. C., Lee, I. K., & Suk, K. (2019). Paradoxical role of lipocalin-2 in metabolic disorders and neurological

complications. *Biochemical pharmacology*, 169, 113626.
<https://doi.org/10.1016/j.bcp.2019.113626>

13. Regulación endocrina del metabolismo energético a través del hueso. (2017).
<https://revistadeosteoporosisymetabolismomineral.com/2017/07/11/regulacion-endocrina-del-metabolismo-energetico-a-traves-del-hueso/>.

14. Sánchez-Muñoz, Fausto, García-Macedo, Rebeca, Alarcón-Aguilar, Francisco, & Cruz, Miguel. (2005). Adipocinas, tejido adiposo y su relación con células del sistema inmune. *Gaceta médica de México*, 141(6),505-512. Recuperado en 07 de octubre de 2021, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0016-38132005000600009&lng=es&tlng=es.

15. González-Rozas M1, Pérez Castrillón JL2. (2014). Regulación endocrina del metabolismo energético a través del hueso. 20/07/22, de *Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral* Sitio web: <https://revistadeosteoporosisymetabolismomineral.com/2017/07/11/regulacion-endocrina-del-metabolismo-energetico-a-traves-del-hueso/>.

16. Pradeep, A. R., Nagpal, K., Karvekar, S., & Patnaik, K. (2016). Levels of lipocalin-2 in crevicular fluid and tear fluid in chronic periodontitis and obesity subjects. *Journal of investigative and clinical dentistry*, 7(4), 376–382.
<https://doi.org/10.1111/jicd.12165>

17. Nakajima, M., Hosojima, M., Tabeta, K., Miyauchi, S., Yamada-Hara, M., Takahashi, N., Miyazawa, H., Matsuda-Matsukawa, Y., Sato, K., Sugita, N., Komatsu, Y., Ishikawa, T., Akiishi, K., Yamazaki, K., Kato, K., Saito, A., & Yoshie, H. (2019). β 2-Microglobulin and Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin, Potential Novel Urine Biomarkers in Periodontitis: A Cross-Sectional Study in

Japanese. International journal of dentistry, 2019, 1394678.
<https://doi.org/10.1155/2019/1394678>

18. Santiago-Sánchez, G. S., Pita-Grisanti, V., Quiñones-Díaz, B., Gumpper, K., Cruz-Monserrate, Z., & Vivas-Mejía, P. E. (2020). Biological Functions and Therapeutic Potential of Lipocalin 2 in Cancer. *International journal of molecular sciences*, 21(12), 4365. <https://doi.org/10.3390/ijms21124365>.

19. Slots J. (2017). Periodontitis: facts, fallacies and the future. *Periodontology* 2000, 75(1), 7–23. <https://doi.org/10.1111/prd.12221>.

20. Mosialou, I., Shikhel, S., Liu, J. M., Maurizi, A., Luo, N., He, Z., Huang, Y., Zong, H., Friedman, R. A., Barasch, J., Lanzano, P., Deng, L., Leibel, R. L., Rubin, M., Nickolas, T., Chung, W., Zeltser, L. M., Williams, K. W., Pessin, J. E., & Kousteni, S. (2017). MC4R-dependent suppression of appetite by bone-derived lipocalin 2. *Nature*, 543(7645), 385–390. <https://doi.org/10.1038/nature21697>.

21. Mosialou, I., Shikhel, S., Liu, J. M., Maurizi, A., Luo, N., He, Z., Huang, Y., Zong, H., Friedman, R. A., Barasch, J., Lanzano, P., Deng, L., Leibel, R. L., Rubin, M., Nickolas, T., Chung, W., Zeltser, L. M., Williams, K. W., Pessin, J. E., & Kousteni, S. (2017). MC4R-dependent suppression of appetite by bone-derived lipocalin 2. *Nature*, 543(7645), 385–390. <https://doi.org/10.1038/nature21697>

22. Costa, D., Principi, E., Lazzarini, E., Descalzi, F., Cancedda, R., Castagnola, P., & Tavella, S. (2017). LCN2 overexpression in bone enhances the hematopoietic compartment via modulation of the bone marrow microenvironment. *Journal of cellular physiology*, 232(11), 3077–3087. <https://doi.org/10.1002/jcp.25755>.