



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA**

**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LAS  
HORMONAS SEXUALES EN LAS  
ALTERACIONES DE LAS GLÁNDULAS  
SALIVALES PROVOCADAS POR LA  
DIABETES MELLITUS TIPO 2.**

**TESIS**

Que para obtener el título de  
**CIRUJANO DENTISTA**

**P R E S E N T A**

GERARDO ARTURO RUEDA CORTEZ

**DIRECTOR DE TESIS:**

DR. SAÚL ERNESTO CIFUENTES MENDIOLA

**SINODALES:**

DRA. ANA LILIA GARCÍA HERNÁNDEZ

DR. ISAAC OBED PEREZ MARTINEZ

MTRA. CLAUDIA DANIELA MONTES ANGELES

DR. CARLOS ANDRÉS GALLARDO LEYVA



**Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México, 2023**



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.

*A mis padres y hermana*

*Arturo Rueda Vázquez*

*Crispiniana Cortez Estrada*

*Andrea Ximena Rueda Cortez*

## *Agradecimientos*

A mi hermana, quien fungió como una fuente de inspiración, por ser un modelo a seguir, por ser símbolo de fortaleza cuya luz0 fungió como un faro que siempre me ayudo a encontrar el camino, por ser mi soporte, mi persona, por estar ahí a cada paso, por celebrar mis logros y siempre ayudarme a salir adelante.

Al doctor Saúl Ernesto Cifuentes Mendiola, por la guía y el apoyo que me brindó los cuales fueron claves para desarrollar este trabajo de investigación.

A la doctora Ana Lilia García Hernández por haber visto mi potencial y ayudarme a encontrar diferentes maneras de explotarlo, por el apoyo brindado el cual fue más allá de su deber, así como haberme ayudado a crecer tanto en mi carrera profesional como en mi persona.

Al doctor Isaac Obed Pérez Martínez que, junto a la doctora Ana Lilia, me orientaron e incentivaron a conocer el camino de la investigación.

A todo el equipo de laboratorio por su ayuda, compañía y apoyo durante todo este proceso

A mis padres por haberme apoyado de manera incondicional y que, a pesar de las dificultades, siempre supieron sacarme adelante, impulsando mis sueños y ambiciones, razón por la cual pude alcanzar esta gran meta.

# Índice de contenido

Índice de abreviaturas.....	5
RESUMEN.....	6
1. Introducción.....	8
1.1 Diabetes mellitus tipo 2 .....	8
1.1.1 Diabetes mellitus tipo II y desequilibrio hormonal.....	9
1.1.2. Diabetes mellitus tipo 2 y complicaciones de la cavidad oral .....	10
1.2 Glándulas salivales.....	11
1.3 La hiposalivación y la xerostomía .....	12
2. Antecedentes.....	13
3. Planteamiento del problema y justificación .....	16
4. Pregunta de investigación .....	17
5. Hipótesis.....	17
6. Objetivos.....	17
6.1 Objetivo general: .....	17
6.2 Objetivos particulares:.....	17
7. Estrategia experimental.....	18
8. Material y métodos.....	18
8.1 Animales .....	18
8.2 Consideraciones éticas y legales .....	19
8.3 Inducción de DM2.....	19
8.4 Supresión de las hormonas sexuales por orquiectomía.....	20
8.5 Somatometría y consumo de alimento.....	21
8.6 Evaluación del perfil glucémico .....	21
8.7 Evaluación de la función secretora de las glándulas salivales.....	21
8.8 Análisis histológico .....	22
8.9 Análisis estadístico.....	22
9. RESULTADOS.....	23
9.1 Los andrógenos en la DM2 aumentan el peso, pero no afecta la acumulación de tejido adiposo. ....	23
9.2 Los ratones con DM2 con o sin deficiencia de andrógenos consumen un mayor contenido de calorías y desarrollan polidipsia. ....	25

<b>9.3</b>	<b>Los andrógenos en ratones con DM2 promueven el desarrollo de hiperglucemia y resistencia a la insulina.</b>	<b>27</b>
<b>9.4</b>	<b>Los andrógenos disminuyen la función de las glándulas salivales en ratones con DM2.</b>	<b>29</b>
<b>9.5</b>	<b>Los andrógenos en los ratones con DM2 promueven el desarrollo de la hipertrofia acinar, el infiltrado inflamatorio y la fibrosis en las glándulas salivales parótidas y submandibulares</b>	<b>31</b>
<b>10.</b>	<b>DISCUSIÓN</b>	<b>34</b>
<b>11.</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>41</b>
<b>12.</b>	<b>PERSPECTIVAS</b>	<b>41</b>
<b>13.</b>	<b>REFERENCIAS</b>	<b>42</b>
<b>Anexo 1</b>		<b>48</b>

## *Índice de abreviaturas*

<b>DM2</b>	Diabetes mellitus tipo 2
<b>ORQ</b>	Orquiectomía
<b>AGE´s*</b>	Productos finales de glicación avanzada
<b>TNF-<math>\alpha</math>*</b>	Factor de necrosis tumoral $\alpha$
<b>Qx</b>	Cirugía
<b>STZ*</b>	Estreptozotocina
<b>ITT*</b>	Prueba de tolerancia a la insulina
<b>GTT*</b>	Prueba de tolerancia a la glucosa
<b>GS</b>	Glándulas salivales
<b>TAS</b>	Tejido adiposo subcutáneo
<b>TAV</b>	Tejido adiposo visceral
<b>PFA</b>	Paraformaldehído
<b>HyE</b>	Hematoxilina y eosina
<b>IMC</b>	Índice de masa corporal
<b>DHEA</b>	Dehidroepiandrosterona
<b>AED</b>	Androstenediona

\*Por sus siglas en inglés.

## RESUMEN

**Introducción:** La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) conduce al desarrollo de hiposalivación y xerostomía, lo que repercute en una mayor incidencia de problemas de la cavidad oral, problemas digestivos y en la calidad de vida de estos individuos. Aunque la disminución en la función de las glándulas salivales se considera una de las principales complicaciones de la DM2 por su alta incidencia, a la fecha, se desconocen los mecanismos que conducen a su desarrollo. La DM2 provoca la disminución de andrógenos y es posible que esta disminución sea un mecanismo importante para la disminución en la función de las glándulas salivales. Se ha reportado que la deficiencia de andrógenos en hombres aparentemente sanos conduce a una menor función de las glándulas salivales lo que sugiere que la disminución de hormonas sexuales en la DM2 tiene un papel importante en el desarrollo de este padecimiento.

**Objetivo:** Evaluar el efecto de la deficiencia de andrógenos en la función de las glándulas salivales en ratones con DM2.

**Material y métodos:** Se utilizaron ratones macho de la cepa C57BL/6 de 4 semanas de edad, los cuales fueron divididos en 4 grupos: controles sanos (**Control**; n=8), sanos con orquiectomía (**ORQ**; n=8), con DM2 (**DM2**; n=8) y DM2 con orquiectomía (**DM2-ORQ**; n=8). La deficiencia de andrógenos se indujo por orquiectomía bilateral y la DM2 se indujo a través de la administración de una dieta hipercalórica y bajas dosis de estreptozotocina. Durante todo el experimento se midió el peso corporal, las concentraciones de glucosa en sangre y el consumo de alimento y líquido. Se realizaron curvas de tolerancia a la insulina y a la glucosa. A las 20 semanas de edad se sacrificaron a los ratones y se midió la talla y la circunferencia abdominal, se disecó el tejido adiposo visceral y subcutáneo y las glándulas salivales parótidas y submandibulares. Todos los tejidos fueron pesados al momento de disecarlos. Las glándulas salivales se procesaron histológicamente y se realizaron cortes seriados en un microtomo. Las secciones de tejido se tiñeron de manera rutinaria con hematoxilina y eosina para analizar las características estructurales y la presencia de infiltrado inflamatorio o con una doble tinción con verde rápido/rojo Sirio para evaluar el desarrollo de fibrosis.

**Resultados:** los ratones del grupo con deficiencia de andrógenos (**ORQ**) disminuyeron su peso corporal, el peso de ambas glándulas salivales, y desarrollaron atrofia acinar sin modificar la secreción o calidad de la saliva. Los ratones diabéticos (**DM2**) desarrollaron obesidad central, polidipsia, hiperglucemia, resistencia a la insulina, disminución en la secreción y calidad de la saliva con hipertrofia y fibrosis de los acinos salivales y mostraron un mayor contenido de

glándulas mucosas. Los ratones del grupo con diabetes y deficiencia de andrógenos (**DM2-ORQ**), mostraron disminución del peso corporal, en las concentraciones de glucosa en sangre, la resistencia a la insulina y una mejoría en la secreción de insulina; además, presentaron un incremento en la secreción y calidad de la saliva, histológicamente se observó una disminución de la hipertrofia acinar y la fibrosis en ambas glándulas salivales.

**Conclusiones:** Los andrógenos participan en el desarrollo y severidad de la disfunción de las glándulas salivales provocadas por la DM2 en ratones, ya que su deficiencia mejora la función de las glándulas salivales parótida y sublingual, preserva la estructura histológica de las glándulas salivales, disminuye la hipertrofia y fibrosis acinar

# 1. *Introducción*

## 1.1 *Diabetes mellitus tipo 2*

La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es una enfermedad metabólica caracterizada principalmente por resistencia a la insulina, la cual se define como la incapacidad del organismo para responder a la insulina lo que implica un menor ingreso de glucosa a las células, y por una deficiencia relativa en la producción y secreción de esta hormona, lo que reduce la capacidad del organismo para regular los niveles de glucosa en sangre y, por lo tanto, estados de hiperglucemia crónica que resulta en complicaciones multiorgánicas que disminuyen la calidad de vida de quién lo padece<sup>1-3</sup>.

La DM2 representa del 90 al 95% de todos los casos de diabetes a nivel mundial con 482.94 millones de casos activos en 2021 (250.62 millones son hombres y 232.62 millones son mujeres), y tiene una alta tasa de mortalidad con 6.7 millones de defunciones reportadas el mismo año<sup>3</sup>. La alta mortalidad de esta enfermedad se debe principalmente a sus complicaciones, de estas, las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte<sup>4</sup>.

La obesidad es uno de los principales factores de riesgo para desarrollar DM2, ya que influye en el desarrollo de la resistencia a la insulina. En la DM2 existe una acumulación de tejido adiposo visceral y subcutáneo y la infiltración anormal de lípidos (esteatosis), en el hígado y el músculo esquelético, lo que conduce a inflamación crónica a nivel sistémico y local, estrés oxidativo y cambios en la vía de señalización de la insulina en el hígado, músculo esquelético y tejido adiposo,

provocando, un déficit en la entrada de glucosa, el establecimiento de resistencia a la insulina y la hiperglucemia<sup>2,5</sup>.

Además de la resistencia a la insulina, la deficiencia parcial en la secreción de insulina por parte de los islotes beta ( $\beta$ ) pancreáticos es otra de las características de la DM2. La deficiencia en la secreción de insulina ocurre debido a una disminución en la masa de las células  $\beta$ , a un aumento en la apoptosis y una menor diferenciación de células precursoras. Lo anterior ocurre a través del incremento del estrés oxidativo intracelular y la inflamación pancreática, derivando tanto en una pérdida parcial de la secreción de insulina como en estados de hiperglucemia e hiperlipidemia<sup>6</sup>.

### ***1.1.1 Diabetes mellitus tipo II y desequilibrio hormonal***

Los andrógenos son un grupo de hormonas sexuales, entre las cuales la más común es la testosterona, la cual es sintetizada a partir del colesterol principalmente en las células de Leydig en los testículos y en la corteza de las glándulas suprarrenales. Los andrógenos son responsables de la maduración y el mantenimiento de los caracteres sexuales durante la pubertad y en la adultez, en hombres, regula la función reproductiva, incrementan la masa muscular, la densidad mineral ósea y tienen efectos inmunomoduladores además de regular la función de otras glándulas; sin embargo, las consecuencias clínicas de un déficit en la producción de andrógenos aún no están bien establecidas<sup>7</sup>.

Se ha demostrado que el índice de masa corporal, la forma en que se desarrolla el síndrome metabólico, la DM2 e incluso la distribución de la grasa

corporal, la cual se acumula mayormente en el abdomen en los hombres y en las caderas en las mujeres, son dependientes del sexo al ser modulados por las hormonas sexuales. Los andrógenos juegan un papel importante en el metabolismo de la glucosa e, incluso, se han relacionado niveles bajos de andrógenos con el desarrollo de resistencia a la insulina y tolerancia a la glucosa<sup>8</sup>. La disminución de andrógenos modifica la composición corporal al favorecer la obesidad y provocar cambios en la sensibilidad a la insulina, lo que conduce al desarrollo de la DM2<sup>9-11</sup>.

La disminución de los andrógenos en la DM2 se debe principalmente al ambiente proinflamatorio característico de esta enfermedad, el cual promueve la disminución de globulina transportadora de hormonas sexuales, que se encarga de modular la biodisponibilidad y concentración de las hormonas sexuales esteroideas como la testosterona, el estradiol y la dihidrotestosterona, así como su concentración en el torrente sanguíneo<sup>8,12,13</sup>.

En pacientes con DM2 se ha encontrado una alta prevalencia de niveles bajos de testosterona, los cuales se han relacionado con un mayor riesgo de desarrollar la enfermedad<sup>14</sup>. De igual manera, se ha observado que, en individuos con terapia de privación de andrógenos, el uso prolongado de estas terapias puede aumentar significativamente el riesgo de diabetes, lo que indica una relación bidireccional entre ambas condiciones<sup>15</sup>.

### ***1.1.2. Diabetes mellitus tipo 2 y complicaciones de la cavidad oral***

La resistencia a la insulina, el déficit en su secreción y la hiperglucemia crónica favorecen a nivel sistémico el desarrollo de un microambiente proinflamatorio, la

acumulación de productos finales de glicación avanzada (AGE's), y estrés oxidativo en los diferentes tejidos del cuerpo y conducen al desarrollo de diferentes complicaciones, algunas de las cuales se manifiestan en la cavidad oral<sup>16,17</sup>.

Dentro de las complicaciones de la cavidad oral en la DM2 se encuentran una mayor incidencia de caries, candidiasis oral, liquen plano, gingivitis, enfermedad periodontal, ardor en la boca, alteraciones en el sentido del gusto y mayor tendencia a infecciones. Todas estas complicaciones se ven potenciadas por el desarrollo de hiposalivación y xerostomía, las cuales son padecimientos donde el flujo salival se ve disminuido y son de las complicaciones más comunes entre individuos diabéticos y de las que más afectan su calidad de vida<sup>16-18</sup>.

## **1.2 Glándulas salivales**

Las glándulas salivales son estructuras fundamentales dentro de la cavidad bucal, se encargan de la secreción de saliva la cual facilita e inicia la digestión de los alimentos, mantiene los tejidos orales húmedos, cumple una función inmunológica, ayuda a articular el habla, favorece la función gustativa y mantiene la integridad de los tejidos orofaríngeos<sup>19,20</sup>.

En los mamíferos, las glándulas salivales se dividen principalmente en 2 grupos, las glándulas salivales mayores (parótidas, submandibulares y sublinguales) y menores, las cuales son diminutas y se encuentran distribuidas a lo largo de la encía, los carrillos y la lengua<sup>19</sup>. Las glándulas salivales parótidas tienen una secreción serosa rica en  $\alpha$ -amilasa, las glándulas sublinguales tienen principalmente una secreción mucosa rica en mucinas y las glándulas

submandibulares tienen una población mixta de acinos por lo que tienen una secreción serosa y mucosa<sup>19,20</sup>.

La actividad de las glándulas salivales mayores es diferente entre humanos y ratones. En humanos, las glándulas salivales mayores producen el 90% de la saliva, el 20% es secretado por las glándulas parótidas, el 65% por las submandibulares y entre el 7 y el 8% por las glándulas sublinguales<sup>20</sup>, mientras que en ratones la actividad de las glándulas parótidas es dos veces mayor en comparación con las glándulas submandibulares, además de no haber diferencias entre la actividad de las glándulas submandibulares y las sublinguales<sup>21</sup>.

La secreción de saliva está controlada por el sistema nervioso autónomo y es regulada por los reflejos que activan a las células acinares glandulares gracias a un componente eferente de neuronas secretomotoras simpáticas, responsable de la secreción rica en proteínas, y parasimpáticas responsables de la secreción pobre en proteínas<sup>19,20</sup>.

La función de las glándulas salivales puede verse afectada por diversos factores endógenos, como las hormonas sexuales, el peso y la edad, o factores exógenos como el uso de medicamentos, drogas y el tabaquismo y por algunos padecimientos como el cáncer, enfermedades autoinmunes, infecciones y la diabetes tipo I y II<sup>20,22</sup>.

### ***1.3 La hiposalivación y la xerostomía***

La hiposalivación y la xerostomía son padecimientos en donde el flujo salival se ve disminuido. Esta disminución del flujo salival impacta directamente en el estilo de

vida y en la salud de los individuos que lo padecen debido a que aumentan la incidencia de infecciones micóticas, el ardor por la atrofia de las mucosas y las papilas gustativas, dificultad para masticar, deglutir, lo que a la larga puede desarrollar problemas de desnutrición<sup>18</sup>.

Clínicamente, la xerostomía y la hiposalivación son padecimientos con una alta incidencia en pacientes geriátricos y se presenta como una de las complicaciones más comunes en pacientes diabéticos, lo que afecta el estilo de vida y disminuye la calidad de vida de estos individuos de manera significativa<sup>23,24</sup>.

La disfunción de células acinares se ha relacionado con la deficiencia de andrógenos, posiblemente por cambios en la estimulación hormonal y señalización intracelular en las células acinares que expresan receptores de andrógenos<sup>25,26</sup>. Lo que sugiere que los andrógenos juegan un papel importante en la disfunción de las glándulas salivales, sin embargo, aún no se sabe con exactitud cómo influyen en su relación con la DM2.

## **2. Antecedentes**

En diversos estudios se ha asociado a la DM2 con el desarrollo de hiposalivación, xerostomía, fibrosis e hipertrofia de las glándulas salivales<sup>17,22,24,27-29</sup>, lo que repercute en mayor incidencia de caries, candidiasis, queilitis angular, problemas digestivos y cambios en la microbiota oral e intestinal<sup>23</sup>.

En humanos, se ha sugerido que la hiperglucemia, la esteatosis de las glándulas salivales, la poliuria y la inflamación pueden inducir la hiposalivación y la xerostomía en la DM2<sup>22</sup>; sin embargo, se desconocen los mecanismos exactos

debido a que la relación entre la DM2 y las alteraciones en las glándulas salivales han sido pobremente estudiados.

En individuos con obesidad y DM2 se ha reportado que los niveles elevados de TNF- $\alpha$ , inhiben la producción de globulina transportadora de hormonas sexuales lo que lleva a una disminución en la concentración de andrógenos el torrente sanguíneo, lo que podría explicar su disminución en la obesidad y la DM2<sup>8,13</sup>.

La deficiencia de andrógenos en la DM2 pudiera ser un mecanismo importante para el desarrollo de complicaciones en las glándulas salivales ya que se ha observado deficiencia en la producción de andrógenos en pacientes varones con síndrome de Sjögren, y de forma similar, en modelos animales deficientes de andrógenos se ha observado el desarrollo de hiposalivación y xerostomía<sup>31-33</sup>.

Se ha reportado que la DM2 disminuye los niveles de andrógenos en mujeres y hombres<sup>11</sup>, lo que se ha asociado con una mayor resistencia a la insulina, hipoinsulinemia, hiperglucemia e inflamación sistémica<sup>34-37</sup>, lo que puede afectar el tejido glandular en las glándulas salivales a través de incrementar la esteatosis, la acumulación de AGE's y la generación de un microambiente inflamatorio. Estos mecanismos se han asociado de manera independiente a la DM2 con la fibrosis de las glándulas salivales y con la apoptosis de las células acinares; cabe mencionar que, la relación de los andrógenos sobre la hiposalivación y xerostomía en el contexto de la DM2 aún no se ha estudiado.

Por lo tanto, en este trabajo nos enfocamos en determinar el papel de los andrógenos sobre la función de las glándulas salivales en un modelo experimental de DM2 en ratones.

### ***3. Planteamiento del problema y justificación***

La DM2 conduce al desarrollo de hiposalivación y xerostomía, lo que repercute en una mayor incidencia de problemas de la cavidad oral y problemas digestivos que agravan el cuadro de DM2 y reducen la calidad de vida. Aunque la disminución en la función de las glándulas salivales está bien documentada, a la fecha, se desconocen los mecanismos que conducen a su desarrollo en la DM2.

Es posible que la disminución de andrógenos en la DM2 sea un mecanismo importante para la disminución en la función de las glándulas salivales, debido a que se ha reportado en estudios preclínicos y clínicos que la deficiencia andrógenos en hombres conducen a una menor función de las glándulas salivales, lo que sugiere que la disminución de hormonas sexuales en la DM2 puede tener un papel importante en el desarrollo de este padecimiento. Por lo que es necesario evaluar la influencia de los andrógenos en las alteraciones de las glándulas salivales en la DM2 con el objetivo de encontrar los mecanismos, blancos terapéuticos y la generación de mejores estrategias de tratamiento.

## **4. Pregunta de investigación**

¿Cómo influyen los andrógenos en la estructura y función de las glándulas salivales en la DM2?

## **5. Hipótesis**

La deficiencia de andrógenos modifica la estructura y disminuye la función secretora de las glándulas salivales en la DM2.

## **6. Objetivos**

### **6.1 Objetivo general:**

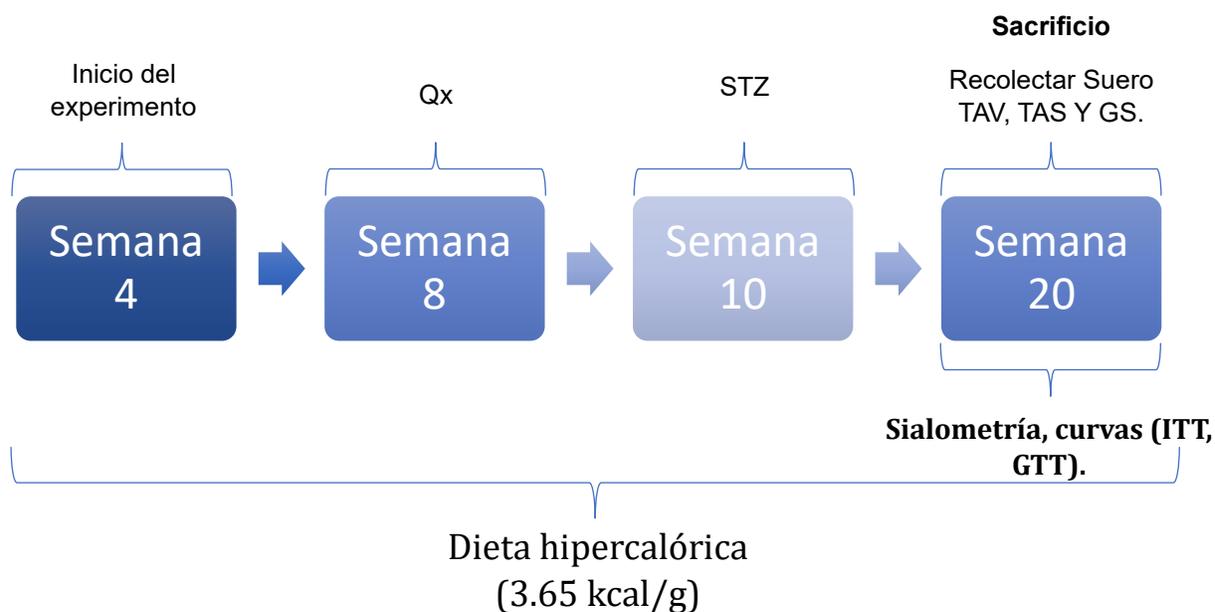
Evaluar el efecto de los andrógenos en la función y la estructura de las glándulas salivales en ratones con DM2

### **6.2 Objetivos particulares:**

En ratones macho sanos o con DM2, con o sin inhibición de andrógenos:

1. Evaluar el perfil glucémico
2. Determinar la función de las glándulas salivales
3. Determinar las propiedades fisicoquímicas y el contenido proteico de la saliva.
4. Evaluar los cambios histomorfológicos en las glándulas salivales

## 7. Estrategia experimental



**Fig. 1. Estrategia experimental.** Se describe la estrategia experimental para la evaluación del papel de los andrógenos en la función secretora de las glándulas salivales en ratones macho con DM2. **Qx:** cirugía, **STZ:** estreptozotocina, **ITT:** Prueba de tolerancia a la insulina, **GTT:** prueba de tolerancia a la glucosa, **GS:** glándulas salivales **TAS:** tejido adiposo subcutáneo, **TAV:** tejido adiposo visceral.

## 8. Material y métodos.

### 8.1 Animales

Se utilizaron ratones C57BL/6 macho de 4 semanas de edad a los que dividimos en cuatro grupos experimentales (Tabla 1): machos control(sin manipulación de variables), machos con deficiencia de andrógenos por orquiectomía (**ORQ**), machos con DM2 (**DM2**), y machos con DM2 y deficiencia de andrógenos por orquiectomía (**DM2-ORQ**). Todos los ratones se mantuvieron en condiciones de bioterio en cajas con micro aisladores con acceso libre a alimento y líquido. A las 20 semanas de edad se sacrificaron a los ratones con CO<sub>2</sub>, y se obtuvieron ambas glándulas

salivales parótidas y submandibulares, tejido adiposo visceral y tejido adiposo subcutáneo.

Control (n=8)
Sanos + orquiectomía (ORQ, n=8)
DM2 (n=8)
DM2 + orquiectomía (DM2- ORQ, n=8)

**Tabla 1:** distribución de los ratones en los diferentes grupos experimentales

## **8.2 Consideraciones éticas y legales**

El presente proyecto de investigación se diseñó considerando las recomendaciones de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 y las normas del Comité de Ética de la FES-Iztacala, UNAM. El proyecto fue avalado por la comisión de ética de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala en el oficio CE/FESI/102021/1432 con fecha de vigencia al 20 de octubre del 2023. Se adjunta el documento oficial del aval del comité de ética de la FES-I UNAM para la realización de este proyecto en el **Anexo 1**.

## **8.3 Inducción de DM2**

La inducción de DM2 se realizó de acuerdo con lo reportado por Cifuentes-Mendiola *et al.*, en 2022, el cual consiste en la inducción de resistencia a la insulina por obesidad y un déficit relativo en la secreción de insulina. En concreto, se administró una dieta hipercalórica (alta en carbohidratos 3.63 kcal/g) desde las 4 semanas de edad y hasta el momento del sacrificio (20 semanas de edad), combinado con la administración de dosis bajas de estreptozotocina en la décima semana de edad

durante 7 días consecutivos (50 mg/kg el primer día y 25 mg/kg días restantes). Los ratones se consideraron diabéticos cuando alcanzaron niveles de glucosa en sangre por encima de 250 mg/dL<sup>38</sup>.

#### **8.4 Supresión de las hormonas sexuales por orquiectomía**

A las ocho semanas de edad, los ratones se sometieron a extirpación gonadal bilateral o a cirugía simulada. Previamente fueron anestesiados por inhalación de isoflurano al 1.5%. En todo momento se verificó que las vías aéreas no estuvieran obstruidas y se mantuvieron a una temperatura estable para evitar la hipotermia<sup>39</sup>. Una vez anestesiados, se afeitaron las zonas de incisión con crema para depilar.

Se realizó un corte en el escroto seguido de una incisión en el peritoneo para exponer los testículos. Haciendo uso de una sutura absorbible (catgut crómico 3.0), se ligó la arteria testicular en ambos testículos y se procedió a extraerlo con ayuda de unas tijeras y posteriormente se suturó el peritoneo y la piel con una sutura absorbible de seda 6-0<sup>40</sup>.

Para las cirugías simuladas, únicamente se realizaron las incisiones, se expusieron las gónadas y se suturó la incisión. Una vez finalizado el procedimiento quirúrgico, los ratones se trataron con antibioterapia (enrofloxacina, 10 mg/kg) y analgésico (meloxicam, 5 mg/Kg), durante tres días<sup>41</sup>.

### **8.5 Somatometría y consumo de alimento**

Todos los días se midió el peso corporal, el alimento y el líquido consumido. Al momento del sacrificio se midió la circunferencia abdominal y la talla y se calculó el índice de masa corporal siguiendo la siguiente ecuación: peso corporal (g)/(talla cm)<sup>2</sup>

### **8.6 Evaluación del perfil glucémico**

Se midió la concentración de glucosa en sangre cada 2 semanas haciendo uso de un glucómetro OneTouch Select Plus, después de un ayuno matutino de 6 horas (8:00 am-14:00 pm). A las 20 semanas de edad, se realizaron pruebas de tolerancia a la glucosa (GTT), con un ayuno matutino de 6 horas, y pruebas de tolerancia a la insulina (ITT), con un ayuno matutino de 2 horas. Para la GTT se administró por vía intraperitoneal D-glucosa (1g/kg de peso) y para la ITT se administró insulina aspártica (0.5U/kg) por vía intraperitoneal. En ambos casos se cuantificaron las concentraciones de glucosa en sangre cada 15 minutos durante 90 minutos<sup>42</sup>.

### **8.7 Evaluación de la función secretora de las glándulas salivales.**

Se midió el flujo salival a las 20 semanas de edad. Los ratones fueron anestesiados por inhalación de isoflurano al 1.5% y se estimuló la secreción de saliva por la administración de 40 µL de pilocarpina al 2% de manera intraoral durante 3 minutos. Posteriormente, se colocó al ratón en posición prona con una inclinación de 45°. Con la ayuda de unas pinzas de disección se abrió la boca y se colocó un algodón para la absorción de la saliva durante 10 minutos. Se cuidó que el algodón no obstruyera la vía aérea y se cambió en caso de ser necesario. Los algodones con

la saliva colectada se colocaron en tubos eppendorf y se centrifugaron a 8000xG durante 3 minutos<sup>43</sup>. Se midió el volumen, la densidad y el pH de la saliva.

### **8.8 *Análisis histológico***

Al momento del sacrificio se obtuvieron ambas glándulas parótidas y sublinguales y se fijaron con 4% de PFA. Posteriormente, fueron deshidratadas en alcoholes crecientes, aclaradas en xilol y embebidas en parafina. Se realizaron cortes longitudinales seriados de 5  $\mu\text{m}$  de espesor con un micrótomo. Los cortes obtenidos se tiñeron de manera rutinaria con HyE o una doble tinción con verde rápido/rojo Sirio para visualizar las fibras de colágena<sup>44</sup>. Se tomaron micrografías en un microscopio óptico y se cuantificó el número y el grosor de los acinos salivales, se analizó la presencia de infiltrado inflamatorio, y se identificó el tipo de acino salival (seroso o mucoso).

### **8.9 *Análisis estadístico***

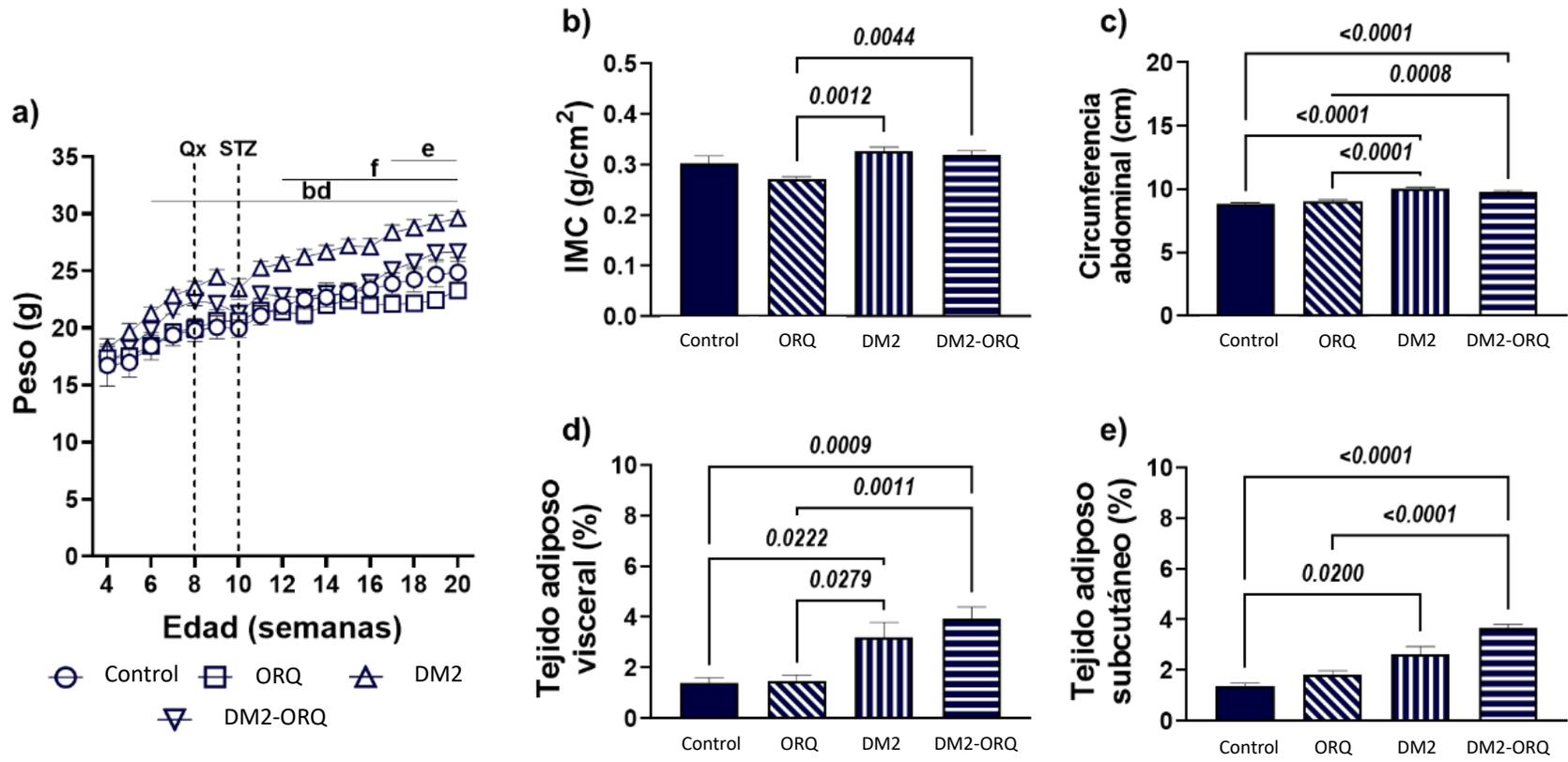
Todos los grupos experimentales tuvieron una “n” de 8 ratones por grupo. Se analizó la distribución de los datos con la prueba de Dágostino-Pearson y Anderson-Darling. Las diferencias significativas entre los grupos experimentales se determinaron mediante análisis de varianza (ANOVA), seguido de una prueba post-hoc de Tukey utilizando el software GraphPad Prism 9. Las diferencias estadísticas se consideraron significativas si  $p \leq 0,05$ .

## 9. RESULTADOS

### 9.1 *Los andrógenos en la DM2 aumentan el peso, pero no afecta la acumulación de tejido adiposo.*

Para determinar el papel de los andrógenos sobre la composición corporal, analizamos los parámetros somatométricos. Los resultados mostraron que, en los ratones sanos, la deficiencia de andrógenos no modifica el peso, el IMC, la circunferencia abdominal o el porcentaje de tejido adiposo visceral y subcutáneo en comparación con los ratones del grupo control ( Figura 2).

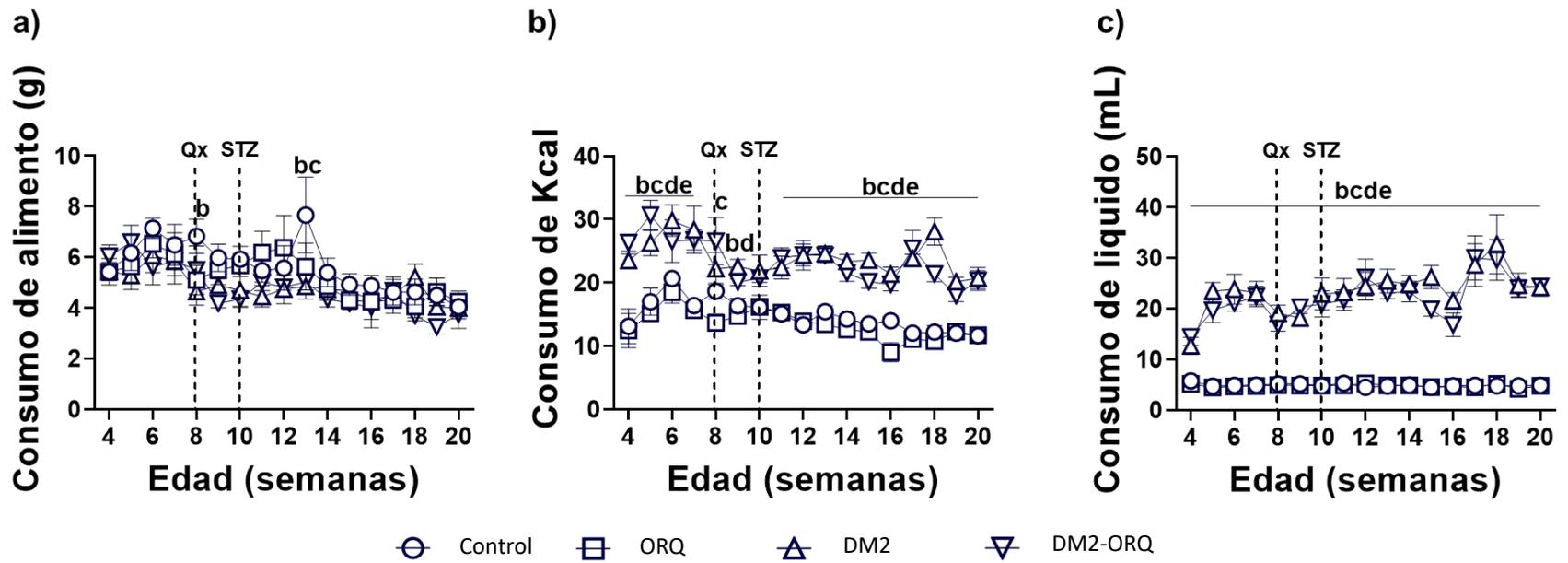
Los ratones del grupo DM2, tuvieron un incremento en el peso desde la semana 6 de edad, en el IMC, la circunferencia abdominal y en el contenido de tejido adiposo visceral y subcutáneo comparado con los ratones del grupo control (Figura 2). La deficiencia de andrógenos en los ratones con diabetes (DM2-ORQ), se comportó similar al grupo DM2 al presentar un incremento en el IMC, la circunferencia abdominal y el contenido de tejido adiposo visceral y subcutáneo comparado con los ratones sin diabetes; sin embargo, tuvo una disminución del peso corporal comparado con el grupo DM2 a partir de la semana 12 de edad (Figura 2).



**Figura 2. Los andrógenos en los ratones con DM2 aumentan el peso corporal, pero no afecta el contenido de tejido adiposo.** Resultados de la determinación de los parámetros somatométricos en ratones sanos y con DM2 con o sin orquiectomía. a) peso corporal por semana; b) índice de masa corporal (IMC), c) circunferencia abdominal, d) porcentaje de tejido adiposo visceral y e) porcentaje de tejido adiposo subcutáneo al momento del sacrificio. Los gráficos representan la media  $\pm$  EEM. **a**  $p \leq 0.05$  control vs. ORQ, **b**  $p \leq 0.05$  control vs. DM2, **c**  $p \leq 0.05$  control vs. DM2-ORQ, **d**  $p \leq 0.05$  ORQ vs. DM2, **e**  $p \leq 0.05$  ORQ vs. DM2-ORQ, **f**  $p \leq 0.05$  DM2 vs. DM2-ORQ. Las llaves indican el valor de  $p$ .  $n=8$ . **Qx**: cirugía, **STZ**: estreptozotocina.

## **9.2 *Los ratones con DM2 con o sin deficiencia de andrógenos consumen un mayor contenido de calorías y desarrollan polidipsia.***

Para determinar el papel de los andrógenos sobre el consumo energético, analizamos los parámetros de consumo de alimento, líquido y calorías. Los resultados mostraron que la deficiencia de andrógenos no modifica el consumo de alimento en gramos o Kcal ni de líquido. Sin embargo, los ratones con DM2 con o sin deficiencia de andrógenos tuvo un mayor consumo de alimento en gramos y Kcal y un mayor consumo de líquido comparado con los ratones sin DM2 (Figura 3).

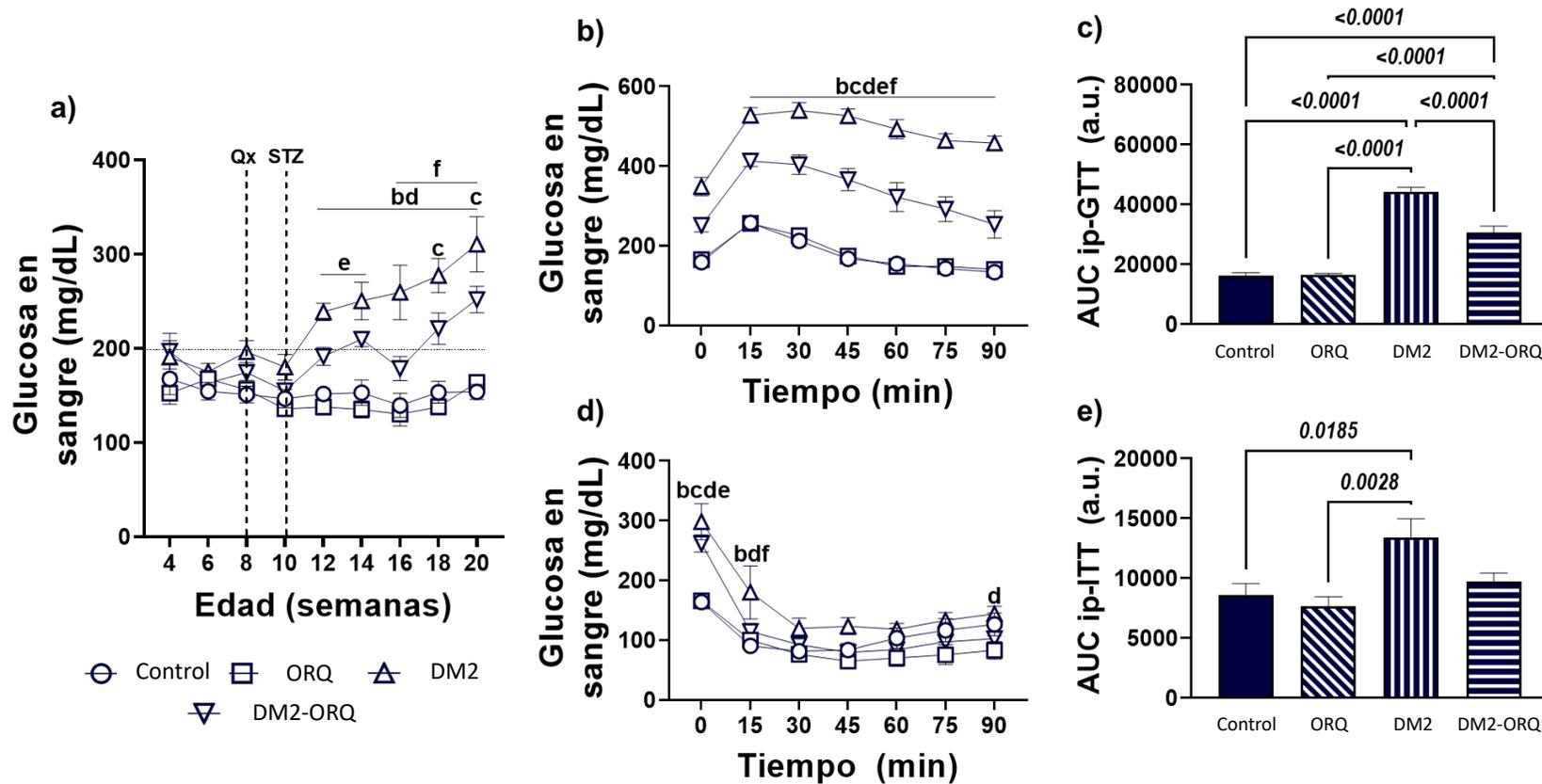


**Figura 3. Los ratones con DM2 con o sin deficiencia de andrógenos consumen un mayor contenido de calorías y desarrollaron polidipsia.** Resultados del consumo de alimento y líquido en ratones sanos y con DM2 con o sin orquiectomía durante todo el experimento. a) consumo de alimento en gramos; b) consumo de kilocalorías (Kcal), c) consumo de líquido. Los gráficos representan la media  $\pm$  EEM. **a**  $p \leq 0.05$  control vs. ORQ, **b**  $p \leq 0.05$  control vs. DM2, **c**  $p \leq 0.05$  control vs. DM2-ORQ, **d**  $p \leq 0.05$  ORQ vs. DM2, **e**  $p \leq 0.05$  ORQ vs. DM2-ORQ, **f**  $p \leq 0.05$  DM2 vs. DM2-ORQ. n=8. **Qx**: cirugía, **STZ**: estreptozotocina.

### **9.3 *Los andrógenos en ratones con DM2 promueven el desarrollo de hiperglucemia y resistencia a la insulina.***

Para determinar el papel de los andrógenos sobre el perfil glucémico, analizamos las concentraciones de glucosa en sangre, la resistencia a la insulina y tolerancia a la glucosa. Los resultados mostraron que la deficiencia de andrógenos en los ratones sin diabetes no modificó la concentración de glucosa al comportarse similar a los ratones del grupo control (Figura 4 a); así mismo, observamos que la tolerancia a la glucosa y la tolerancia a la insulina fue similar a los ratones del grupo control (Figura 4 b-e).

En comparación con los ratones del grupo control, los ratones del grupo DM2 tuvieron un incremento significativo en las concentraciones de glucosa desde la semana 12 (Figura 4 a), una mayor intolerancia a la glucosa (Figura 4 b y c) y una mayor intolerancia a la insulina (Figura 4 d y e). Por el contrario, la deficiencia de andrógenos en los ratones con diabetes (DM2-ORQ), mostró una disminución significativa en las concentraciones de glucosa en sangre y en la intolerancia a la glucosa y la insulina en comparación al grupo DM2 (Figura 4).



**Figura 4. Los andrógenos en ratones con DM2 aumentan los niveles de glucosa en sangre, la resistencia a la insulina y disminuyen la producción de insulina.** Resultados de los parámetros glucémicos durante el experimento. a) concentraciones de glucosa en sangre durante todo el experimento; b) curva de tolerancia a la glucosa, c) área bajo la curva (AUC) de la curva de tolerancia a la glucosa (ip-GTT), d) curva de tolerancia a la insulina, e) área bajo la curva (AUC) de la curva de tolerancia a la insulina (ip-ITT). Los gráficos representan la media  $\pm$  EEM. **a**  $p \leq 0.05$  control vs. ORQ, **b**  $p \leq 0.05$  control vs. DM2, **c**  $p \leq 0.05$  control vs. DM2-ORQ, **d**  $p \leq 0.05$  ORQ vs. DM2, **e**  $p \leq 0.05$  ORQ vs. DM2-ORQ, **f**  $p \leq 0.05$  DM2 vs. DM2-ORQ. Las llaves indican el valor de  $p$ .  $n = 8$ . **Qx**: cirugía, **STZ**: estreptozotocina.

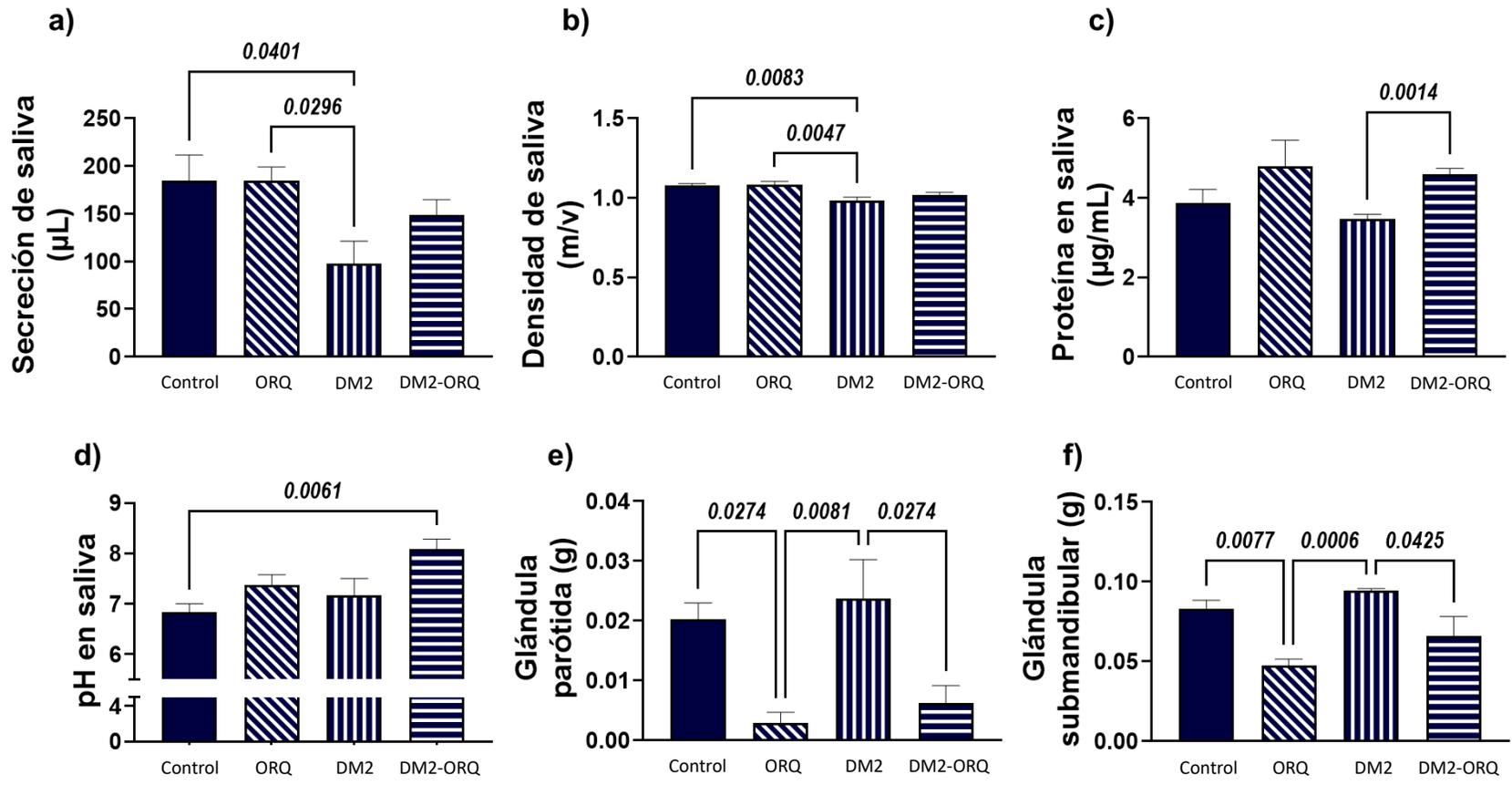
#### **9.4 *Los andrógenos disminuyen la función de las glándulas salivales en ratones con DM2.***

Para determinar el papel de los andrógenos sobre la función de las glándulas salivales, analizamos la secreción, la densidad, el contenido proteico y el pH de la saliva, y el peso de las glándulas salivales parótidas y submandibulares.

Los resultados mostraron que, en los ratones sanos, la deficiencia de andrógenos no modifica la cantidad de saliva secretada, la densidad, el pH ni el contenido proteico de la saliva (Figura 5 a-d); sin embargo, provocó una disminución significativa en el peso de las glándulas salivales parótidas y submandibulares. (Figura 5 e y f).

Los ratones del grupo DM2 tuvieron una disminución significativa en la secreción y la densidad de la saliva y un menor contenido proteico en comparación con los ratones del grupo control (Figura 5 a-c), sin provocar cambios en el pH de la saliva o en el peso de las glándulas parótidas o submandibulares (Figura 5 d-f).

La deficiencia de andrógenos en los ratones con diabetes (DM2-ORQ), provocó un incremento significativo en la secreción, contenido proteico y pH de la saliva y una disminución significativa con en el peso de las glándulas salivales parótidas y submandibulares en comparación al grupo DM2 (Figura 5 a-f). no observamos cambios en la densidad de la saliva entre los grupos DM2 y DM2-ORQ (Figura 5 b)



**Figura 5. Los andrógenos en ratones con DM2 disminuyen la salivación, el contenido proteico, la densidad de la saliva y previenen la atrofia de las glándulas salivales.** Resultados del análisis de la función y calidad de la saliva en ratones sanos y con DM2 con o sin deficiencia de andrógenos. a) secreción de saliva estimulada con pilocarpina; b) densidad de la saliva, c) concentración de proteínas en la saliva d) pH en saliva, e) promedio del peso de ambas glándulas parótidas al momento del sacrificio, f) promedio del peso de ambas glándulas submandibulares al momento del sacrificio. Los gráficos representan la media ± EEM. Las llaves indican el valor de p. n=8.

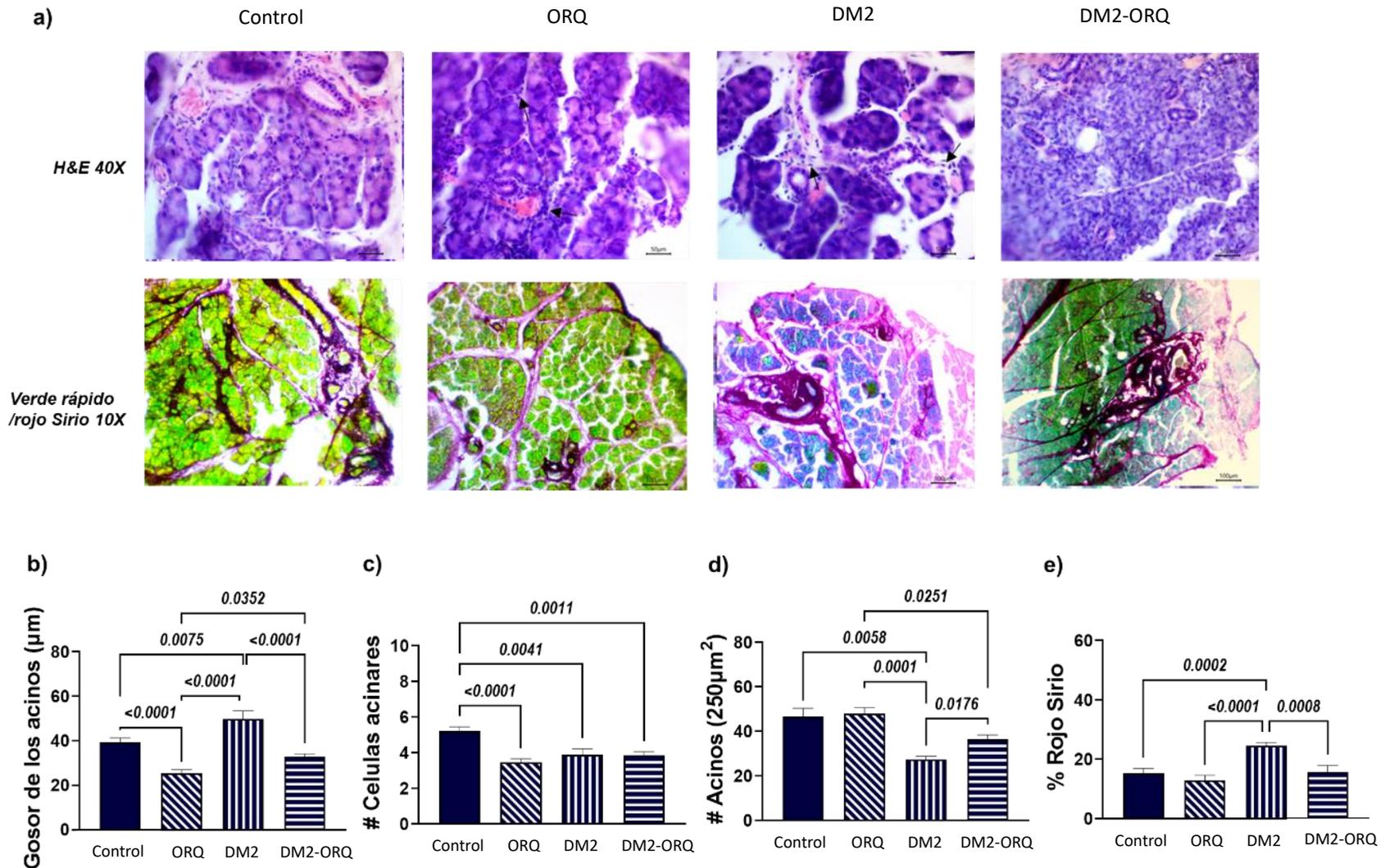
### ***9.5 Los andrógenos en los ratones con DM2 promueven el desarrollo de la hipertrofia acinar, el infiltrado inflamatorio y la fibrosis en las glándulas salivales parótidas y submandibulares***

Para analizar el papel de los andrógenos sobre la estructura histológica de las glándulas salivales, realizamos el análisis histológico en las glándulas parótidas y submandibulares.

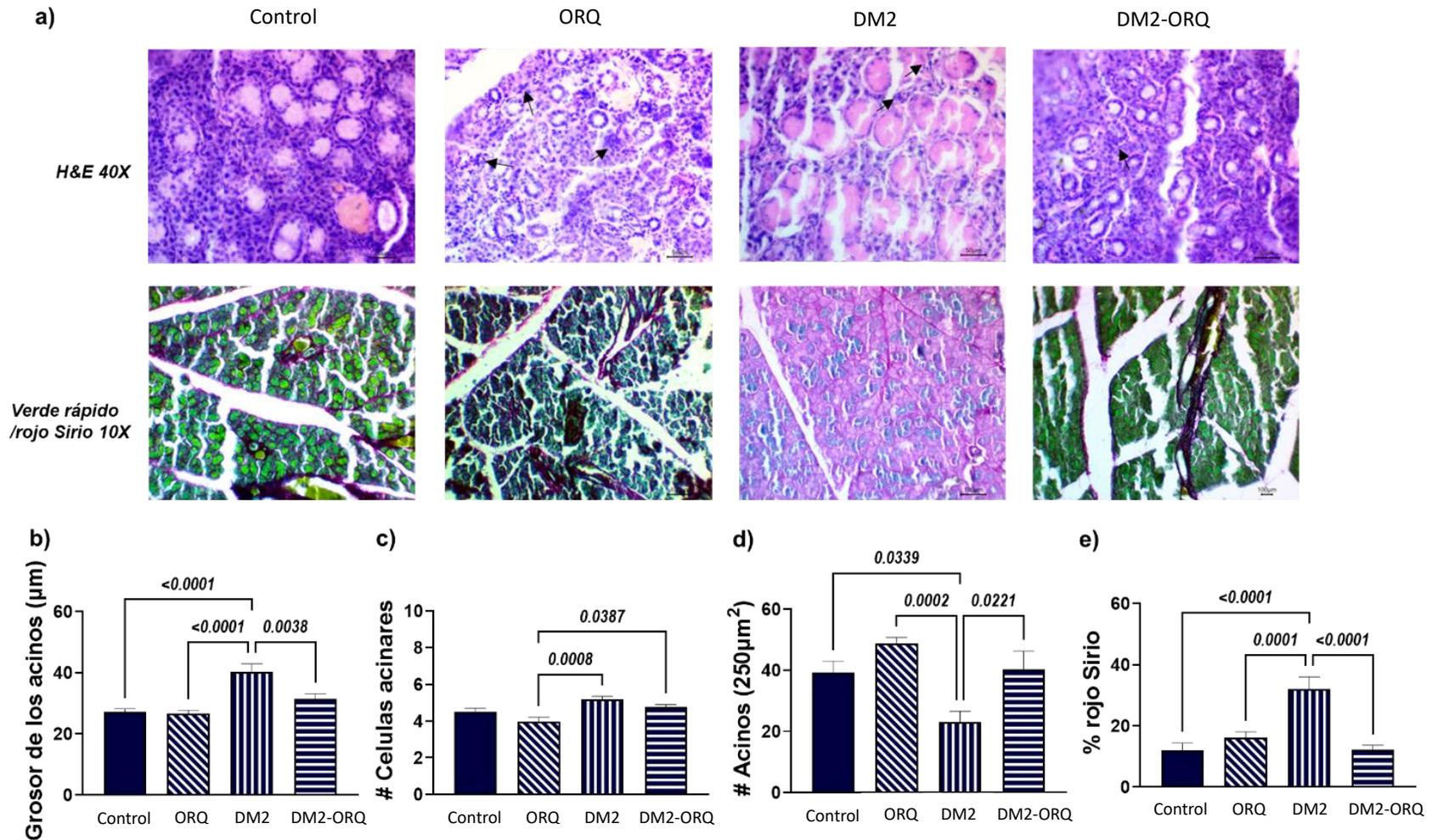
Los resultados mostraron que la deficiencia de andrógenos en los ratones sin diabetes provocó una disminución en el grosor de los acinos, el número de células acinares, indujo el infiltrado inflamatorio peritubular y provocó un incremento de acinos salivares mucosos en la glándula parótida comparado con los ratones intactos (Figura 6). La deficiencia de andrógenos en los ratones sin DM2 no afectó la estructura histológica de las glándulas submandibulares, pero sí favoreció el infiltrado inflamatorio (Figura 7)

Los ratones con DM2 mostraron en ambas glándulas salivales un incremento en el grosor de los acinos, la fibrosis glandular, el infiltrado inflamatorio y la cantidad de acinos mucosos, con una disminución en el número de células por acino, comparado con los ratones del grupo control (Figura 6 y 7).

La deficiencia de andrógenos en los ratones con DM2 disminuyó el grosor de los acinos, la fibrosis glandular, el infiltrado inflamatorio en ambas glándulas salivales (Fig. 6 y 7), pero no disminuyó los acinos mucosos en la glándula parótida en comparación con los ratones solo con DM2 (Figura 6)



**Figura 6. Los andrógenos en los ratones con DM2 promueven el desarrollo de la hipertrofia acinar, el infiltrado inflamatorio y la fibrosis en las glándulas salivales parótidas.** a) Micrografías representativas de las glándulas salivales parótidas teñidas con H&E o con la doble tinción verde rápido/rojo Sirio. b-e) Resultados cuantitativos del análisis estructural y contenido de fibras colágenas en las glándulas parótidas. Los gráficos representan la media ± EEM. Las llaves indican el valor de p. n=8. Las flechas en color negro indican la presencia de infiltrado inflamatorio.



**Figura 7. Los andrógenos en los ratones con DM2 promueven el desarrollo de la hipertrofia acinar, el infiltrado inflamatorio y la fibrosis en las glándulas salivales submandibulares.** a) Micrografías representativas de las glándulas salivales submandibulares teñidas con H&E o con la doble tinción verde rápido/rojo Sirio. b-e) Resultados cuantitativos del análisis estructural y contenido de fibras colágenas en las glándulas submandibulares. Los gráficos representan la media  $\pm$  EEM. Las llaves indican el valor de p. n=8. Las flechas en color negro indican la presencia de infiltrado inflamatorio.

## 10. DISCUSIÓN

En este estudio demostramos por primera vez que la supresión de andrógenos por orquiectomía en ratones con DM2 mejora la función y protege contra el daño estructural de las glándulas salivales provocado por la DM2; además, mejora la salud metabólica al disminuir las concentraciones de glucosa en sangre, la resistencia a la insulina y mejora la secreción de insulina frente a un estímulo.

Lo primero que determinamos fueron las características morfológicas y la composición corporal de los ratones, tales como el peso, el IMC, la circunferencia abdominal y el contenido de tejido adiposo visceral. Nuestros resultados mostraron que los ratones no diabéticos con deficiencia de andrógenos tuvieron una composición corporal similar a los ratones control; mientras que, los ratones con DM2 con o sin supresión de andrógenos, desarrollaron obesidad central, pero la supresión de andrógenos mostró un mayor contenido de tejido adiposo visceral.

Estos resultados coinciden con reportes previos, en donde se ha demostrado que la supresión de andrógenos favorece la acumulación de tejido adiposo en ratones con una dieta alta en grasas, pero no en ratones con dieta estándar, debido a que la supresión de andrógenos favorece el almacenamiento de energía en forma de triglicéridos y a una disminución de la actividad física<sup>45,46</sup>. A pesar del incremento de tejido adiposo visceral y subcutáneo, los ratones con deficiencia de andrógenos con o sin diabetes, mostraron una disminución del peso corporal, lo cual puede deberse a una disminución en la masa magra, lo que puede verse reflejado no solo en musculo esquelético, sino también en la masa visceral, ya que observamos una

disminución en el peso de las glándulas parótidas y sublinguales en ambos grupos con deficiencia de andrógenos.

Además, los cambios en la composición corporal, no se deben a alteraciones en la alimentación, debido a que todos los grupos comieron cantidades similares en gramos y calorías entre los grupos con dieta estándar o con dieta hipercalórica. Por lo tanto, la supresión de andrógenos modifica la composición corporal de manera independiente de la DM2, probablemente a través de provocar la disminución de la masa magra. Por lo que sería interesante investigar en el futuro el efecto de la deficiencia de andrógenos sobre el peso del músculo esquelético y de distintas vísceras con el fin de tener un panorama más amplio del impacto de la supresión de andrógenos sobre la composición corporal y los diferentes sistemas corporales en condiciones de salud y de DM2.

Posteriormente, analizamos el papel de la supresión de andrógenos sobre el metabolismo glucolítico, debido a que se ha reportado que esta deficiencia de andrógenos favorece el desarrollo de obesidad, resistencia a la insulina y DM2<sup>47</sup>. Observamos que la orquiectomía en ratones sin diabetes no afectó las concentraciones de glucosa en sangre, la resistencia a la insulina o la secreción de insulina frente a un estímulo exógeno de glucosa. Estos resultados refuerzan la noción sobre el papel de la supresión de andrógenos como un mecanismo que predispone al desarrollo de alteraciones metabólicas bajo condiciones de sedentarismo, dietas hipercalóricas y malos hábitos como se ha observado en humanos, monos *Rhesus*, y roedores y no como un mecanismo condicional para el desarrollo de enfermedades metabólicas<sup>36,45,48</sup>.

Los ratones del grupo DM2, desarrollaron hiperglucemia, resistencia a la insulina y un déficit en la secreción de insulina ante un estímulo de glucosa, lo cual coincide con las principales características clínicas de los individuos diagnosticados con DM2<sup>49</sup>. Sin embargo, la deficiencia de andrógenos en los ratones diabéticos disminuyó la severidad de la DM2 a disminuir las concentraciones de glucosa en sangre, la resistencia a la insulina y mejorar la secreción de insulina frente al estímulo con glucosa, lo que sugiere que la supresión de andrógenos gonadales podría tener un efecto protector sobre el metabolismo glucolítico.

Este resultado fue sorprendente, debido a que se ha reportado ampliamente que la supresión de andrógenos favorece el desarrollo de DM2<sup>48</sup>. Sin embargo, también se ha reportado que la supresión de andrógenos revierte la resistencia a la insulina provocada por glucocorticoides que se sabe se incrementan en la DM2 y favorecen el fenotipo diabético<sup>50,51</sup>. Además, aunque la castración disminuye los niveles de testosterona circulantes, se sabe que mantiene las concentraciones séricas y suprarrenales de dehidroepiandrosterona (DHEA), pregnenolona, progesterona y androstenediona (AED), y la concentración suprarrenal de testosterona, lo cual se ha relacionado con una mejor salud metabólica y se han visto disminuidas en la DM2<sup>52-54</sup>. Adicionalmente, se ha observado que la administración de DHEA en ratas Zucker castradas tiene potentes efectos antiobesogénicos; y en estudios preclínicos y clínicos se ha observado que reduce la resistencia a la insulina y la hiperglucemia a través de su conversión en estrógenos y andrógenos que mejoran la salud metabólica<sup>55-57</sup>.

Es claro que las alteraciones endocrinas en la diabetes y la supresión de andrógenos sugieren una compleja interacción que puede conducir a una mejora o un empeoramiento de la salud metabólica dependiendo del perfil hormonal y los cambios en los niveles de andrógenos libres, de DHEA y su conversión a estrógenos y andrógenos que pueden tener efectos antiobesogénicos, antiinflamatorios y antidiabéticos. Por lo tanto, es necesario investigar a profundidad el perfil hormonal de los ratones con orquiectomía y DM2 para comprender mejor los mecanismos hormonales involucrados en la mejora de la salud metabólica en los ratones.

Además de la mejoría en la salud metabólica, la supresión de andrógenos mejoró la función de las glándulas salivales en los ratones con DM2. Lo primero que observamos fue que la supresión hormonal en ratones no diabéticos no modificó el flujo salival, el contenido proteico, la densidad o el pH de la saliva, pero provocó cambios estructurales evidenciados por una disminución en el tamaño de las glándulas salivales parótidas y submandibulares y la disminución en el tamaño y número de células de los acinos parotídeos, lo cual coincide con reportes previos que han demostrado que la supresión de andrógenos por orquiectomía provoca atrofia de las glándulas y acinos salivales a través de inducir un incremento en la expresión de genes relacionados con la apoptosis y una disminución en la expresión de genes relacionados con la diferenciación de células epiteliales, la angiogénesis y la morfogénesis de la estructura anatómica lo cual explica la degeneración acinar y la disminución de células acinares que observamos en nuestros resultados.

Observamos en las glándulas parótidas de los ratones sanos con orquiectomía la presencia de infiltrado inflamatorio con agrupamientos focales periductuales, lo cual

es común observarlo en individuos con síndrome de Sjögren o envejecidos que tienen una disminución de andrógenos<sup>33,58</sup>. Este infiltrado inflamatorio puede favorecer un microambiente proinflamatorio y estrés oxidativo y como consecuencia la apoptosis y degeneración de los acinos salivares; sin embargo, hasta donde sabemos en la deficiencia de andrógenos por orquiectomía la participación del sistema inmunológico en las alteraciones de las glándulas salivales ha sido poco explorado. Por lo que sería interesante analizar el estado inflamatorio en las glándulas salivales de estos ratones para tener una mejor comprensión de los mecanismos celulares y moleculares que conducen a la atrofia de las glándulas salivales provocada por la supresión de andrógenos.

La DM2 provocó una disminución en la secreción de saliva, con una menor densidad y contenido proteico, lo cual coincide con lo observado en reportes previos que han demostrado que la DM2 provoca hiposalivación y xerostomía y una mala calidad de la saliva e incluso se reconoce a la xerostomía como una de las principales complicaciones de la DM2 debido a su alta incidencia<sup>59</sup>. Estas alteraciones en la función secretora de las glándulas salivales puede deberse a las alteraciones histológicas que observamos en ambas glándulas salivales como la hipertrofia acinar, la disminución en el número de células acinares, el evidente desarrollo de fibrosis, el incremento de acinosos mucosos y la presencia de infiltrado inflamatorio,; que se sabe, repercute en la función secretora de las glándulas salivales y la calidad de la saliva, y puede ocurrir como consecuencia de la hiperglucemia, la resistencia a la insulina, la inflamación sistémica y la neuropatía como lo observamos en un estudio previo desarrollado en el laboratorio<sup>60</sup>.

La deficiencia de andrógenos en los ratones diabéticos provocó un incremento en la función de las glándulas salivales y la calidad de la saliva, y a pesar de que provoca atrofia glandular, observamos una normalización en el grosor de los acinos, una disminución de la fibrosis y un menor infiltrado inflamatorio en ambas glándulas salivales. Lo que sugiere que las alteraciones histológicas juegan un papel importante en la secreción y calidad de la saliva.

Aunque estos resultados fueron sorprendentes debido a que tanto la deficiencia de andrógenos como la DM2 se han asociado a hiposalivación y xerostomía, la mejora en la función y estructura de las glándulas salivales se puede deber por un lado a la disminución de la hiperglucemia y la resistencia a la insulina que observamos en estos ratones, que son parámetros que se han correlacionado fuertemente con la hipertrofia acinar y la fibrosis glandular<sup>33,59,60</sup>, y por otro lado, también es posible que el cambio en el perfil de las hormonas gonadotrópicas y suprarrenales participe en mejorar la función y estructura histológica de las glándulas salivales. Se ha demostrado que el incremento de estrógenos y andrógenos libres y activos a partir de DHEA en las glándulas salivales mejora la salivación y cabe destacar que se ha reportado que la orquiectomía incrementa la conversión de DHEA a estrógenos y andrógenos en diferentes tejidos periféricos y que la DHEA se encuentra reducida en la DM2.<sup>56,57,61</sup>

De hecho, se ha reportado que DHEA y la testosterona favorecen el remodelado tisular de las glándulas salivales, mejorando su función lo que podría explicar la disminución de la fibrosis y de la hipertrofia acinar que observamos en los ratones con DM2 y ORQ<sup>61</sup>. Adicionalmente, los estrógenos y andrógenos son

bien conocidos por su capacidad antiinflamatoria y se sabe que disminuyen el infiltrado de células inflamatorias en diferentes tejidos<sup>46</sup>, lo cual podría explicar la disminución del infiltrado inflamatorio que observamos en los ratones diabéticos con deficiencia de andrógenos y a su vez en un menor microambiente proinflamatorio que afecta directamente la función secretora de las glándulas salivales <sup>62</sup>.

Aunque nuestros resultados son consistentes en que la orquiectomía en la DM2 mejora la salud metabólica y la función de las glándulas salivales, es necesario investigar con profundidad el perfil de las hormonas sexuales a nivel sistémico y local, y si en estos ratones existe un incremento de DHEA o su conversión a andrógenos y estrógenos libres, además de la participación de estas hormonas sobre la inflamación y el remodelado glandular que pueden conducir a una mejora en de su función.

Es claro que la combinación de la DM2 y la deficiencia de andrógenos provoca cambios diferenciales a nivel sistémico y sobre las glándulas salivales en comparación a cada condición por separado, lo que sugiere que en respuesta al estrés metabólico y hormonal es posible que se incrementen mecanismos compensatorios hormonales a nivel de glándulas suprarrenales para contrarrestar los efectos metabólicos y la supresión de hormonas sexuales. Estos mecanismos pueden incluir el incremento de DHEA o de testosterona libre lo que se reflejaría en una mejor salud metabólica y función de las glándulas salivales.

Estudiar más a fondo estos posibles mecanismos podría darnos un panorama más amplio respecto a cómo se desarrolla este padecimiento tanto en la DM2 como en otros contextos, ayudando así a identificar nuevos y mejores blancos

terapéuticos lo que nos permitirá, con el apoyo de otras especialidades médicas, desarrollar una mejor comunicación en la interconsulta, desarrollar mejores estrategias de tratamiento y así lograr ofrecer tratamiento causal más que solo tratamiento sintomático.

## **11. CONCLUSIONES**

Los andrógenos favorecen el desarrollo de hiposalivación, xerostomía y de alteraciones histológicas en las glándulas salivales en la DM2 a través de disminuir la cantidad y la calidad de la saliva secretada e incrementar la hipertrofia acinar y favorecer el desarrollo de fibrosis en las glándulas salivales parótidas y submandibulares.

Los andrógenos tienen un papel activo en la fisiopatología de la diabetes al aumentar la severidad de la enfermedad, aumentar la hiperglucemia y favorecer el desarrollo de resistencia a la insulina.

## **12. PERSPECTIVAS**

- Investigar el efecto de la supresión de andrógenos en la masa magra
- Analizar el perfil hormonal de los ratones con DM2 y con supresión de andrógenos
- Analizar el estado inflamatorio en las glándulas salivales en los diferentes grupos experimentales
- Profundizar en la composición proteica de la saliva.

## 13. REFERENCIAS

1. Lebovitz H. Insulin resistance: definition and consequences. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*. 2001;109(Suppl 2):S135-S148. doi:10.1055/s-2001-18576
2. Tuomi T, Santoro N, Caprio S, Cai M, Weng J, Groop L. The many faces of diabetes: A disease with increasing heterogeneity. *The Lancet*. 2014;383(9922):1084-1094. doi:10.1016/S0140-6736(13)62219-9
3. Roden M. Diabetes mellitus – Definition, Klassifikation und Diagnose. *Wien Klin Wochenschr*. 2016;128:37-40. doi:10.1007/s00508-015-0931-3
4. *IDF Diabetes Atlas 10th Edition*. www.diabetesatlas.org
5. Zheng Y, Ley SH, Hu FB. Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nat Rev Endocrinol*. 2018;14(2):88-98. doi:10.1038/nrendo.2017.151
6. Javeed N, Matveyenko A V. Circadian etiology of type 2 diabetes mellitus. *Physiology*. 2018;33(2):138-150. doi:10.1152/physiol.00003.2018
7. Fernando Flores, Ángela Cabeza, Elena Calarco. *Endocrinología*. 8th ed. Méndez Editores; 2021.
8. Le TN, Nestler JE, Strauss JF, Wickham EP. Sex hormone-binding globulin and type 2 diabetes mellitus. *Trends in Endocrinology and Metabolism*. 2012;23(1):32-40. doi:10.1016/j.tem.2011.09.005
9. Palmer BF, Clegg DJ. The sexual dimorphism of obesity. *Mol Cell Endocrinol*. 2015;402:113-119. doi:10.1016/j.mce.2014.11.029
10. Kautzky-Willer A, Harreiter J, Pacini G. Sex and gender differences in risk, pathophysiology and complications of type 2 diabetes mellitus. *Endocr Rev*. 2016;37(3):278-316. doi:10.1210/er.2015-1137
11. Ding EL, Song Y, Malik VS, Liu S. *Sex Differences of Endogenous Sex Hormones and Risk of Type 2 Diabetes A Systematic Review and Meta-Analysis*. <https://jamanetwork.com/>
12. Bourebaba N, Ngo TH, Śmieszek A, Bourebaba L, Marycz K. Sex hormone binding globulin as a potential drug candidate for liver-related metabolic disorders treatment. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2022;153. doi:10.1016/j.biopha.2022.113261
13. Simó R, Barbosa-Desongles A, Lecube A, Hernandez C, Selva DM. Potential role of tumor necrosis factor- $\alpha$  in downregulating sex hormone-binding globulin. *Diabetes*. 2012;61(2):372-382. doi:10.2337/db11-0727

14. Karakas M, Schäfer S, Appelbaum S, et al. Testosterone levels and type 2 diabetes—No correlation with age, differential predictive value in men and women. *Biomolecules*. 2018;8(3). doi:10.3390/biom8030076
15. Wang H, Sun X, Zhao L, Chen X, Zhao J. Androgen deprivation therapy is associated with diabetes: Evidence from meta-analysis. *J Diabetes Investig*. 2016;7(4):629-636. doi:10.1111/jdi.12472
16. Papatheodorou K, Papanas N, Banach M, Papazoglou D, Edmonds M. Complications of Diabetes 2016. *J Diabetes Res*. 2016;2016. doi:10.1155/2016/6989453
17. Rohani B. Oral manifestations in patients with diabetes mellitus. *World J Diabetes*. 2019;10(9):485-489. doi:10.4239/wjd.v10.i9.485
18. Dreyer NS, Lynggaard CD, Jakobsen KK, et al. *Statusartikel | Klinisk Praksis Mundtørhed Mundtørhed*.
19. Porcheri C, Mitsiadis TA. Physiology, pathology and regeneration of salivary glands. *Cells*. 2019;8(9). doi:10.3390/cells8090976
20. Pedersen AML, Sørensen CE, Proctor GB, Carpenter GH, Ekström J. Salivary secretion in health and disease. *J Oral Rehabil*. 2018;45(9):730-746. doi:10.1111/joor.12664
21. Kondo Y, Nakamoto T, Jaramillo Y, Choi S, Catalan MA, Melvin JE. Functional differences in the acinar cells of the murine major salivary glands. *J Dent Res*. 2015;94(5):715-721. doi:10.1177/0022034515570943
22. Carramolino-Cuéllar E, Lauritano D, Silvestre FJ, Carinci F, Lucchese A, Silvestre-Rangil J. Salivary flow and xerostomia in patients with type 2 diabetes. *Journal of Oral Pathology and Medicine*. 2018;47(5):526-530. doi:10.1111/jop.12712
23. Patricio Ulloa J, Fredes F. *Manejo Actual de La Xerostomía Current Management of Xerostomia.*; 2016.
24. López-Pintor RM, Casañas E, González-Serrano J, et al. Xerostomia, Hyposalivation, and Salivary Flow in Diabetes Patients. *J Diabetes Res*. 2016;2016. doi:10.1155/2016/4372852
25. Tanasiewicz M, Hildebrandt T, Obersztyn I. Xerostomia of various etiologies: A review of the literature. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*. 2016;25(1):199-206. doi:10.17219/acem/29375
26. Sullivan DA, Sullivan BD, Evans JE, et al. *Androgen Deficiency, Meibomian Gland Dysfunction, and Evaporative Dry Eye*. Vol 966.; 2002.

27. Mauri-Obradors E, Estrugo-Devesa A, Jané-Salas E, Viñas M, López-López J. Oral manifestations of diabetes mellitus. A systematic review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2017;22(5):e586-e594. doi:10.4317/medoral.21655
28. Rocío Aketzali Ruiz González, Héctor Giovanni Cendejas Trejo. *Evaluación De Un Modelo Murino De Diabetes Mellitus Tipo 2 En El Desarrollo De Complicaciones Sistémicas Y De La Cavidad Oral*.
29. Chávez EM, Borrell LN, Taylor GW, Ship JA. A longitudinal analysis of salivary flow in control subjects and older adults with type 2 diabetes. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2001;91(2):166-173. doi:10.1067/moe.2001.112054
30. Konttinen YT, Fuellen G, Bing Y, et al. Sex steroids in Sjögren's syndrome. *J Autoimmun*. 2012;39(1-2):49-56. doi:10.1016/j.jaut.2012.01.004
31. Porola P, Virkki L, Przybyla BD, et al. Androgen deficiency and defective intracrine processing of dehydroepiandrosterone in salivary glands in Sjögren's syndrome. *Journal of Rheumatology*. 2008;35(11):2229-2235. doi:10.3899/jrheum.080220
32. Grover C, More V, Singh N, Grover S. Crosstalk between hormones and oral health in the mid-life of women: A comprehensive review. *J Int Soc Prev Community Dent*. 2014;4(4):S5-S10. doi:10.4103/2231-0762.144559
33. Han X, Xia X, Zhuo Y, et al. RNA-seq coupling two different methods of castration reveals new insights into androgen deficiency-caused degeneration of submaxillary gland in male Sprague Dawley rats. *BMC Genomics*. 2022;23(1). doi:10.1186/s12864-022-08521-9
34. Tramunt B, Smati S, Grandgeorge N, et al. Sex differences in metabolic regulation and diabetes susceptibility. *Diabetologia*. 2020;63(3):453-461. doi:10.1007/s00125-019-05040-3
35. De Paoli M, Werstuck GH. Role of Estrogen in Type 1 and Type 2 Diabetes Mellitus: A Review of Clinical and Preclinical Data. *Can J Diabetes*. 2020;44(5):448-452. doi:10.1016/j.jcjd.2020.01.003
36. Gianatti EJ, Grossmann M. Testosterone deficiency in men with Type 2 diabetes: pathophysiology and treatment. *Diabetic Medicine*. 2020;37(2):174-186. doi:10.1111/dme.13977
37. L. Schaaf, K. Ehrmann. *Primärer, Sekundärer Oder Tertiärer Hypogonadismus?*; 2020.
38. Cifuentes-Mendiola SE, Solis-Suarez DL, Martínez-Dávalos A, Godínez-Victoria M, García-Hernández AL. CD4+ T-cell activation of bone marrow

- causes bone fragility and insulin resistance in type 2 diabetes. *Bone*. 2022;155:116292. doi:10.1016/j.bone.2021.116292
39. Ström JO, Theodorsson A, Ingberg E, Isaksson IM, Theodorsson E. Ovariectomy and 17 $\beta$ -estradiol replacement in rats and mice: A visual demonstration. *Journal of Visualized Experiments*. 2012;(64). doi:10.3791/4013
  40. Valkenburg KC, Amend SR, Pienta KJ. Murine prostate micro-dissection and surgical castration. *Journal of Visualized Experiments*. 2016;2016(111). doi:10.3791/53984
  41. Karen Olvera Pérez. *Cuidados Postoperatorios En Rata y Ratón*. Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía
  42. Ayala JE, Samuel VT, Morton GJ, et al. Standard operating procedures for describing and performing metabolic tests of glucose homeostasis in mice. *Dis Model Mech*. 2010;3(9-10):525-534. doi:10.1242/dmm.006239
  43. López-Solís R, Pérez M, DURÁN V, et al. Characterization of mouse salivary polypeptide secretion after oral administration of pilocarpine. *Revista chilena de historia natural*. 2001;74(1). doi:10.4067/S0716-078X2001000000023
  44. Ma R, Wang L, Zhao B, et al. Diabetes Perturbs Bone Microarchitecture and Bone Strength through Regulation of Sema3A/IGF-1/ $\beta$ -Catenin in Rats. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2017;41(1):55-66. doi:10.1159/000455936
  45. Dubois V, Laurent MR, Jardi F, et al. Androgen deficiency exacerbates high-fat diet-induced metabolic alterations in male mice. *Endocrinology*. 2016;157(2):648-665. doi:10.1210/en.2015-1713
  46. Varghese M, Griffin C, Abrishami S, et al. Sex hormones regulate meta-inflammation in diet-induced obesity in mice. *Journal of Biological Chemistry*. 2021;297(5):101229. doi:10.1016/j.jbc.2021.101229
  47. Traish AM, Abdallah B, Traish AM, Yu G, Traish AM. Androgen deficiency and mitochondrial dysfunction: Implications for fatigue., muscle dysfunction., insulin resistance., diabetes, and cardiovascular disease. *Horm Mol Biol Clin Investig*. 2011;8(1):431-444. doi:10.1515/HMBCI.2011.132
  48. Cameron JL, Jain R, Rais M, et al. Perpetuating effects of androgen deficiency on insulin resistance. *Int J Obes*. 2016;40(12):1856-1863. doi:10.1038/ijo.2016.148
  49. Galicia-García U, Benito-Vicente A, Jebari S, et al. Pathophysiology of type 2 diabetes mellitus. *Int J Mol Sci*. 2020;21(17):1-34. doi:10.3390/ijms21176275

50. Gasparini SJ, Swarbrick MM, Kim S, et al. Androgens sensitise mice to glucocorticoid-induced insulin resistance and fat accumulation. *Diabetologia*. 2019;62(8):1463-1477. doi:10.1007/s00125-019-4887-0
51. Reynolds RM, Walker BR, Syddall HE, et al. *Altered Control of Cortisol Secretion in Adult Men with Low Birth Weight and Cardiovascular Risk Factors\**. Vol 86.; 2001.
52. Mostaghel EA, Zhang A, Hernandez S, et al. Contribution of adrenal glands to intratumor androgens and growth of castration-resistant prostate cancer. *Clinical Cancer Research*. 2019;25(1):426-439. doi:10.1158/1078-0432.CCR-18-1431
53. Gluud C, Madsbad S, Krarup T, Bennett P. *Plasma Testosterone and Androstenedione in Insulin Dependent Patients at Time of Diagnosis and during the First Year of Insulin Treatment*.
54. Jahn MP, Jacob MHVM, Gomes LF, et al. The effect of long-term DHEA treatment on glucose metabolism, hydrogen peroxide and thioredoxin levels in the skeletal muscle of diabetic rats. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2010;120(1):38-44. doi:10.1016/j.jsbmb.2010.03.015
55. Taniguchi S, Yanase T, Haji M, Ishibashi K, Takayanagi R, Nawata H. The Antiobesity Effect of Dehydroepiandrosterone in Castrated or Noncastrated Obese Zucker Male Rats. *Obes Res*. 1995;3(5 S):639S-643S. doi:10.1002/j.1550-8528.1995.tb00480.x
56. Takeda K, Toda K, Saibara T, et al. *Progressive Development of Insulin Resistance Phenotype in Male Mice with Complete Aromatase (CYP19) Deficiency*. Vol 176.; 2003. <http://www.endocrinology.org>
57. Aoki K, Terauchi Y. Effect of Dehydroepiandrosterone (DHEA) on Diabetes Mellitus and Obesity. In: *Vitamins and Hormones*. Vol 108. Academic Press Inc.; 2018:355-365. doi:10.1016/bs.vh.2018.01.008
58. Baer AN. *Diagnosis and Classification of Sjögren's Syndrome*.; 2023. <https://www.uptodate.com/contents/diagnosis-and-classification-of-sjogrens-syndrome/printwww.uptodate.com>
59. Badooei F, Imani E, Hosseini-Teshnizi S, Banar M, Memarzade MR. Comparison of the effect of ginger and aloe vera mouthwashes on xerostomia in patients with type 2 diabetes: A clinical trial, triple-blind. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2021;26(4):e408-e413. doi:10.4317/medoral.23998
60. Cifuentes-Mendiola SE, Solís-Suarez DL, Martínez-Davalos A, García-Hernández AL. Macrovascular and microvascular type 2 diabetes complications are interrelated in a mouse model. *J Diabetes Complications*. 2023;37(5):108455. doi:10.1016/j.jdiacomp.2023.108455

61. Porola P, Straub R, Virkki L, Konttinen Y, Nordström D. Failure of oral DHEA treatment to increase local salivary androgen outputs of female patients with Sjögren's syndrome. *Scand J Rheumatol*. 2011;40(5):387-390.  
doi:10.3109/03009742.2011.580000
62. Wilson KF, Meier JD, Daniel Ward P. *Salivary Gland Disorders*. Vol 89.; 2014.  
[www.aafp.org/afp](http://www.aafp.org/afp).

## Anexo 1



Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Estudios Superiores Iztacala  
**COMISIÓN DE ÉTICA**



Los Reyes Iztacala a 22/11/2022

Oficio: **CE/FESI/112022/1566**

**DR. CIFUENTES MENDIOLA SAUL ERNESTO**

Presente:

En atención a su solicitud de aval, por la Comisión de Ética de esta facultad, para su proyecto denominado **Evaluación de la influencia de la deficiencia de hormonas sexuales en las hiposalivación provocada por la diabetes mellitus tipo 2.**, que va a someter a **PAPIIT 2023.**

Esta comisión acordó la siguiente opinión técnica:

**Avalado sin recomendaciones**

Con vigencia del **7 de enero del 2023** al **7 de enero del 2025.**

Sin otro particular por el momento, quedamos a sus órdenes para cualquier aclaración y aprovechamos la oportunidad para enviarle un atento saludo y nuestro respeto académico.

Atentamente

  
**M.C. Federico Sandoval Olvera**  
Presidente

