



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y  
DE ESTUDIOS AVANZADOS DEL INSTITUTO  
POLITÉCNICO NACIONAL  
Unidad Coapa**

Departamento de Farmacobiología

**Evaluación de la conducta sexual en dos modelos de  
hiperglucemia en la rata hembra.**

Tesis que presenta

**QFB. Abigail Karina Hernández Munive**

Para obtener el grado de  
**Maestra en Ciencias en**

**Neurofarmacología y Terapéutica Experimental**

Director de la tesis: Dr. José Alonso Fernández Guasti

Ciudad de México

Agosto del 2017

Esta tesis se desarrolló en el laboratorio 16 del Departamento de Farmacobiología, del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Unidad Coapa, bajo la dirección del Dr. José Alonso Fernández Guasti.

Durante la realización de este trabajo se contó con el apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, a través de la beca 587918.

# CONTENIDO

I.	INTRODUCCIÓN	
1.	Generalidades de la diabetes mellitus (DM)	
1.1	Definición.....	1
1.2	Clasificación.....	1
1.2.1	Diabetes mellitus tipo 1.....	1
1.2.2	Diabetes mellitus tipo 2.....	2
1.3	Epidemiología.....	3
1.4	Criterios diagnósticos.....	3
1.5	Tratamiento.....	4
1.5.1	Tratamiento no farmacológico.....	4
1.5.2	Tratamiento farmacológico.....	5
1.5.3	Hipoglucemiantes orales.....	5
1.5.4	Insulina exógena.....	5
2.	Respuesta sexual femenina.....	7
2.1	Disfunción sexual.....	8
2.2	Diabetes mellitus y disfunción sexual femenina.....	8
3.	Hiper glucemia inducida por STZ en roedores.....	10
4.	Conducta sexual en la rata hembra.....	12
4.1	Cópula no regulada por la hembra.....	14
4.2	Cópula regulada por la hembra.....	14
5.	Administración de STZ y conducta sexual en la rata hembra .....	16
II.	JUSTIFICACIÓN.....	18
III.	HIPÓTESIS.....	19
IV.	OBJETIVOS.....	20
V.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
5.1	Sujetos experimentales.....	21
5.2	Pruebas de conducta sexual.....	21
5.2.1	Cópula no regulada (CnR).....	21
5.2.2	Cópula regulada por la hembra (CR).....	22
5.3	Diseño experimental.....	23
5.3.1	Administración de STZ a ratas en etapa adulta.....	23
5.3.2	Administración de insulina periférica.....	24
5.3.3	Administración de STZ a ratas en etapa neonatal.....	25
5.3.4	Prueba de tolerancia a la glucosa (PTG).....	25

5.3.5 Pruebas de conducta sexual.....	26
5.3.6 Seguimiento del ciclo estral.....	26
5.3.7 Actividad ambulatoria espontánea.....	27
5.4 Análisis estadístico.....	27
VI. RESULTADOS.....	28
6.1 Hiperglucemia inducida en etapa adulta.....	28
6.1.1 Peso corporal y niveles de glucosa plasmática.....	28
6.1.2 Cópula no regulada por la hembra.....	28
6.1.3 Cópula regulada por la hembra.....	30
6.1.4 Comparación entre paradigmas.....	34
6.1.5 Administración de insulina glargina .....	36
6.1.6 Cópula no regulada por la hembra (ratas OVX) .....	36
6.1.7 Actividad ambulatoria espontánea.....	38
6.2 Hiperglucemia inducida en etapa neonatal.....	39
6.2.1 Peso corporal y niveles de glucosa plasmática.....	41
6.2.2 Cópula no regulada por la hembra.....	43
6.2.3 Cópula regulada por la hembra.....	43
6.2.4 Actividad ambulatoria espontánea.....	45
6.2.5 Comparación entre paradigmas.....	46
6.2.6 Comparación de la conducta sexual de hembras intactas vs. ovariectomizadas.....	49
6.3 Comparación entre modelos de hiperglucemia.....	51
6.3.1 Cópula no regulada.....	52
6.3.2 Cópula regulada por la hembra.....	54
VII. DISCUSIÓN.....	56
VIII. CONCLUSIONES.....	71
IX. PERSPECTIVAS.....	73
X. BIBLIOGRAFÍA.....	74
XI. ANEXOS.....	83

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>ADA</b>	Asociación Americana de Diabetes	<b>LRPE</b>	Latencia de retorno post eyaculación
<b>BE</b>	Benzoato de estradiol	<b>LRPI</b>	Latencia de retorno post intromisión
<b>CnR</b>	Cópula no regulada por la hembra	<b>LRPM</b>	Latencia de retorno post monta
<b>CR</b>	Cópula regulada por la hembra	<b>LQ</b>	Cociente de lordosis
<b>DM</b>	Diabetes mellitus	<b>mPOA</b>	Área preóptica media
<b>DM1</b>	Diabetes mellitus tipo 1	<b>Nacc</b>	Núcleo accumbens
<b>DM2</b>	Diabetes mellitus tipo 2	<b>NOM</b>	Norma Oficial Mexicana
<b>ER<math>\alpha</math></b>	Receptor a estrógenos $\alpha$	<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>EEM</b>	Error estándar de la media	<b>OVX</b>	Ovariectomía
<b>FSH</b>	Hormona folículo estimulante	<b>PTG</b>	Prueba de tolerancia a la glucosa
<b>FID</b>	Federación Internacional de Diabetes	<b>s.c.</b>	Subcutánea
<b>GnRH</b>	Hormona liberadora de gonadotropinas.	<b>STZ</b>	Estreptozotocina
<b>Hb1ac</b>	Hemoglobina glucosilada	<b>VCS</b>	Estimulación vagino cervical
<b>ICV</b>	Intracerebroventricular	<b>%SPE</b>	Porcentaje de salida post eyaculación
<b>IMSS</b>	Instituto Mexicano del Seguro Social	<b>%SPI</b>	Porcentaje de salida post intromisión
<b>IL</b>	Intensidad de la lordosis	<b>%SPM</b>	Porcentaje de salida post monta
<b>i.p.</b>	Intraperitoneal	<b>5HT</b>	Serotonina
<b>LH</b>	Hormona luteinizante		

## AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Alonso Fernández Guasti, por abrirme las puertas de su laboratorio y confiar en mí para realizar este proyecto que fue creciendo poco a poco. Por su paciencia & apoyo en la dirección de esta tesis. Por siempre tener una palabra amable.

A la Dra. Gabriela Rodríguez Manzo, por sus valiosas aportaciones, por sus comentarios tan pertinentes y enriquecedores, por hacer crecer este proyecto & por el esfuerzo que realizó en revisar la tesis con tanta premura.

Al Dr. Gabriel Roldán por recibir este proyecto al final del camino y comprometerse con él, por sus comentarios y aportaciones, gracias.

A la Dra. Marcia Hiriart por ser parte del sínodo, gracias por tomarse el tiempo para participar en este proyecto.

A la Dra. Daniela Rebolledo, por toda su ayuda en la realización de este proyecto, por ser tan comprometida & siempre estar dispuesta a revisar una vez más el trabajo, por brindarme siempre el tiempo para que este trabajo quedará lo mejor posible.

A todos mis profesores, gracias por su compartir su conocimiento.

A la M.C. Rebeca Reyes, a Blanca Gómez, al Ing. José Rodolfo Fernández y a la M en BEI María del Pilar Quintero por su apoyo técnico y administrativo.

A M.C. Alberto Hernández por ayudarme a crecer como estudiante, por tantas preguntas pertinentes & por compartirme de sus conocimientos.

A la Dra. Elisa Ventura por sus aportaciones, comentarios & sugerencias al proyecto, por guiarme en el mundo de la conducta sexual femenina y por impulsarme a seguir trabajando.

A todos los miembros del laboratorio 16 (Beto, Eli, Rebe, Blanch, Adri, Ale, y Sandy), por su apoyo en la realización de este proyecto y por escucharme una & otra vez en mis ensayos.

A todos mis amigos & amigas que me han apoyado siempre & a todas las personas que han formado parte de mi vida, directa o indirectamente me trajiste hasta aquí.

A todo el personal de vigilancia, intendencia y administrativo que labora en el departamento de Farmacobiología del CINVESTAV, Unidad Coapa, gracias por hacer mi estancia más agradable.

## DEDICATORIAS

A mi familia: Mi mamá: **Mónica**, mi abue: **Elia**, mis tías: **Marisela, Rosario y Verónica**, mi tíos **Guillermo y Víctor**, mis primos: **Joy, Mafer & Memo** & a mi hermanita **Moni**, son el pilar de mi vida, gracias por estar siempre para mí, por escucharme, apoyarme, consentirme, aconsejarme, guiarme & quererme, esta tesis esta dedicada a cada uno de ustedes. Gracias a todos llegue hasta aquí!, este logro también es de ustedes.

A mis amigos #CINVESTAV: Yarim, Isa, Mari, Abraham, Pablo & Fany por todas las risas compartidas, los chismes en el comedor, las salidas en grupo, el apoyo en las clases & su valiosa amistad, los quiero beibis.

A mi amiga #UAM: Nimsi, sabes que te quiero & que valoro mucho tu amistad, gracias por tu apoyo y por esas carcajadas que compartimos tantas veces en el lab, por limpiar sobre lo que ya estaba limpio mil veces y porque gracias a ti mi paso por el labo n008 ha sido una de las mejores experiencias.

A mis amigos #UAM: Ernesto, Ángel y Ramón (compitas) por todo lo que me enseñaron, por contribuir en mi formación profesional, por su amistad & por impulsarme (& lanzarme) a salir de mi zona de confort.

Al Dr. Ac. MIEM. Alberto por su amistad, por todas las risas en el laboratorio, por todas esas preguntas que te surgen, que no sé responder y que tanto me ayudan a crecer, por aguantarme tanto y por el apoyo que diario me bridas.

A la familia Sánchez Navarro: la Sra. Lupita, Lupita, Mari, Héctor, Hectorin & Xime. Por abrirme las puertas de su hogar, por quererme como un miembro más de su familia por cuidarme y procurarme.

A **Antonio**, mi amor, gracias por acompañarme en esta aventura, por amarme tanto, por estar presente en mis momentos de crisis, por cuidarme, por ser mi mejor amigo, por confiar en mí, por todas las tardes en la biblioteca & todas las veces que esperaste a que terminara mis mil pendientes, por escucharme llorar una & otra vez & siempre sacarme una sonrisa, por desvelarte conmigo, por no dejarme caer, por conocerme en mis buenas & mis malas ... creo que no tengo palabras suficientes para expresar lo que significas en mi vida.. "si me faltan las palabras, lo diré con la mirada... al salir el sol". TE AMO.

A mis pequeñas & regordetas **ratas**, en definitiva la parte fundamental de este trabajo, gracias por todo lo que hacen por nosotros & por permitirme generar un pequeño aporte a la investigación de la DM, son tan curiosas y únicas que observarlas ha sido lo mejor de estos dos años!.

## RESUMEN

### Evaluación de la conducta sexual en dos modelos de hiperglucemia en la rata hembra

**INTRODUCCIÓN:** La Diabetes Mellitus (DM) se ha asociado a diferentes enfermedades, entre ellas, la disfunción sexual femenina, que abarca aspectos como la anorgasmia, dispareunia y falta de lubricación vaginal. Diversos modelos animales simulan algunas de las alteraciones presentes en la DM; entre ellos se encuentra la administración de estreptozotocina (STZ), que destruye las células  $\beta$  pancreáticas encargadas de la secreción de insulina. Los estudios que evalúan la relación DM-disfunción sexual femenina utilizan un modelo de administración de STZ en etapa adulta que simula algunas de las complicaciones en la DM tipo 1 (DM1, hiperglucemia severa). Existe un modelo que pretende simular los efectos de la diabetes mellitus tipo 2 (DM2): la administración de STZ en etapa neonatal. Todos estos reportes han utilizado un paradigma en el que el macho es el que regula el ritmo de la cópula (o Cópula no Regulada, CnR). Para evaluar la motivación sexual femenina se utiliza un paradigma en el que la hembra puede regular el ritmo de la cópula (Cópula Regulada, CR). Usando el paradigma de CnR, se ha reportado una disminución en la receptividad y proceptividad de ratas hembras tratadas con STZ en la etapa adulta, efectos que se revierten al administrar insulina exógena. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la conducta sexual de la rata hembra en dos modelos de hiperglucemia, bajo las condiciones de CnR y CR. **METODOLOGÍA:** Se utilizaron dos modelos de hiperglucemia distintos: administración de STZ en etapa adulta y en etapa neonatal. Para el modelo de administración de STZ en etapa adulta se inyectó STZ (i.p. 50 mg/kg/día durante 2 días) a ratas Wistar ovariectomizadas (de 11 semanas), 10 días después se realizó la prueba de conducta sexual (CnR o CR) en los animales con glucemia  $\geq 350$  mg/dl. Para evaluar los efectos de la restitución de insulina se administró insulina glargina, por la mañana y por la noche, durante 8 días consecutivos. Para el modelo de administración en la etapa neonatal se inyectó STZ (70 mg/kg, i.p.) o buffer de citratos a ratas hembra Wistar neonatas (3-4 días), en la semana 8 de vida se realizó una prueba de tolerancia a la glucosa, al cumplir 10 semanas los animales se ovariectomizaron y 2 semanas después se evaluó la conducta sexual. En el caso de las hembras intactas, a partir de la semana 10 se realizó un frotis vaginal por 2 semanas para dar seguimiento al ciclo estral; en la semana 12 se realizó la prueba de conducta sexual cuando la hembra se encontraba en la fase de proestro. **RESULTADOS:** En el paradigma de CnR, en ambos modelos de hiperglucemia, se registró una disminución significativa en la receptividad y un aumento en las conductas agresivas, sin cambios en la proceptividad. Los animales tratados con STZ en la etapa adulta exhibieron un perfil conductual similar cuando se analizó la conducta sexual en la prueba de CR (disminución en la receptividad y una tendencia a aumentar las conductas agresivas). Los efectos del tratamiento con STZ sobre las conductas agresivas fueron completamente revertidos al administrar insulina exógena en estos animales, al ser evaluados en la CnR. Al evaluar la conducta sexual de las ratas adultas que fueron tratadas con STZ en la etapa neonatal en el paradigma de CR, se observó una disminución en la proceptividad, sin modificar la receptividad, ni las conductas agresivas. Las hembras intactas presentaron una disminución de las conductas proceptivas al compararlas con su respectivo control. **CONCLUSIONES:** la hiperglucemia severa (inducida por la STZ inyectada en etapa adulta) provoca una disminución en la receptividad y un aumento en las conductas agresivas, sin importar el paradigma en el que se evalúe la conducta sexual; en contraste, la hiperglucemia moderada (presente en los animales tratados con STZ en etapa neonatal) produce distintos perfiles conductuales dependiendo del paradigma utilizado.



## ABSTRACT

### Evaluation of female's sexual behavior using two different rat models of hyperglycemia

**INTRODUCTION:** Diabetes Mellitus (DM) has been associated with different diseases including sexual dysfunctions, such as anorgasmia, dyspareunia and lack of vaginal lubrication. The most popular animal model used to analyze the alterations present in DM is the streptozotocin (STZ)-induced diabetes. STZ is a selective cytotoxic drug of pancreatic  $\beta$  cells (the responsible for insulin secretion). Most of the basic studies associating hyperglycemia and female sexual behavior have utilized STZ injected to adult rats; this model resembles some signs observed in type 1 diabetes (DM1), such as hypoinsulinemia and severe hyperglycemia. Another model has been proposed to simulate the chronic effects of type 2 diabetes (DM2): the neonatally-induced diabetes (NIDM). Remarkably, all the studies analyzing sexual behavior in hyperglycemic female rats have used non-paced mating (NPM), a test in which the male regulates the rhythm of copulation. Consistently these studies have shown a reduction in sexual receptivity and proceptivity of STZ-treated adult female rats, effects that are reversed with exogenous insulin. The paced mating (PM), where the female regulates the timing of copulation, allows the analysis of motivational aspects. The aim of the present study was to evaluate the sexual behavior of the female rat in two models of hyperglycemia, under conditions of NPM and PM. **METHODS:** In order to compare the effects of hyperglycemia on female's sexual behavior, we used two different models of DM: the STZ-induced diabetic model in adult rats (SIDMAR), and the NIDM. For the SIDMAR model, we injected STZ (i.p. 50 mg / kg in two consecutive days) to ovariectomized adult Wistar rats of 11 weeks, 10 days after STZ injection, the females were tested for sexual behavior in NPM or PM in animals with glycemia  $\geq 350$  mg / dl. For the insulin restitution experiment, we administered insulin, glargine in the morning and at night for 8 consecutive days. For the NIDM, STZ (70 mg / kg, ip) or citrate buffer was injected to neonatal female Wistar rats (3-4 days); 8 weeks later a glucose tolerance test was performed. When these animals reached 10 weeks old, they were ovariectomized and the sexual behavior was assessed 2 weeks later. Additionally, in the NIDM we studied the sexual behavior in naturally-cycling female rats; for this purpose, at week 10 of age we took vaginal smears daily for 2 weeks to determine the estrous cycle sequence, at week 12 of age, when the females were in proestrus, they were evaluated for sexual behavior (NPM). **RESULTS:** Using the SIDMAR and NIDM tested in the NPM, the hyperglycemic animals showed a significant decrease in sexual receptivity and an increase in aggressive behaviors, without changes in proceptivity. Moreover, the females subjected to the SIDMAR and tested in the PM also showed a decreased receptivity, and a trend to increase aggressiveness. Insulin restitution prevented the increase in aggressive behaviors observed in hyperglycemic rats under NPM. The females with NIDM evaluated in the PM exhibited a decrease in proceptivity, without changes in sexual receptivity or aggressiveness. Furthermore, natural cycling females (with NIDM and PM) showed a decrease in proceptive behaviors when compared to their respective controls. **CONCLUSIONS:** Severe hyperglycemia (such as that observed in SIDMAR) provokes a reduction in sexual receptivity and an increase in aggressive behaviors, regardless of the sexual behavior paradigm. In contrast, moderate hyperglycemia (as that provoked by NIDM) produces different behavioral profiles depending on the paradigm.

## **I. INTRODUCCIÓN**

### **1. GENERALIDADES DE LA DIABETES MELLITUS (DM)**

#### **1.1 Definición**

La diabetes mellitus (DM) es un desorden metabólico caracterizado por una concentración alta de glucosa en sangre, denominada hiperglucemia. Esta condición se vuelve crónica cuando el páncreas no produce suficiente insulina (la hormona reguladora de las concentraciones sanguíneas de glucosa), o cuando el organismo no utiliza eficazmente la insulina que produce (Organización Mundial de la Salud, 2003). Las consecuencias de la hiperglucemia crónica incluye un metabolismo alterado de lípidos, carbohidratos y proteínas, así como la aparición de alteraciones que producen un incremento en el riesgo de padecer enfermedades vasculares (Arulmozhi, Veeranjanyulu, & Bodhankar, 2004). En general, existen dos tipos de DM: la diabetes tipo 1 (DM1) y la diabetes tipo 2 (DM2).

#### **1.2 Clasificación**

De acuerdo a su etiología la DM se ha clasificado en al menos cuatro distintas categorías (Cuadro 1). En la población mundial las más comunes son la diabetes mellitus Tipo 1 (DM1) y tipo 2 (DM2) (Organización Mundial de la Salud, 2016b).

##### **1.2.1 Diabetes Mellitus tipo 1 (DM1)**

La DM1, anteriormente conocida como diabetes insulino dependiente o diabetes juvenil, es causada por una reacción autoinmune por parte de los linfocitos hacia las células  $\beta$  pancreáticas, responsables de sintetizar la insulina, lo que causa una producción deficiente de dicha hormona (insulinopenia) y la consecuente hiperglucemia. Una vez que se establece la insulinopenia, se presentan características clínicas que incluyen el inicio abrupto de síntomas como polidipsia (sed anormal), poliuria (micción frecuente), polifagia (hambre constante) y pérdida de peso. Esto provoca la necesidad de administrar insulina exógena de manera crónica (Chatzigeorgiou, Halapas, Kalafatakis, & Kamper, 2009; National Diabetes Data Group, 1995).

<b>Clasificación etiológica de la diabetes mellitus</b>		
<b>Tipo de diabetes</b>		<b>Subtipo</b>
1	Diabetes mellitus tipo 1	Inmune
		Idiopática
2	Diabetes mellitus tipo 2	-
3	Otros tipos específicos de diabetes mellitus	A) Defectos genéticos en la función de la célula $\beta$ pancreática
		B) Defectos genéticos en la acción de la insulina
		C) Enfermedades del páncreas exocrino (encargado de secretar enzimas digestivas)
		D) Endocrinopatías
		E) Diabetes inducida químicamente o por drogas
		F) Diabetes inducida por infecciones
		G) Diabetes poco común mediada inmunológicamente
		H) Otros síndromes genéticos algunas veces asociados con diabetes mellitus 1 Síndrome de Down 2 Síndrome de Klinefelter 3 Síndrome de Turner 4 Síndrome de Wolfram 5 Otros
4	Diabetes mellitus gestacional	

Cuadro 1. Clasificación de la diabetes mellitus según su etiología. Fuente: Guía de Práctica Clínica del IMSS. Tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 en el primer nivel de atención 2013 (Gil-Velázquez, Sil-Acosta, Domínguez-Sánchez, Torres-Arreola, & Medina-Chávez, 2013).

### 1.2.2 Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2)

La DM2 anteriormente conocida como diabetes no-insulino dependiente o diabetes del adulto, es el tipo más común de DM. Se presenta generalmente en el adulto, pero también puede desarrollarse en niños y adolescentes. Es una enfermedad compleja y heterogénea; en sus inicios el cuerpo es capaz de producir insulina, pero paulatinamente el organismo se vuelve resistente a sus acciones, de manera que esta hormona es ineficaz para producir el efecto de

absorción de glucosa por las células en los tejidos periféricos. Con el paso del tiempo se produce una alteración en la regulación de la producción de glucosa hepática y una deficiencia en la función de las células  $\beta$  pancreáticas, con la consecuente falla en la secreción de insulina (Mahler & Adler, 1999). Es importante señalar que tanto los factores genéticos como los ambientales (estrés, vida sedentaria y/o mala alimentación) interactúan para el desarrollo de esta enfermedad (Chatzigeorgiou et al., 2009).

Al igual que en la DM1, los principales síntomas que se presentan en este padecimiento son poliuria, polidipsia y polifagia, acompañados de una pérdida de peso corporal, pero en menor intensidad. La mayoría de los pacientes son asintomáticos por años (e incluso décadas) ya que la enfermedad se va desarrollando progresivamente (Arulmozhi et al., 2004; National Diabetes Data Group, 1995).

### **1.3 Epidemiología**

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el mundo hay más de 347 millones de personas con DM y se calcula que en 2012 fallecieron 15 millones como consecuencia de la hiperglucemia. Casi la mitad de esas muertes corresponden a personas de menos de 70 años y un 55% a mujeres (Organización Mundial de la Salud, 2016a). Según la Federación Internacional de Diabetes (FID, "International Diabetes Federation," 2017), México ocupa el sexto lugar a nivel mundial en presentar el mayor número de pacientes con DM. En nuestro país, la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016 (Secretaría de Salud, 2016) reveló que este desorden metabólico se encuentra entre las primeras causas de muerte y que su prevalencia aumentó en los adultos a un 9.4%. Asimismo se reportó que el número de casos en mujeres es mayor que en hombres (10.3% vs. 8.4%, respectivamente).

La FID estima que entre un 87-91% de los pacientes con DM en el mundo son del tipo 2, que un 4%-12% tienen DM1 y que del 1% al 3% tienen otros tipos de diabetes ("International Diabetes Federation," 2017).

### **1.4 Criterios diagnósticos**

La guía de práctica clínica del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) señala que para el diagnóstico de DM se pueden utilizar cualquiera de los siguientes criterios (Henríquez & Hernández, 2007):

1. Que el paciente presente algún síntoma (polidipsia, poliuria, polifagia y pérdida de peso inexplicable) y valores de glucosa en sangre  $\geq 200$  mg/dl (11.1 mmol/l) a cualquier hora del día, sin relación con el tiempo transcurrido desde la última comida.
2. Glucemia en ayunas (8h) medida en plasma venoso con valores  $\geq 126$  mg/dl (7 mmol/l).
3. Glucemia medida en plasma venoso con valores de  $\geq 200$  mg/dl (11.1 mmol/l) dos horas después de una carga de glucosa anhidra durante una prueba de tolerancia oral a la glucosa (PTG).

Recientemente la Asociación Americana de Diabetes (ADA, por sus siglas en inglés) ha utilizado la hemoglobina glucosilada (HbA1c) como criterio diagnóstico para la diabetes cuando su porcentaje es  $\geq 6.5\%$  ("American Diabetes Association," 2016).

## **1.5 Tratamiento**

El tratamiento adecuado de la DM está enfocado, en primera instancia, a disminuir la tasa de mortalidad y las complicaciones agudas y crónicas asociadas a la hiperglucemia prolongada. Entre las principales complicaciones de la DM se encuentran las enfermedades cardiovasculares (hipertensión y aterosclerosis), nefropatía, retinopatía, neuropatía y disfunciones sexuales. Estas enfermedades se dan como resultado de alteraciones vasculares, neurogénicas y psicogénicas (Kizilay, Gali, & Serefoglu, 2016).

El tratamiento de elección depende en gran medida de la etiología de la enfermedad. De manera muy general se tienen dos tipos de estrategias: la no farmacológica y la farmacológica. Así, se recomienda empezar -en estadios tempranos de la enfermedad- con la estrategia no farmacológica y cuando esta no es capaz de revertir las afecciones, se incluye la terapia farmacológica.

### **1.5.1 Tratamiento no farmacológico**

El tratamiento no farmacológico y en particular la reducción de peso corporal en pacientes con DM y obesidad, sigue siendo el único tratamiento integral capaz de controlar simultáneamente la mayoría de las complicaciones metabólicas presentes en las personas con DM, incluyendo la hiperglucemia, la resistencia a la insulina y la hipertensión arterial.

Se pueden lograr cambios significativos con una reducción del 5 al 10% del peso corporal. Este tratamiento no farmacológico comprende tres aspectos básicos en el estilo de vida: plan de alimentación, ejercicio físico y hábitos saludables (Henríquez & Hernández, 2007).

### **1.5.2 Tratamiento farmacológico**

Se recomienda iniciar un tratamiento con hipoglucemiantes orales en el caso de los pacientes con glucemias en ayunas mayores de 240 mg/dl (13.3 mmol/l) y/o HbA1c mayor de 8.5%, en particular cuando han perdido peso asociado a síntomas de hiperglucemia (Henríquez & Hernández, 2007).

Según la NOM-015-SSA2-1994 los medicamentos que pueden utilizarse para el control de la DM son sulfonilureas, biguanidinas, insulinas o combinaciones de éstos. Asimismo, se pueden utilizar los inhibidores de la alfa glucosidasa o tiazolidinedionas (NOM 015 SSA, 2010).

### **1.5.3 Hipoglucemiantes/ Antihiperglucemiantes orales**

La metformina es la única biguanida disponible y se debe considerar como el tratamiento de primera línea en todas las personas con DM2 y, en particular, en las que tienen sobrepeso. En este grupo de medicamentos también se puede elegir a las sulfonilureas (cuando el paciente tenga un peso dentro del rango saludable), las meglitinidas, las tiazolidinedionas y la acarbose (que sólo se deben considerar como monoterapia en pacientes con elevaciones de glucemia leve) (Gil-Velázquez et al., 2013).

### **1.5.4 Insulina exógena**

La insulina humana debe considerarse como el medicamento de primera línea en sujetos con DM1, con diagnóstico incierto del tipo de DM, así como en la diabetes gestacional.

La insulina es un polipéptido de 51 aminoácidos que se disponen formando dos cadenas unidas por diferentes puentes disulfuro. Es sintetizada y almacenada en las células  $\beta$  pancreáticas de los islotes de Langerhans. La secreción fisiológica de insulina se realiza de dos formas:

- a) De manera basal y continua: durante el periodo de ayuno la insulina inhibe la neoglucogénesis hepática (proceso que permite la biosíntesis de glucosa a partir de precursores no glucídicos como aminoácidos, piruvato

y glicerol) y evita la hiperglucemia en ayunas, así como la cetogénesis (proceso metabólico por el cual se producen los cuerpos cetónicos como resultado del catabolismo de los ácidos grasos).

- b) Incrementada de manera aguda, desencadenada por la hiperglucemia. Inmediatamente después de ingerir alimentos se secreta insulina de las células  $\beta$  a la circulación general. La insulina secretada se une a las células del tejido adiposo, el hígado y el músculo, estimulando la entrada de nutrientes a la célula, evitando así un ascenso excesivo de la glucosa sanguínea posprandial.

Actualmente se dispone de distintos tipos de insulinas para el tratamiento de la DM:

- c) Insulina de acción rápida
  - a. Los análogos de insulina de acción rápida poseen un perfil farmacocinético similar a de la insulina humana debido a modificaciones realizadas utilizando la tecnología de ADN recombinante. Tienen un inicio de acción de 5 a 15 minutos, un pico del efecto de 1 a 2 horas después de la administración y la duración del efecto es de 4-6 horas.
  - b. La insulina humana tiene un inicio de acción de 1/2 a 1 hora después de la administración, el pico máximo se presenta a las 2-4 horas y la duración de la acción es de 6 a 8 horas.
- d) Insulina de acción intermedia o de acción lenta
  - a) La insulina humana NPH (protamina neutra de Hagedorn) tiene un inicio de acción de 1 a 2 horas después de su administración, el pico se presenta de 4 a 6 horas, y el efecto antihyperglucemiante tiene una duración de más de 12 horas.
  - b) Insulina premezclada: son mezclas en proporciones fijas de insulina de acción rápida y de insulina de acción intermedia.
- e) Insulina de acción prolongada o de acción ultralenta: su efecto se presenta de 1 ½-2 h después de la administración, con una duración del efecto relativamente larga (12 a 24 h).

Para el presente trabajo se utilizó un análogo de insulina conocido como insulina glargina, considerado de acción prolongada, con una absorción sostenida y lenta. Después de su administración por vía subcutánea en el humano se produce un perfil de concentración plasmática, sin picos, a lo largo de 20-24 h; su acción comienza 1-2 h después de la administración. Entre sus desventajas está el hecho de que algunos pacientes reportan necesitar dosis mayores de insulina rápida antes de las comidas (en comparación a la dosis de insulina de acción lenta o intermedia necesitadas), debido al perfil farmacocinético que presenta esta insulina (de Luis & Romero, 2013; Gómez Ayala, 2008).

## **2. Respuesta sexual femenina**

La respuesta sexual humana fue descrita por Masters & Johnson (1966) como una serie de eventos sucesivos que se presentan de manera lineal: la fase de excitación (deseo sexual), una fase de meseta, orgasmo y resolución. Posteriormente, Kaplan (1994) agregó el componente psicológico al considerar la fase de deseo, que precede a las fases antes mencionadas. Recientemente, este modelo lineal se ha ido modificado, agregando nuevos componentes, como es el caso del modelo de Whipple y Brash-McGreer (1997) en el que se propone a la respuesta sexual como un modelo circular con 4 etapas: seducción (semejante al deseo), sensación (excitación y meseta), rendición (orgasmo) y reflexión. Si la experiencia sexual fue placentera, tendrá un efecto reforzante en la mujer, iniciando nuevamente con la fase de seducción (Nowosielski, Wróbel, & Kowalczyk, 2016).

La respuesta fisiológica en cada una de estas etapas involucra distintos sistemas en el organismo como el de neurotransmisión, el vascular y/o el endócrino. Se requieren distintas respuestas del organismo para el encuentro sexual, como la correcta lubricación vaginal, la actividad muscular pélvica y genital, así como la inervación de la pelvis; cualquier anomalía en ellos puede resultar en una disfunción (Enzlin, Mathieu, Vanderschueren, & Demyttenaere, 1998; Kizilay et al., 2016).



## **2.1 Disfunción sexual**

El Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales (Aliño, Miyar, & American Psychiatric Association, 2014) define como disfunción sexual al “grupo de trastornos caracterizados por una alteración en la capacidad de una persona a responder sexualmente o experimentar placer sexual; un individuo puede tener diversas disfunciones sexuales al mismo tiempo.” Es importante señalar que la DM provoca disfunción sexual tanto en hombres como en mujeres, como veremos más adelante.

La disfunción sexual masculina ha sido ampliamente estudiada. Muchos trabajos han mostrado que pacientes con DM tienen un riesgo mayor de padecer disfunción eréctil, problemas eyaculatorios y libido reducida, que está relacionada con la duración de la enfermedad y su mal manejo (Bacon et al., 2002; Kizilay et al., 2016).

La etiología de la disfunción sexual femenina, es multifactorial dado que se combinan factores biológicos (como problemas endócrinos, urológicos, neurológicos, además del uso de algunos medicamentos), psicológicos (como depresión, ansiedad, miedo, etc.) sociales (educación sexual, creencias religiosas, estado financiero, etc.) y emocionales.

## **2.2 Diabetes mellitus y disfunción sexual femenina**

Respecto al estudio de la relación que existe entre DM y la disfunción sexual en mujeres, los reportes publicados son inconsistentes, debido a que se utilizan diversos criterios para su estudio. Es decir, no se hace distinción entre el tipo de DM, la duración de la enfermedad, si se utilizan medicamentos para el control glucémico, la condición endócrina de la mujer (pre- o postmenopáusicas), o la presencia de otras enfermedades concomitantes. Sin embargo, es evidente que el efecto de la DM sobre la sexualidad femenina es variable y puede afectar todos los aspectos de la función sexual (Bargiota, Dimitropoulos, Tzortzis, & Koukoulis, 2011; Homko & Trout, 2006; Newman & Bertelson, 1986; Nowosielski, Drosdzol, Sipiński, Kowalczyk, & Skrzypulec, 2010).

Algunos estudios señalan que las pacientes con DM presentan alteraciones en el ciclo menstrual, como amenorrea (ausencia de la menstruación) u oligomenorrea (ciclos menstruales poco frecuentes o escasos) (Doruk, Akbay, Cayan, Bozlu, & Acar, 2005). Esta alteración en el ciclo menstrual se cree que es debida a una falta de la estimulación de la liberación de la hormona

liberadora de la hormona luteinizante (LHRH) en el hipotálamo, más que a una incapacidad del mismo para liberar LHRH o a una respuesta hipofisaria disminuida a LHRH (Steger & Rabe, 1997). Sin embargo, algunas pacientes con DM1 reportan un deterioro en el control de la glucemia cerca de la menstruación, mientras que otras observan una mejoría.

La DM causa disfunción vascular, la cual puede provocar cambios estructurales y funcionales en los genitales femeninos que pueden ocasionar una respuesta sexual disminuida (Park et al., 2002). Las pacientes con neuropatía diabética presentan como principales consecuencias sexuales desórdenes en el deseo, orgasmo y dolor durante el encuentro sexual (Duby, Campbell, Setter, White, & Rasmussen, 2004). También se ha reportado que en pacientes con DM existe una alteración en la secreción de hormonas esteroides sexuales, las cuales se consideran importantes para la respuesta sexual. Por ejemplo, los estrógenos son necesarios para mantener la mucosa epitelial y el flujo de sangre vaginal; una disminución en sus concentraciones afecta la respuesta genital ante un estímulo sexual (Doruk et al., 2005). Existen otras enfermedades asociadas a esta enfermedad que se cree que juegan un papel importante en la disfunción sexual femenina, como problemas en el funcionamiento de la tiroides, síndrome de ovario poliquístico y desórdenes en el eje hipotálamo-hipófisis, entre otros (Bargiota et al., 2011).

Son pocos los trabajos que se han enfocado a evaluar el efecto de la DM sobre otras afecciones como la dispareunia (coito doloroso), la inadecuada lubricación vaginal, el aumento de infecciones vaginales, problemas de anorgasmia, disminución del deseo sexual, entre otros (Newman & Bertelson, 1986). La prevalencia de mujeres diagnosticadas con DM que presentan disfunciones sexuales (2010) es muy variada y se ha estimado que va de un 14 a un 85% (Nowosielski et al., 2010).

Los mecanismos que subyacen a la relación DM-disfunción sexual femenina también han sido explorados haciendo uso de modelos animales de DM. Uno de los más populares en la literatura es el de hiperglucemia inducida por estreptozotocina, del cual se hablará con mayor detalle a continuación.

### 3. Hiperglucemia inducida por STZ en roedores

Existen diversos modelos animales que se utilizan para estudiar los cambios metabólicos que caracterizan a la DM, entre ellos están los modelos genéticos (las ratas Zucker y Cohen o el ratón KK, por ejemplo), los modelos de destrucción química de la células pancreáticas (mediante alloxan o estreptozotocina), la remoción quirúrgica del páncreas, así como modelos que utilizan dietas altas en grasas o azúcares (Arulmozhi et al., 2004). La administración de estreptozotocina (2-deoxy-2-[[metil (nitroso) amino]carbonil] amino)- $\beta$ -D-glucopiranososa, abreviado como STZ) es uno de los modelos más utilizados por su relativa sencillez y bajo costo.

La STZ es un metabolito obtenido del hongo *Streptomyces achromogenes* (Bell & Hye, 1983). Por su estructura química, se le considera un análogo citotóxico de la glucosa, dicha estructura le permite interactuar (con baja afinidad) con el transportador de glucosa 2 (GLUT2) expresado en la membrana de las células  $\beta$  pancreáticas, hepatocitos y células del túbulo renal. Aunque también causa un daño en otras células, su principal actividad citotóxica se presenta en las células  $\beta$  pancreáticas debido a que estas son más activas en la recaptura de glucosa y más lábiles que otros tipos celulares. Una vez dentro de la célula, la STZ provoca la muerte celular debido a la fragmentación del ácido desoxirribonucleico (ADN), inducida por la metilación de su estructura y la generación de óxido nítrico y radicales libres como el peróxido de hidrógeno (Ogbonnaya, Eleazu, Chukwuma, & Essien, 2013).

La dosis y la vía de administración de la STZ resultan determinantes para el tipo de DM que se desee modelar; también se debe considerar la cepa, el sexo, la edad y la especie. La administración de STZ en la rata adulta provoca una deficiencia casi total de insulina (hipoinsulinemia) y una consecuente hiperglucemia, dislipidemia y pérdida de peso, aspectos que simulan algunas de las alteraciones que se observan en la DM1 del humano (Kovacs, Morales, & Karkanias, 2003).

Así mismo, se han intentado modelar algunas de las complicaciones de largo plazo de la DM2 con la administración de STZ en roedores en etapa neonatal. En este modelo los roedores presentan hiperglucemia, intolerancia a la glucosa, polifagia, polidipsia, poliuria e hipoinsulinemia que se mantienen de forma asintomática hasta la adultez, ya que al administrar STZ durante el periodo neonatal, la destrucción de las células  $\beta$  pancreáticas no es total (20% sobreviven) y esta pérdida puede ser compensada parcialmente por las células

que aún no se han diferenciado. Después de un tiempo (6-8 semanas), se presenta una caída en la sensibilidad de las células  $\beta$  a la glucosa, con la consecuente disminución en la capacidad del páncreas de liberar insulina (10-16 semanas) en respuesta a la glucosa (Giddings, Orland, Weir, Bonner-Weir, & Permutt, 1985; Serradas & Dolz, 2007).

Existen diversas variantes en este modelo dadas por el día de la administración del fármaco (al día 0, 2 ó 5 postnatal) o por la vía de administración (subcutánea, intraperitoneal o intravenosa) (Serradas & Dolz, 2007). Se sabe que la capacidad de regeneración de las células  $\beta$  pancreáticas en ratas Wistar disminuye rápidamente durante la primera semana postnatal y que esta regeneración no sucede en el páncreas de la rata adulta. Sin embargo, pocos son los reportes en los que se exponen las diferencias fisiológicas observadas en los animales adultos dependiendo del día postnatal en el que se administre la STZ (Bequer et al., 2016). A pesar de que este último modelo es menos agresivo para los animales, su uso en la literatura es mucho menos popular que el de la administración en la etapa adulta, puesto que realizar experimentos con animales neonatales requiere de un gran esfuerzo de cuidado y de mayor tiempo de experimentación.

A pesar de que los modelos animales de DM nos permiten entender algunas complicaciones asociadas a la hiperglucemia provocada por el daño a las células  $\beta$  pancreáticas, ninguno asemeja en su totalidad las alteraciones observadas en el humano, debido a que ésta es una enfermedad multifactorial y multisistémica (Seethalakshmi, Menon, & Diamond, 1987). En este proyecto se utilizaron dos modelos de este trastorno comparando los efectos de la administración de STZ en dos etapas de vida distintas.

Para el diseño experimental planteado en este estudio, se utilizará el término hiperglucemia inducida en la etapa neonatal (refiriéndose al diseño experimental utilizado para modelar la DM2) e hiperglucemia inducida en la etapa adulta (para referirnos al diseño experimental que intenta modelar la DM1).

#### 4. Conducta sexual en la rata hembra

El ciclo reproductivo de la rata hembra, también llamado ciclo estral, tiene una duración promedio de 4-5 días y está compuesto por cuatro fases que reflejan los cambios en los niveles de estradiol y progesterona secretados por los ovarios: las fases son el proestro (duración promedio 14h), estro (24-48h), metaestro (6-8h) y diestro (48-72h).

El ciclo inicia con el incremento de las concentraciones de estradiol, el cual, por un mecanismo de retroalimentación negativa, amplifica la liberación pulsátil de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) en el hipotálamo. Dicha hormona estimula la secreción de la hormona folículo estimulante (FSH), que a su vez estimula la proliferación de folículos en el ovario y la secreción de la hormona luteinizante (LH). El aumento de la FSH estimula el crecimiento y el reclutamiento de los folículos ováricos inmaduros en el ovario y promueve la síntesis de estradiol, hormona que ejerce una retroalimentación positiva en la secreción de LH, con el consecuente aumento en los niveles de progesterona. Ambos fenómenos provocan la ovulación en la fase de proestro, y en caso de que no se establezca un embarazo, los niveles hormonales regresan a valores basales en la fase de diestro (Goldman, Murr, & Cooper, 2007).

Para determinar la fase del ciclo estral en la rata se utiliza la citología vaginal debido a que cada fase se caracteriza por la presencia, ausencia o proporción diferencial de distintos tipos celulares: células epiteliales, células cornificadas y leucocitos. La citología característica de cada fase es la siguiente (Ågmo, 2014; Cora, Kooistra, & Travlos, 2015; Marcondes, Bianchi, & Tanno, 2002):

- Proestro: Se encuentra gran cantidad de células epiteliales nucleadas.
- Estro: Se caracteriza por la presencia de células cornificadas, sin núcleo.
- Metaestro: Se presenta la misma proporción de leucocitos, células cornificadas y células epiteliales nucleadas.
- Diestro: Se observan mayoritariamente leucocitos.

Frank Beach (1976) dividió la respuesta sexual de la rata hembra en conductas proceptivas y conductas receptivas, que sólo se presentan cuando la hembra se encuentra en la fase de proestro, o, si fue ovariectomizada, si se le restituyen las hormonas ováricas de manera exógena. Las conductas proceptivas, es decir, el orejeo (movimiento lateral de la cabeza que provoca

el aleteo fino de las orejas) y el brincoteo-zigzagúeo (que consiste en saltos rápidos con las patas rígidas combinado con una carrera rápida y un cambio brusco de dirección, que finaliza con una postura de presentación con las patas delanteras ligeramente extendidas) (Bergheim, Chu, & Ågmo, 2015), son consideradas conductas de solicitud para atraer el interés del macho y se cree que regulan el ritmo de la cópula (Mary S. Erskine, 1989). Algunos autores las consideran como una expresión de la motivación sexual femenina (Bergheim et al., 2015).

La conducta receptiva o lordosis se define como la dorsiflexión de la columna vertebral que se presenta de forma refleja a la monta del macho y que se caracteriza por la elevación de cabeza y la grupa, se acompaña de la desviación de la cola, lo que facilita la inserción del pene en la vagina. Dicha respuesta se ha asociado al aspecto consumatorio de la cópula femenina y se evalúa con el cociente de lordosis (número de lordosis/ número de montas X 100) y la intensidad de la lordosis (medida en una escala del 0-3 dependiendo de su intensidad, ver sección 5.2.1) (Blaustein & Erskine, 2002; Mary S. Erskine, 1989).

Otras conductas realizadas por la hembra durante la cópula son las conductas de rechazo como: boxing (se presenta cuando la hembra empuja al macho con sus patas delanteras), mordidas (observadas cuando la hembra ataca al macho mordiéndolo de frente o lateralmente, sin dañarlo), la postura ofensiva lateral con pataleo al macho con las patas traseras y vocalizaciones (o chillidos) (Madlafousek & Hlinak, 2012).

Se sabe que los mecanismos fisiológicos que modulan las respuestas proceptivas y receptivas son distintos. Por ejemplo, la lordosis tras la monta del macho depende de la unión del estradiol con su receptor ER $\alpha$ , mientras que la progesterona es necesaria para la expresión de las conductas proceptivas, pero no es indispensable para la realización de la lordosis (aunque se ha observado que mejora la acción de los estrógenos) (Ågmo, 2014).

Las estructuras cerebrales que controlan la ejecución de la conducta sexual femenina pueden intervenir tanto en la realización de las conductas proceptivas, como receptivas. El núcleo ventromedial del hipotálamo está involucrado en la ejecución de la lordosis y en la expresión de conductas proceptivas. Así, se ha demostrado que la lesión de esta región en ratas ovariectomizadas provoca menos acercamientos al macho, a pesar de ser

tratadas con estradiol y progesterona de manera exógena (Dornan, Peterson, Matuszewich, & Malen, 1991). La lesión en el área preóptica media (mPOA) provoca una mejora en el cociente de lordosis, pero reduce las conductas proceptivas e incrementa las conductas de rechazo. El daño en regiones del cerebro como la protuberancia anular (ubicada en el tallo cerebral) y el núcleo peripeduncular (ubicado en el mesencéfalo) produce una disminución en la lordosis, pero no en las conductas proceptivas, o en la preferencia de la hembra por un macho intacto en comparación con uno castrado (Blaustein & Erskine, 2002; Paredes & Alonso, 1997).

Para estudiar la conducta sexual femenina en animales de laboratorio se han diseñado distintas metodologías, dos de las más utilizadas se mencionan a continuación:

#### **4.1 Cópula no regulada por la hembra (CnR)**

Esta prueba se realiza en una arena circular donde el macho, al tener libre acceso a la hembra, regula el ritmo de la cópula. A pesar de su popularidad en la literatura, no resulta el paradigma más adecuado, si lo que se desea estudiar son los aspectos motivacionales de la conducta sexual de la rata hembra, pues se considera que para ella no es reforzante (Paredes & Vazquez, 1999). De hecho, se ha reportado que en este contexto las hembras despliegan un elevado número de conductas de rechazo al macho (conductas agresivas) (Coopersmith, Candurra, & Erskine, 1996; Ventura-Aquino & Fernandez-Guasti, 2013).

#### **4.2 Cópula regulada por la hembra (CR)**

En este caso la prueba se realiza en una caja de dos compartimentos, donde la hembra se puede mover libremente entre ellos pasando por un agujero en la pared que divide ambos lados y por el que el macho no cabe, quedando confinado a un solo compartimento. Esta prueba distingue dos factores esenciales: a) el componente sensorial de la cópula, pues la hembra puede diferenciar entre el tipo de estimulación (proveniente de una monta, intromisión o eyaculación) que está recibiendo y que se refleja en el porcentaje de salidas realizadas por la hembra después de recibir la estimulación y b) el componente motivacional de la cópula, que se refiere a la disposición de la hembra de continuar con el encuentro sexual, reflejado en la latencia de retorno al compartimento donde se encuentra el macho después de la estimulación sexual recibida (Coopersmith et al., 1996; Zipse, Brandling-Bennett, & Clark, 2000).

Se ha propuesto que el ritmo del contacto sexual que establece la hembra está determinado por la estimulación vagino-cervical (VCS) que provee el macho; a mayor intensidad del estímulo mayores latencias de retorno. Es decir, las latencias de retorno al compartimento del macho son más cortas después de una monta, más largas después de una intromisión y aún más prolongadas después de la eyaculación (Paredes & Vazquez, 1999).

El que la hembra regule o no el ritmo de la cópula genera distintas respuestas fisiológicas. Por ejemplo, en la CR se necesitan menos intromisiones para inducir el pseudoembarazo (estado en el que persiste el cuerpo lúteo, que puede favorecer la implantación del óvulo fecundado y, por tanto, la reproducción), da como resultado un número mayor de crías por camada, los niveles sanguíneos de LH son mayores, además de presentarse un mayor número de conductas proceptivas (efecto probablemente provocado por la duración de la prueba) y una disminución en las conductas de rechazo (o agresivas) (Coopersmith et al., 1996). Se ha demostrado que sólo cuando la hembra establece el control de la estimulación que recibe, la conducta sexual se torna reforzante e induce un estado de recompensa (Paredes & Alonso, 1997).

Algunos trabajos han evaluado los efectos de distintos fármacos sobre la conducta sexual en la condición de CR. Estos datos sugieren que antidepresivos serotoninérgicos como la fluoxetina- que en condiciones de CnR provoca una reducción de la conducta sexual (Matuszczyk, Larsson, & Eriksson, 1998)-, tienen menores efectos inhibitorios cuando la hembra puede regular el ritmo de la cópula (Adams, Heckard, Hassell, & Uphouse, 2012; Kaspersen & Agmo, 2012; Snoeren, Refsgaard, Waldinger, Olivier, & Oosting, 2011).

En este proyecto se decidió evaluar la conducta sexual de la rata hembra en ambos paradigmas de conducta sexual (CnR y CR) ya que, como se verá más adelante, todos los reportes en los que se evalúa la conducta sexual en ratas hembras con hiperglucemia por la administración de STZ se han realizado utilizando únicamente condiciones de CnR (Ahdieh, Hamilton, & Wade, 1983; Ballester et al., 2007; Gonzalez, Vaziri, & Wilson, 1996; Inhasz Kiss et al., 2013; Karkanias, Morales, & Li, 1997; Kovacs et al., 2003; Saito et al., 1999; Steger & Rabe, 1997).



## 5. Administración de STZ y conducta sexual en la rata hembra

Como se mencionó anteriormente, la administración de STZ a ratas se ha utilizado como un modelo de insuficiencia crónica de insulina. En este modelo se ha observado en ratas macho que la administración de STZ provoca una disminución en los niveles séricos de las hormonas LH, FSH, prolactina y testosterona, acompañados de una disminución en el conteo espermático en el epidídimo, así como una disminución del peso de los testículos, el epidídimo, la próstata y las vesículas seminales (Seethalakshmi et al., 1987; Steger, Kienast, Pillai, & Rabe, 1993; Wankeu-Nya et al., 2014). En estos animales se reporta también una deficiencia en el desempeño sexual, indicado por el aumento en la latencia de monta y en la disminución en el número de intromisiones y eyaculaciones realizadas por los animales 7 días después de ser tratados con STZ (Steger et al., 1989). Adicionalmente, se ha reportado que ratones macho tratados con STZ, manifiestan una tendencia a incrementar las conductas agresivas en la prueba intruso-residente (Hilakivi-Clarke, Wozniak, Durcan, & Linnoila, 1990). Sin embargo, estos resultados son controversiales pues observaciones contrarias también han sido publicadas (Meehan, Leedom, Nagayama, & Zeidler, 1987).

Por otra parte, se han reportado alteraciones en la duración del ciclo estral de la rata hembra tras la administración de STZ en la etapa adulta, asociadas con modificaciones en la función ovárica. En estos animales se han observado diestros constantes (Bestetti, Locatelli, Tirone, Rossi, & Müller, 1985), pérdida total de la fertilidad, así como una reducción en el número de crías por camada (Ballester et al., 2007). Asimismo, se ha observado que las ratas tratadas con STZ muestran una disminución en la fertilidad, así como una pérdida en la sensibilidad de los ovarios a la acción de las hormonas hipofisarias, FSH y LH, alterando su capacidad para sintetizar estrógenos (en las células foliculares) y progesterona (en las células del cuerpo lúteo) (Ballester et al., 2007; Karkanias et al., 1997).

Se ha reportado también que ratas hiperglucémicas por la administración de STZ en la etapa adulta manifiestan una disminución en las conductas receptivas (Ahdieh et al., 1983; Hashimoto et al., 2010; Karkanias et al., 1997; Kovacs et al., 2003; Saito et al., 1999) y proceptivas inducidas por la administración exógena de hormonas (Karkanias et al., 1997; Saito et al., 1999), y dicho decremento se revierte con la administración de insulina (Ahdieh et al., 1983; Karkanias et al., 1997; Saito et al., 1999), o por la implantación de un páncreas artificial (Hashimoto et al., 2010). Cabe

mencionar que en ninguno de estos estudios se ha evaluado si se presentan o no conductas de rechazo durante la cópula en las hembras hiperglucémicas. Otros estudios han demostrado que la administración de STZ en las ratas hembras reduce la unión del estrógeno a su receptor  $\alpha$  en el hipotálamo y disminuye la expresión del receptor a progestinas en el mPOA (Saito et al., 1999).

Respecto a los cambios en la conducta sexual provocados por la administración de STZ en la etapa neonatal, Inhasz y cols. (2013) han sido los únicos en realizar esta evaluación en ratas intactas. Su reporte señala que no existen diferencias significativas en la conducta receptiva (cociente de lordosis) entre los animales a los que se les administró neonatalmente el fármaco, con respecto al grupo control, ni en la regularidad del ciclo estral. Sin embargo, de manera interesante observaron que las ratas hiperglucémicas en su etapa adulta tenían niveles mayores de progesterona y menores de estradiol (Inhasz Kiss et al., 2013).

La administración de STZ produce tanto hiperglucemia, como hipoinsulinemia y no se conocía cuál de estas condiciones era la responsable de la disminución de la conducta sexual. Karkanias y cols. (1997), demostraron que la dicha disminución era debida a la hipoinsulinemia más que a la hiperglucemia. Años después este mismo grupo (Kovacs et al., 2003) reportó, mediante la administración central (en el tercer ventrículo) de insulina, que esta hormona juega un papel directo en la regulación de la conducta sexual más allá de la recuperación de los niveles de glucosa a nivel periférico. Estos datos apuntan a que la insulina juega un papel crucial en la regulación de la conducta sexual. Sin embargo, no se ha determinado su participación en el componente motivacional de la cópula.

## **II. Justificación**

Existe una gran cantidad de información acerca de la disfunción sexual provocada por la DM en hombres y en ratas macho. Sin embargo, la relación que existe entre esta alteración metabólica y la disfunción sexual en mujeres aún no se ha establecido por completo. Se han abarcado aspectos como la anorgasmia, dispareunia y falta de lubricación vaginal, dejando de lado aspectos importantes como el deseo y la motivación sexual.

Dado que sólo existen dos trabajos anteriormente publicados utilizando ratas intactas (con administración de STZ en la etapa adulta: (Ballester et al., 2007) o neonatal (Inhasz Kiss et al., 2013), resulta necesario confirmar y ampliar la información existente acerca de los efectos de la hiperglucemia sobre la conducta sexual exhibida por estos animales.

El presente trabajo pretende estudiar la conducta sexual de la rata hembra, comparando la administración de STZ en etapa neonatal o en etapa adulta y haciendo uso de paradigmas de CnR y CR.

### **III. Hipótesis**

#### **En el paradigma de CnR:**

Las ratas ovariectomizadas, tratadas con estradiol y progesterona, a las que se les administre STZ en la etapa adulta mostrarán una disminución en la proceptividad y en la receptividad, así como un aumento en las conductas agresivas.

La administración periférica de insulina revertirá los efectos de la administración STZ sobre la receptividad, proceptividad y la agresividad.

Las ratas adultas ovariectomizadas (tratadas con estradiol y progesterona) o intactas a las que se les administre STZ en etapa neonatal, no mostrarán cambios en la proceptividad y la receptividad, y tendrán un aumento en las conductas agresivas.

#### **En el paradigma de CR:**

Las ratas ovariectomizadas, tratadas con estradiol y progesterona, a las que se les administre STZ en la etapa adulta mostrarán una disminución en la proceptividad y en la receptividad, sin cambios en la expresión de las conductas agresivas.

Las ratas adultas ovariectomizadas, tratadas con estradiol y progesterona, a las que se le administre STZ en etapa neonatal, no mostrarán cambios en la proceptividad y la receptividad ni en las conductas agresivas.

#### **Comparaciones entre paradigmas:**

Los efectos sobre la proceptividad, la receptividad y las conductas agresivas, dados por la administración de STZ en cualquier etapa, serán mayores en el paradigma de CnR vs. CR.

#### **Comparación entre modelos:**

Los efectos sobre la proceptividad, la receptividad y las conductas agresivas dados por la administración de STZ serán mayores en el modelo de administración en etapa adulta que en etapa neonatal, en cualquiera de los paradigmas (CnR vs. CR).

#### **IV. Objetivo General**

Evaluar la conducta sexual de la rata hembra en dos modelos de hiperglucemia, bajo las condiciones de cópula no regulada por la hembra (CnR) y de cópula regulada por la hembra (CR).

##### **4.1 Objetivos específicos**

- a. Evaluar las conductas proceptivas, receptivas y agresivas de la rata hembra ovariectomizada tratada con estradiol y progesterona en un modelo de hiperglucemia inducida por la administración de STZ en la etapa adulta en condiciones de CnR y de CR.
- b. Determinar si la administración periférica de insulina revierte los efectos que ocurren como consecuencia de la administración de STZ en la etapa adulta sobre la conducta sexual femenina en condiciones de CnR.
- c. Evaluar las conductas proceptivas, receptivas y agresivas de la rata hembra ovariectomizada tratada con estradiol y progesterona en un modelo de hiperglucemia inducida por la administración de STZ en la etapa neonatal en condiciones de CnR y CR.
- d. Evaluar las conductas proceptivas, receptivas y agresivas de la rata hembra intacta con hiperglucemia inducida por la administración de STZ en etapa neonatal en condiciones de CnR.
- e. Comparar la conducta sexual y la agresión de las hembras tratadas con STZ en etapa neonatal o en la etapa adulta y en condiciones de CnR y CR.

## **V. Materiales y métodos**

### **5.1 Sujetos experimentales**

Para el modelo de hiperglucemia inducida en la etapa adulta se utilizaron ratas hembra de la cepa Wistar adultas de 250-300 g, mientras que para el modelo de hiperglucemia inducida en la etapa neonatal se utilizaron ratas hembra neonatas (3-4 días) de la cepa Wistar. Todos los animales fueron alojados en condiciones controladas con ciclo de luz invertido de 12 horas de luz / 12 horas de oscuridad (inicio fase de luz 22:00h), a una temperatura de 22-24° C, con alimento y agua *ad libitum*. El manejo de los animales se realizó de acuerdo a lo descrito en la NOM-062-ZOO-1999 y por el Comité Interno para el Cuidado y Uso de los animales de laboratorio (CICUAL) del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN.

### **5.2 Pruebas de conducta sexual**

#### **5.2.1 Cópula no regulada por la hembra (CnR)**

Se administraron a ratas ovariectomizadas (OVX) 10 µg de benzoato de estradiol (BE) 24 h antes de la prueba de conducta sexual y 3 mg de progesterona 4 horas previas a ella para inducir las conductas proceptivas y receptivas. Estas dosis y esquema de tratamiento se eligieron de acuerdo con datos previos de nuestro laboratorio (García-Cárdenas, Olvera-Hernández, Gómez-Quintanar, & Fernández-Guasti, 2015; Olvera-Hernández, Chavira, & Fernández-Guasti, 2015). La rata hembra fue habituada en un redondel durante 5 minutos; posteriormente se colocó a un macho sexualmente experto y se permitió la libre interacción hasta que la hembra recibió 10 montas/intromisiones. Las pruebas fueron videograbadas para poder ser observadas con detalle posteriormente. Para evaluar la receptividad se determinó el cociente de lordosis (LQ, por sus siglas en inglés, el cual fue calculado dividiendo el número de lordosis/ número de montas X 100) y la intensidad de la lordosis (IL) utilizando una escala arbitraria de 0-3 (Ballester et al., 2007) (0=no se presenta dorsiflexión, 1=lordosis superficial, 2=dorsiflexión definida de la columna vertebral, 3=lordosis exagerada [se presenta una elevación muy marcada de cabeza y grupa, acompañada de una elevación de las patas delanteras]) (Coopersmith et al., 1996). Además, se cuantificó el número de eventos de conductas proceptivas (brincoteo/zig-zagueo y orejeo) y el número de eventos de conductas agresivas (boxing, defensa lateral y mordidas) (Madlafousek & Hlinak, 2012).

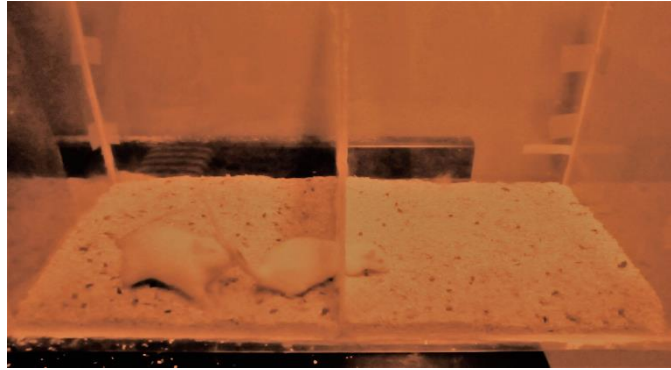


**Imagen 1. Arena circular utilizada en la cópula no regulada por la hembra.**

### **5.2.2 Cópula regulada por la hembra (CR)**

Para inducir las conductas proceptivas y receptivas se administró a ratas OVX estradiol y progesterona como se describió en la sección anterior. Para este paradigma la rata hembra fue colocada en una caja transparente bicompartimental (38x75x45 cm), como se reportó previamente (Ventura-Aquino & Fernandez-Guasti, 2013) (imagen 2). La rata hembra fue habituada a la caja durante 5 minutos; posteriormente se colocó a un macho sexualmente experto y se permitió la libre interacción durante 1h. Las pruebas fueron videograbadas y analizadas posteriormente.

Se registraron las conductas proceptivas, receptivas y agresivas desplegadas en ambos compartimentos. Adicionalmente, en este paradigma se cuantificó el tiempo de interacción de la hembra con el macho (es decir, tiempo en el que la hembra y el macho interactuaban de manera social y sexual), así como el tiempo que la hembra permaneció en cada compartimento. También se calcularon las latencias de retorno y los porcentajes de salida (expresado como el número de hembras que presentaron una salida después del contacto sexual entre el número total de hembras evaluadas x 100) después de que la hembra recibiera montas (LRPM: latencia de retorno post monta y %SPM: porcentaje de salida post monta), intromisiones (LRPI: latencia de retorno post intromisión y %SPI: porcentaje de salida post intromisión) o eyaculaciones (LRPE: latencia de retorno post eyaculación y %SPE: porcentaje de salida post eyaculación).



**Imagen 2. Arena bicompartimental utilizada en la cópula regulada por la hembra**

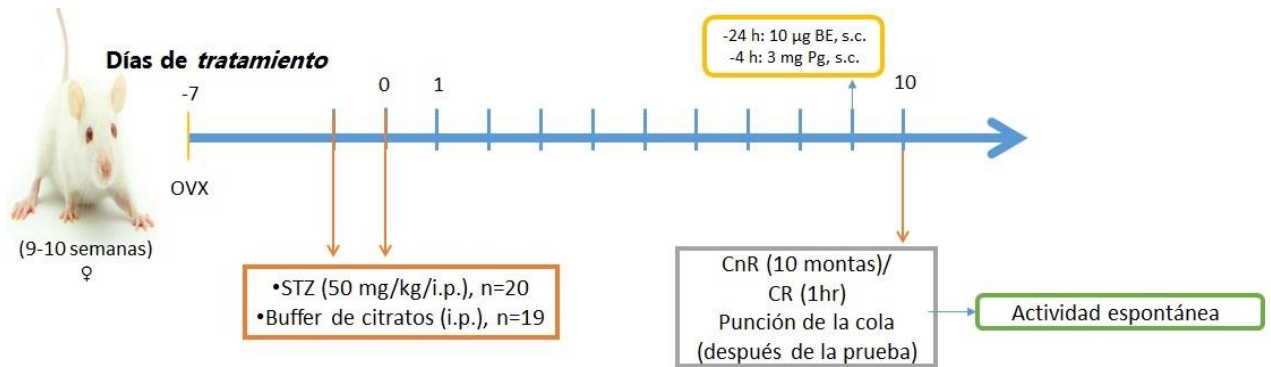
Para la comparación entre paradigmas sólo se tomaron en cuenta las primeras 10 montas/ intromisiones que realizó el macho durante la prueba, ya que en el paradigma de CnR se usó ese criterio. Todas las pruebas se realizaron entre las 13:00-15:00 h.

### **5.3 Diseño experimental**

#### **5.3.1 Administración de STZ a ratas en la etapa adulta**

Para este modelo se utilizaron ratas Wistar hembra de 250-300 g, las cuales fueron ovariectomizadas bilateralmente bajo anestesia con 2,2,2 tribromoetanol al 2 % (i.p.). Siete días después de la cirugía se les administró STZ por vía intraperitoneal (i.p.) 100 mg/kg diluida en buffer de citratos 0.1 M, pH= 4.8. Esta dosis fue administrada en 2 días consecutivos, dividida en 50 mg/kg/día ó 0.1 M de buffer de citratos para el grupo control, como fue descrito con anterioridad (Rebolledo-Solleiro, Crespo-Ramirez, Roldán-Roldán, Hiriart, & Perez de la Mora, 2013). La prueba de conducta sexual se realizó 10 días después de la administración del fármaco (esquema 1) y siguiendo el esquema de administración de hormonas esteroideas antes mencionado. Después de la prueba de conducta sexual se evaluaron los niveles de glucosa plasmática con un glucómetro (Accu-Check performa) tomando una gota de sangre mediante punción de la punta de la cola del animal. Aquellos animales con niveles de glucosa plasmática mayores a 300 mg/dl se consideraron hiperglucémicos.





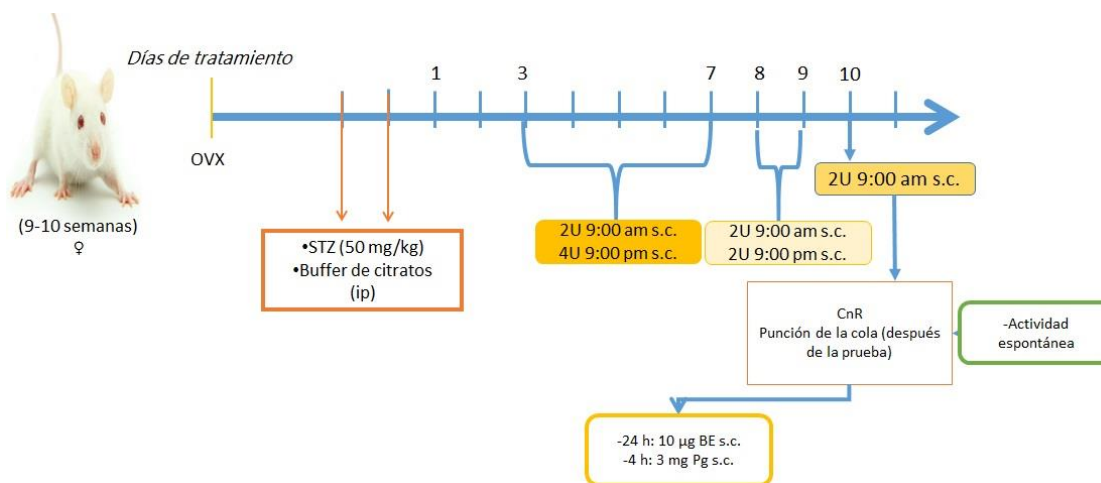
**Esquema 1. Diseño experimental para el modelo de administración de STZ en etapa adulta.** (OVX= ovariectomía, CnR= cópula no regulada por la hembra, CR= cópula regulada por la hembra, i.p. intraperitoneal, s.c. subcutáneo).

### 5.3.2 Administración periférica de insulina

La insulina se administró a un grupo de ratas OVX tratadas con STZ en la etapa adulta para analizar si esta hormona revertía los efectos sobre la cópula inducidos por la hiperglucemia en el paradigma de CnR.

Para ello, modificando el esquema de administración utilizado por el grupo Karkanias (6-7U de insulina ultralenta, s.c. por 8 días) (Karkanias et al., 1997), se hicieron distintas pruebas piloto utilizando insulina glargina (Cronix, PiSA Laboratories, Mexico) por vía subcutánea. En el primer ensayo, se administraron 4U de insulina glargina y se registraron los valores de glucosa plasmática cada 2 h durante 12 h, (la curva dosis-respuesta se presenta en el anexo a, figura 31). Posteriormente, se realizó un curso temporal de los valores de glucosa en sangre después de administrar 2U de glargina (ver anexo b, figura 32). Estos dos ensayos nos permitieron determinar que el efecto antihiperglucemiante se perdía a las 12h y que en las primeras horas después de la administración de 4U de glargina los animales presentaban hipoglucemia (ver anexo c, figura 33). Con base en estas observaciones, decidimos iniciar la restitución con insulina glargina dos días después de la última administración de STZ, con un esquema de administración 12/12 h de la siguiente forma: 2U a las 9:00 am y 4U a las 9:00 pm durante 6 días consecutivos (esquema 2). Además, para evitar que los animales presentaran valores de glucosa en sangre por debajo del rango normal, el día 7 se administraron 2U a las 9:00 am y 2U a las 9:00 pm. Finalmente, en el octavo día se administraron 2U de insulina a las 9 am y 4-5 h después se realizó la prueba de conducta sexual tras la administración de hormonas sexuales

exógenas, como se describió previamente. Sólo las hembras que presentaron valores de glucemia normales (70-100 mg/dl) se incluyeron en el análisis.



**Esquema 2. Diseño experimental para el modelo de administración de STZ en etapa adulta con restitución de insulina periférica.** (OVX= ovariectomía, CnR= cópula no regulada por la hembra, i.p. intraperitoneal).

### 5.3.3 Administración de STZ a ratas en etapa neonatal

Ratas hembra de la cepa Wistar neonatas (3-4 días) se distribuyeron de forma aleatoria para formar 2 grupos a los que se les administró por vía intraperitoneal una dosis única de buffer de citratos 0.1M, pH=4.5 (grupo control) o de STZ (70 mg/kg) disuelta en buffer de citratos (i.p.), como ha sido descrito previamente (Oidor-Chan et al., 2016). Se registró el peso corporal de manera semanal hasta el término del experimento.

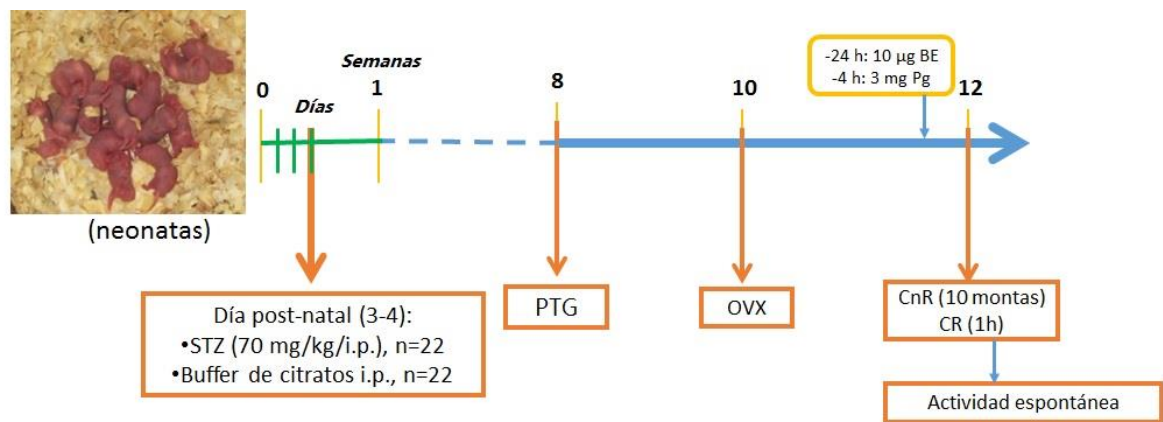
### 5.3.4 Prueba de tolerancia a la glucosa

Esta prueba se realizó después de 8 semanas de la administración neonatal de buffer o STZ. Antes de llevar a cabo este procedimiento, los animales fueron habituados durante 4 días a la manipulación necesaria para introducir la cánula intragástrica. En el quinto día, se midió la glucosa basal (tomando una gota de sangre de la punta de la cola del animal mediante punción) con un glucómetro (Accu-Check performa) en ayuno. Las ratas fueron pesadas y se les administró 2 g/kg de sacarosa disuelta en agua por vía oral. Se midieron los niveles plasmáticos de glucosa 30, 60, 90, 120 y 180 minutos después de la administración de la solución de sacarosa.

Se consideraron hiperglucémicos aquellos animales que presentaron niveles plasmáticos de glucosa mayores a 250 mg/dl tras 30 ó 60 minutos de la administración de sacarosa.

### 5.3.5 Pruebas de conducta sexual en ratas a las que se les administró STZ en etapa neonatal

Para el modelo de administración de STZ en etapa neonatal, 10 semanas posteriores a la administración de buffer de citratos o de STZ (esquema 2) los animales fueron ovariectomizados bilateralmente y 2 semanas después de la cirugía se realizó la prueba de conducta sexual, como se muestra en el esquema 3. Todas las pruebas de conducta se realizaron entre las 13:00-15:00h.



**Esquema 3. Diseño experimental para el modelo de administración de STZ en etapa neonatal.** (PTG= prueba de tolerancia a la glucosa, OVX= ovariectomía, CnR= cópula no regulada por la hembra, CR= cópula regulada por la hembra).

### 5.3.6 Seguimiento del ciclo estral

En otro grupo de animales, se evaluó la conducta sexual de ratas intactas, adultas, administradas con STZ en etapa neonatal, siguiendo el protocolo antes descrito. Para ello a partir de la semana 10 de vida y hasta la semana 12 se determinó por frotis vaginal la fase del ciclo estral. Se insertó gentilmente la punta de un gotero con solución salina (NaCl 0.9%) en la vagina de la rata; la secreción vaginal se recolectó en un portaobjetos y se observó la citología en el microscopio de luz con el objetivo 10X para determinar la fase del ciclo estral.

En la semana 12 de vida, cuando las hembras se encontraron en la fase de proestro, se realizó la prueba de conducta sexual (CnR), como se describió anteriormente.

### **5.3.7 Actividad ambulatoria espontánea**

Para determinar posibles efectos inespecíficos de los fármacos utilizados se realizó una prueba actividad locomotora espontánea en los animales, inmediatamente después de la prueba de conducta sexual. Para ello se colocó a la rata en un actímetro de sensor infrarrojo (Panlab, modelo LE 8825), el cual registró los movimientos realizados por el animal (actividad ambulatoria, movimientos estereotipados y erguimientos) durante 5 minutos. Al término de cada ensayo, la caja se limpió con alcohol al 70%.

### **5.3.8 Análisis estadístico**

Los datos se analizaron utilizando el software GraphPad 6.0. Los resultados se presentan como la media  $\pm$  el error estándar de la media (EEM). Para la comparación de datos cuya distribución fue normal se utilizó una prueba de t-Student (peso, glucosa plasmática y tiempos). Para los datos cuya distribución no siguió una curva normal (datos conductuales) se utilizó la prueba no paramétrica, U de Mann-Whitney y, en el caso del experimento de restitución de insulina, se utilizó una prueba de análisis de varianza (ANOVA) de Kruskal-Wallis, seguido de la prueba de Dunn para comparaciones múltiples. Para la comparación entre grupos en la prueba de tolerancia a la glucosa y en el aumento de peso corporal a lo largo de doce semanas, se utilizó un ANOVA de dos vías de medidas repetidas, seguido de la prueba de Holm-Sidak. Los porcentajes de hembras que desplegaron las conductas proceptivas se analizaron mediante la prueba exacta de Fisher. Finalmente, para analizar la diferencia entre los dos modelos de hiperglucemia y los dos paradigmas de conducta sexual se realizaron análisis de varianza de dos vías, seguidos de la prueba de Tukey. Se consideró una diferencia significativa cuando  $p < 0.05$ .

## VI. Resultados

### 6.1 HIPERGLUCEMIA INDUCIDA EN LA ETAPA ADULTA.

#### 6.1.1 Peso corporal y niveles de glucosa plasmática.

Utilizando el modelo de administración de STZ en la etapa adulta pudimos observar que en el grupo tratado con STZ se presentó una pérdida de peso de aproximadamente 4 g en comparación con el grupo control, que mostró una ganancia de peso de alrededor de 37 g durante el tiempo de tratamiento ( $t=5.872$ ,  $p<0.0001$ ). Por otro lado, los niveles de glucosa plasmática mostraron un incremento estadísticamente significativo a consecuencia del tratamiento con STZ ( $t=18.59$ ,  $p<0.001$ ) al ser comparado con el grupo tratado con el vehículo (tabla 2).

	<b>Ganancia de peso (g)</b>	<b>Glucosa plasmática (mg/dl)</b>
<b>Buffer</b>	36.92 $\pm$ 4.17	100.3 $\pm$ 3.72
<b>STZ</b>	-3.70 $\pm$ 4.72 <sup>a</sup>	488.1 $\pm$ 20.78 <sup>a</sup>

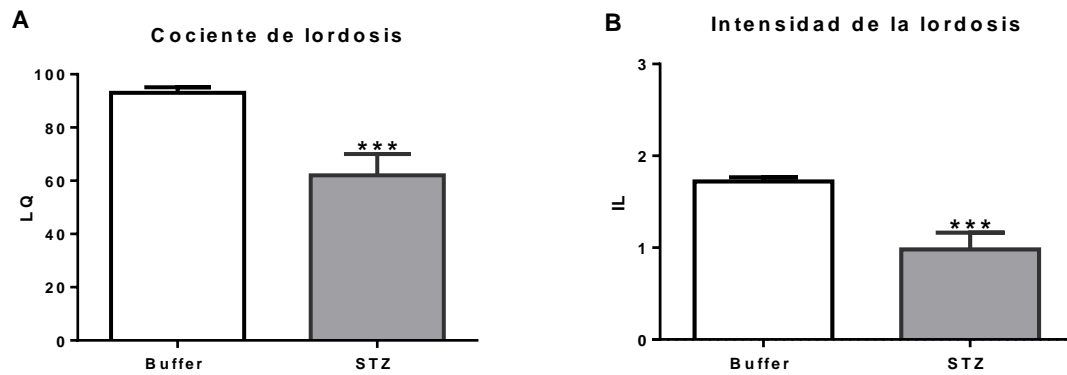
**Tabla 2. Ganancia de peso y niveles de glucosa plasmática de ratas hembra tras 10 días de la administración de buffer o STZ en la etapa adulta (Buffer n=19, STZ n=20).** La ganancia de peso es expresada como la diferencia de peso inicial y el peso a término del experimento. La glucosa plasmática se determinó después de la prueba de conducta sexual. Se presenta la media  $\pm$  EEM, <sup>a</sup>  $p<0.001$  vs. grupo tratado con buffer, utilizando una prueba de t-Student de dos colas, no pareada.

#### ✓ **Conducta sexual femenina**

#### 6.1.2 Cópula no regulada por la hembra (ratas OVX)

##### a) Receptividad

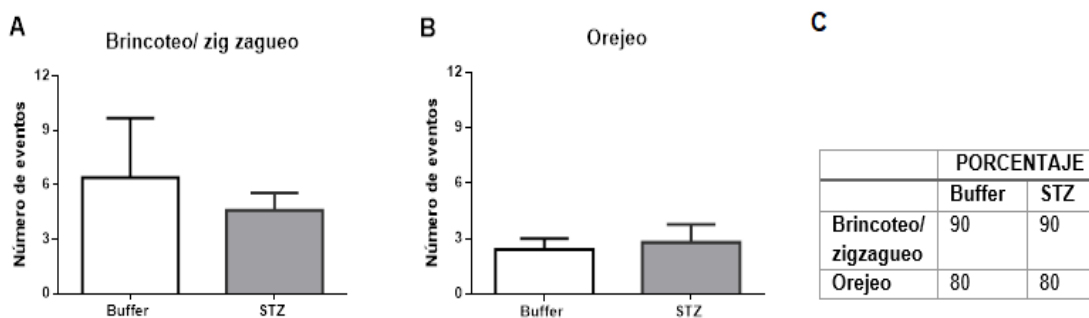
La figura 1 muestra los parámetros de receptividad sexual presentados por las hembras tratadas con STZ en etapa adulta evaluadas en el paradigma de CnR. El LQ (panel A) y la IL (panel B) presentaron una disminución estadísticamente significativa respecto al grupo tratado con buffer (LQ:  $U=9$ ,  $p=0.008$ , LI:  $U=9.5$ ,  $p=0.009$ ).



**Figura 1. Receptividad sexual presentada por ratas OVX en la condición de CnR, en el modelo de administración de STZ en la etapa adulta (buffer n=10, STZ n=10). A) LQ (cociente de lordosis) = (# lordosis/ #montas) X 100. B) IL (intensidad de la lordosis).** Las barras representan la media ± EEM, \*\*\*p< 0.001 vs. grupo tratado con buffer utilizando una prueba U de Mann-Whitney.

b) Proceptividad

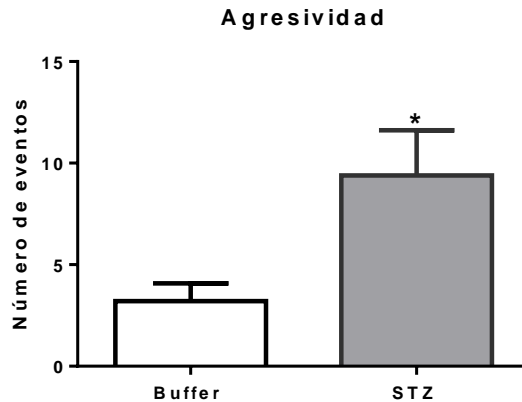
Los resultados obtenidos en el paradigma de CnR (fig. 2), muestran que no hubo cambios estadísticamente significativos en las conductas proceptivas (brincoteo/ zigzagueo: U=30, p=0.14, orejeo: U=48, p=0.90), ni en el porcentaje de hembras que desplegó alguna de estas conductas, panel C (Brincoteo/zigzagueo: buffer 90% vs. STZ 90% p=1 y orejeo: buffer 80% vs. STZ 80% p=1, utilizando F Fisher).



**Figura 2. Conductas proceptivas presentadas por ratas OVX en la condición de CnR, en el modelo de administración de STZ en la etapa adulta (buffer n=10, STZ n=10). A) Brincoteo-zigzagueo. B) Orejeo.** Las barras representan la media ± EEM. Para la comparación entre grupos se utilizó U de Mann-Whitney. **C) Porcentaje de hembras que despliegan conductas proceptivas.** Para la comparación entre grupos se utilizó F Fisher.

c) Conductas agresivas

La administración de STZ en etapa adulta produjo un aumento significativo ( $U=17.00$ ,  $p=0.05$ ) en el número de conductas agresivas durante de la cópula (fig. 3) en el paradigma de CnR.

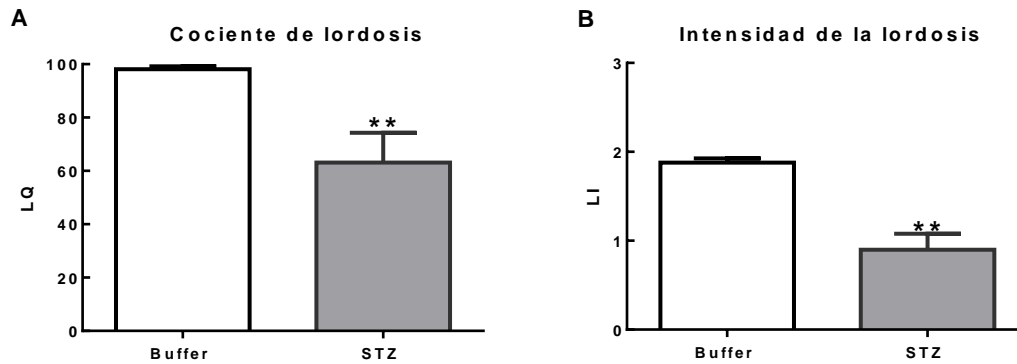


**Figura 3. Conductas agresivas presentadas por las hembras OVX en la condición de CnR, en el modelo de administración de STZ en la etapa adulta (buffer n=10, STZ n=10).** Las barras representan la media  $\pm$  EEM, \* $p < 0.05$  vs. grupo control utilizando U de Mann-Whitney.

### 6.1.3 Cópula regulada por la hembra (ratas OVX)

a) Receptividad

La figura 4 muestra que en las hembras tratadas con STZ en la etapa adulta hubo una disminución significativa en el cociente de lordosis ( $U=3$ ,  $p=0.005$ ) y la intensidad de la lordosis ( $U=3$ ,  $p=0.005$ ) en comparación con el grupo buffer.

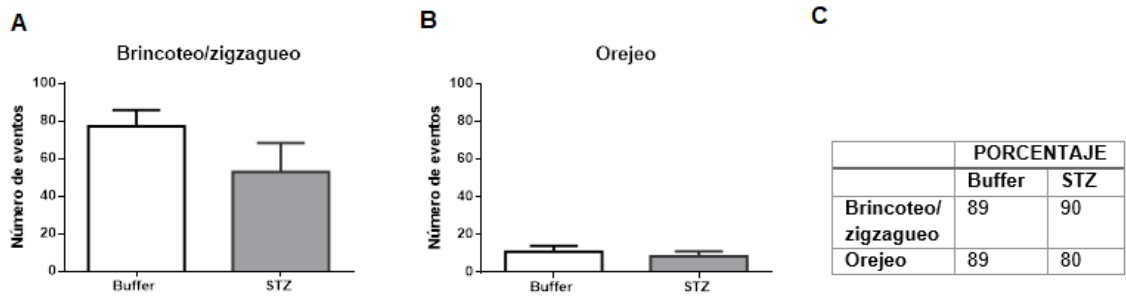


**Figura 4. Receptividad presentada por ratas OVX en la condición de CR, en el modelo de administración de STZ en la etapa adulta (buffer n=9, STZ n=10). A) LQ (cociente de lordosis) = (# lordosis/ #montas) X 100. B) IL (intensidad de la lordosis). Las barras representan la media  $\pm$  EEM, \*\*p<0.01 vs. grupo tratado con buffer utilizando U de Mann-Whitney.**

#### b) Proceptividad

El análisis de conductas proceptivas mostradas por las hembras OVX en el paradigma de CR (fig. 5), utilizando el modelo de administración de STZ en etapa adulta, no se encontraron cambios estadísticamente significativos en el número de eventos presentados a lo largo de la cópula en las ratas hiperglucémicas (brincoteo/ zigzaguo: U=25, p=0.11, orejeo: U=37.5, p=0.56). El porcentaje de hembras que desplegó las conductas proceptivas (brincoteo/zigzaguo: buffer 89% vs. STZ 90% p=1, y orejeo: buffer 89% vs. STZ 90% p=1, prueba de Fisher) con respecto al grupo buffer tampoco mostró diferencias significativas al ser comparadas con su grupo control.

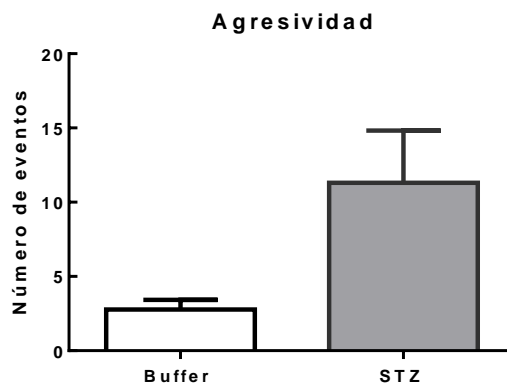




**Figura 5. Conductas proceptivas presentadas por ratas OVX en la condición de CR, en el modelo de administración de STZ en la etapa adulta (buffer n=9, STZ n=10). A) Brincoteo-zigzagado. B) orejeo.** Las barras representan la media  $\pm$  EEM, para la comparación entre grupos se utilizó U de Mann-Whitney. **C) Porcentaje de hembras que despliegan conductas proceptivas.** Para la comparación entre grupos se utilizó F Fisher.

c) Conductas agresivas

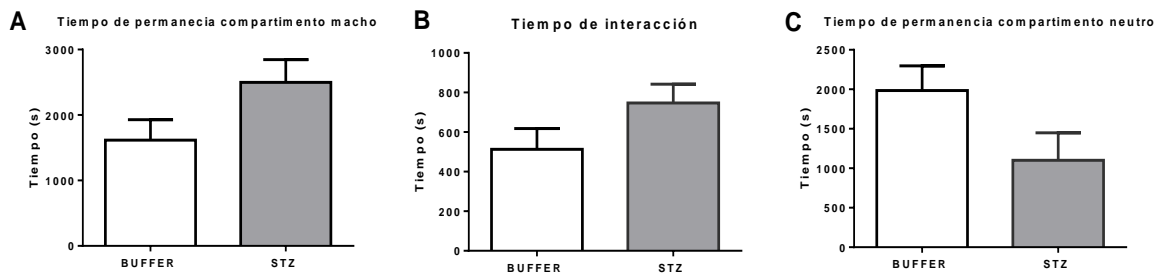
Al comparar las conductas agresivas mostradas a lo largo de la prueba de CR por el grupo control y las ratas tratadas con STZ en etapa adulta, podemos observar (fig. 6) que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el número de eventos agresivos ( $U=25$ ,  $p=0.10$ ). Sin embargo, se observa una tendencia al aumento en el número de estas conductas en animales tratados con STZ.



**Figura 6. Conductas agresivas presentadas por las ratas OVX, tratadas con STZ en la etapa adulta (buffer n=9, STZ n=10) en la condición de CR.** Las barras representan la media  $\pm$  EEM. Para la comparación entre grupos se utilizó U de Mann-Whitney.

d) Tiempo de permanencia en cada compartimento

La figura 7 muestra la evaluación del tiempo de permanencia de las ratas hembra en cada uno de los compartimentos y el tiempo de interacción con el macho en el paradigma de CR. No se encontraron cambios entre los grupos experimentales en el tiempo que pasan las hembras en el compartimento neutro ( $U=24$ ,  $p=0.09$ ), en el compartimento en donde se encuentra el macho ( $U=24$ ,  $p=0.09$ ), ni en el tiempo de interacción ( $U=23$ ,  $p=0.08$ ) (Figura 7).



**Figura 7. Tiempo de permanencia de ratas OVX en los dos compartimentos en la prueba de CR, en el modelo de administración de STZ en la etapa adulta (buffer n=9, STZ n=10). A) tiempo que permanece la hembra en el compartimento donde se encuentra el macho. B) tiempo de interacción socio sexual hembra-macho. C) tiempo que permanece la hembra en el compartimento neutro. Las barras representan la media  $\pm$  EEM. Para la comparación entre grupos se utilizó t-Student.**

e) Componentes sensorial y motivacional de la cópula

En el grupo tratado con STZ en la etapa adulta, no fue posible calcular los porcentajes de salida y las latencias de retorno después de la estimulación. Estas hembras no salieron del compartimento del macho después de recibir una monta y sólo 2 de las 10 ratas evaluadas salieron del compartimento después de recibir una intromisión. Además, debido a los bajos niveles de receptividad sólo 1 de 10 hembras recibió una eyaculación, lo cual impidió calcular los porcentajes de salida post intromisión y post eyaculación.

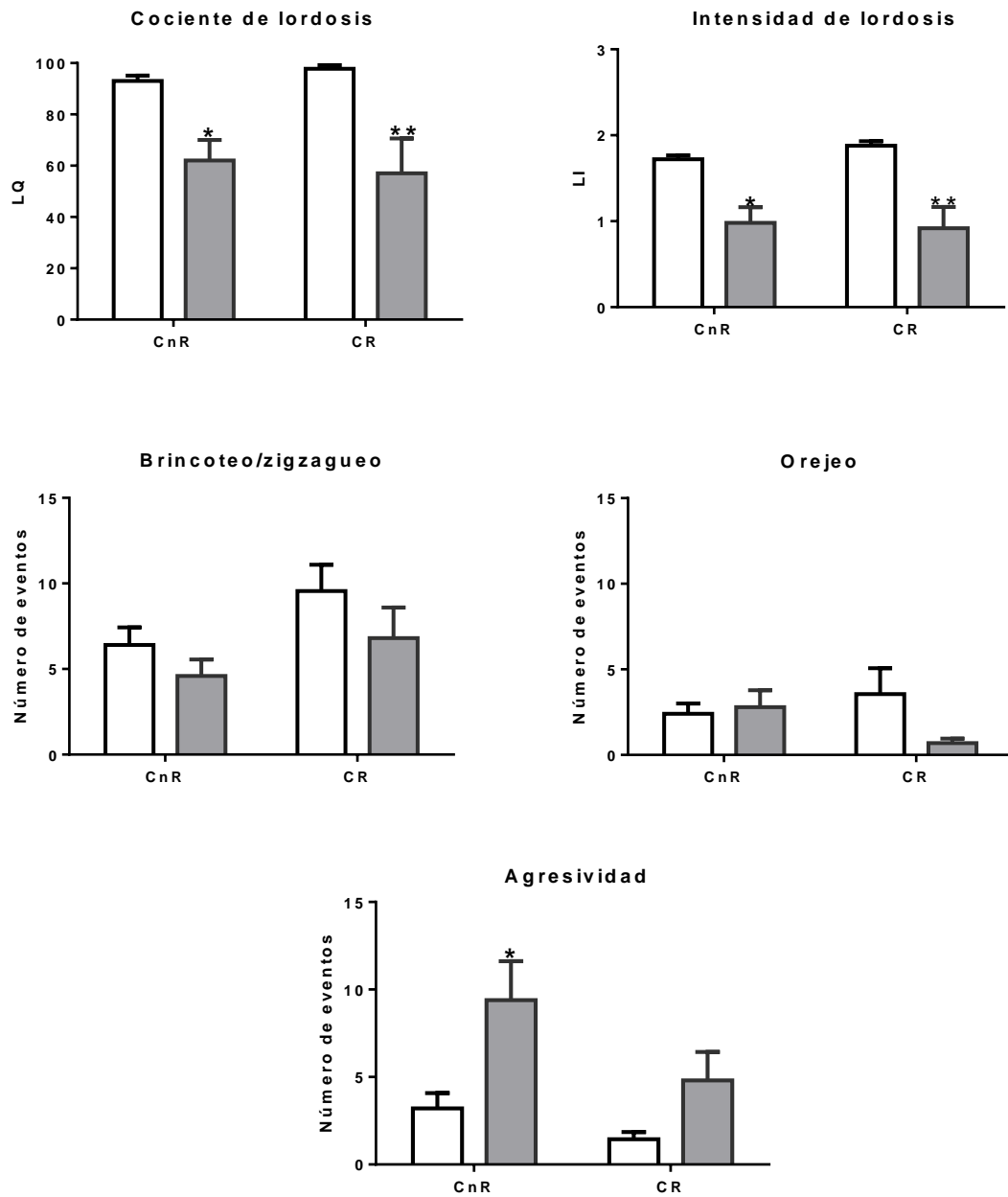
#### **6.1.4 Comparación de la conducta sexual femenina presentada en los paradigmas CnR vs. CR (10 montas) utilizando el modelo de administración de STZ en etapa adulta.**

Como se mencionó con anterioridad, para poder realizar la comparación entre los paradigmas de CnR vs. CR se consideraron únicamente las primeras 10 montas realizadas por el macho a lo largo de la prueba, la cual, tuvo una duración total de 1 hora para la CR.

En la figura 8 se presenta la comparación entre las conductas observadas en el paradigma de CnR vs. CR. Como se puede observar, existe una diferencia estadísticamente significativa en la receptividad: LQ (tratamiento:  $F_{(1,35)}=9.12$ ,  $p=0.0001$ , paradigma  $F_{(1,35)}=0.0001$ ,  $p=0.98$ , interacción entre ambos factores:  $F_{(1,35)}=0.35$ ,  $p=0.55$ ) e IL (tratamiento:  $F_{(1,35)}=27.62$ ,  $p<0.001$ , paradigma  $F_{(1,35)}=0.09$ ,  $p=0.76$ , interacción entre ambos factores:  $F_{(1,35)}=0.45$ ,  $p=0.50$ ) presentada por los animales tratados con STZ en la CnR y en la CR. Sin embargo, en ambos casos el efecto fue sólo en el factor tratamiento y no existieron diferencias dadas por el paradigma, ni en la interacción entre factores.

Asimismo, no se observan cambios estadísticamente significativos en las conductas proceptivas desplegadas por ambos grupos experimentales en ninguno de los paradigmas utilizados (brincoteo/zigzagado tratamiento:  $F_{(1,35)}=2.78$ ,  $p=0.10$ , paradigma  $F_{(1,35)}=3.84$ ,  $p=0.06$ , interacción entre ambos factores:  $F_{(1,35)}=0.12$ ,  $p=0.73$  y orejeo tratamiento:  $F_{(1,35)}=1.78$ ,  $p=0.19$ , paradigma  $F_{(1,35)}=0.26$ ,  $p=0.61$ , interacción entre ambos factores:  $F_{(1,35)}=3.13$ ,  $p=0.09$ ).

Finalmente, se presentó un aumento estadísticamente significativo en el número de eventos agresivos presentados por el grupo tratado con STZ únicamente en el paradigma de CnR (tratamiento:  $F_{(1,35)}=10.18$ ,  $p=0.003$ , paradigma:  $F_{(1,35)}=4.50$ ,  $p=0.04$ , interacción entre ambos factores:  $F_{(1,35)}=0.90$ ,  $p=0.35$ ). En este caso sí hubo una diferencia significativa en el factor paradigma que, sin embargo, no se reflejó en una interacción entre factores.



**Figura 8. Análisis comparativo de la conducta sexual mostrada por ratas OVX en el modelo de administración de STZ en la etapa adulta en los paradigmas de CnR (buffer n=10, STZ n= 10) y CR (buffer n=9, STZ n=10). Las barras representan la media  $\pm$  EEM. \* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$  utilizando ANOVA de dos vías seguido de la prueba Tukey.**

### **6.1.5 Conducta sexual femenina de ratas tratadas con STZ en la etapa adulta y restituidas con insulina glargina.**

#### ✓ **Peso corporal y niveles de glucosa plasmática.**

Como se muestra en la tabla 3, las ratas tratadas con STZ en etapa adulta y restituidas con insulina glargina mostraron una pérdida de peso corporal, al igual que el grupo de animales hiperglucémicos, al ser comparados con el grupo administrado con buffer. Sin embargo, el día de las pruebas conductuales, los niveles de glucosa plasmática en el grupo experimental que recibió la administración sub crónica de insulina exógena fueron menores de los del grupo que no recibió la hormona, y fueron comparables a los del rango normal del grupo control ( $F_{(2,43)}=236.8$ ,  $p<0.0001$ ).

	<b>Ganancia de peso (g)</b>	<b>Glucosa plasmática (mg/dl)</b>
<b>Buffer</b>	36.92 ±4.17	100.3 ±3.72
<b>STZ</b>	-3.70 ±4.72 <sup>a</sup>	488.1 ±20.78 <sup>a</sup>
<b>STZ + glargina</b>	-15.38 ± 5.75 <sup>a</sup>	84.3 ±4 <sup>b</sup>

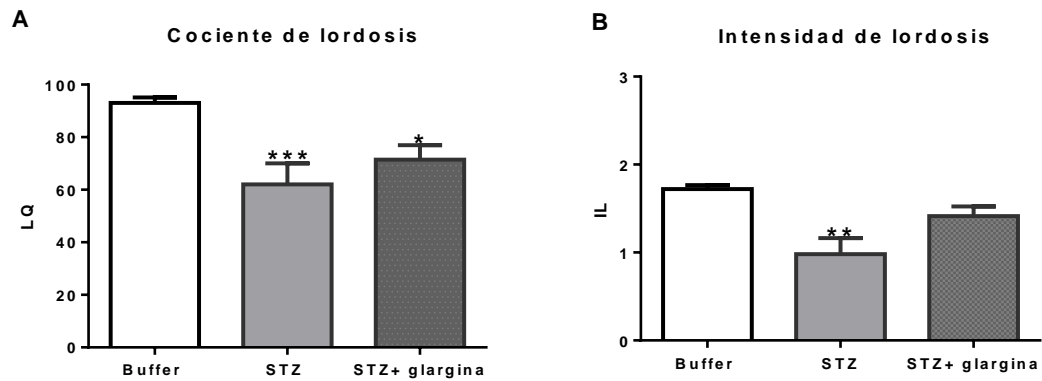
**Tabla 3. Ganancia de peso y niveles de glucosa plasmática tras 10 días de la administración de buffer, STZ, o STZ + glargina en la etapa adulta (Buffer n=10, STZ n=10, STZ+glargina n=9.** La ganancia de peso es expresada como la diferencia de peso inicial y el peso al término del experimento. La glucosa plasmática se determinó después de la prueba de conducta sexual. Se presenta la media ± EEM, <sup>a</sup>  $p<0.001$  vs. grupo tratado con buffer, <sup>b</sup>  $p<0.0001$  vs. grupo tratado con STZ utilizando ANOVA de una vía de Kruskal Wallis seguido de la prueba de Dunn para comparaciones múltiples.

#### ✓ **Conducta sexual femenina**

### **6.1.6 Cópula no regulada por la hembra (ratas OVX)**

#### a) Receptividad

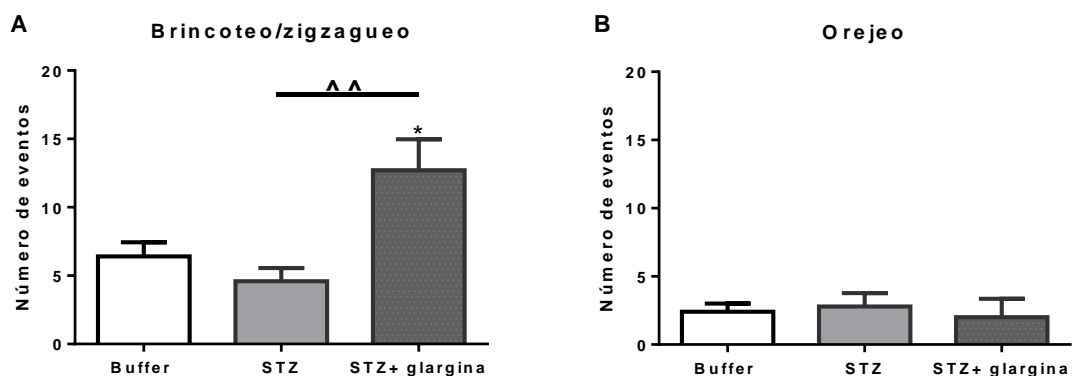
La figura 9 muestra los efectos de la restitución de insulina en los animales tratados con STZ en etapa adulta sobre la conducta sexual. Como se puede observar, el tratamiento con el análogo de insulina no revirtió la reducción en el cociente de lordosis producida por el tratamiento con STZ. Sin embargo, la intensidad de la lordosis en el grupo administrado con glargina fue similar a la presentada por los animales del grupo control.



**Figura 9. Receptividad presentada por ratas OVX en la condición de CnR, tratadas con buffer, STZ o STZ+glargina en la etapa adulta (buffer n=10, STZ n= 10, STZ+glargina n=9). A) LQ (cociente de lordosis)= (# lordosis/ #montas) X 100. B) IL (intensidad de la lordosis). Las barras representan la media ± EEM, \*p<0.05, \*\*p<0.01 y \*\*\*p< 0.001 vs. grupo tratado con buffer, prueba de Dunn para comparaciones múltiples.**

#### b) Proceptividad

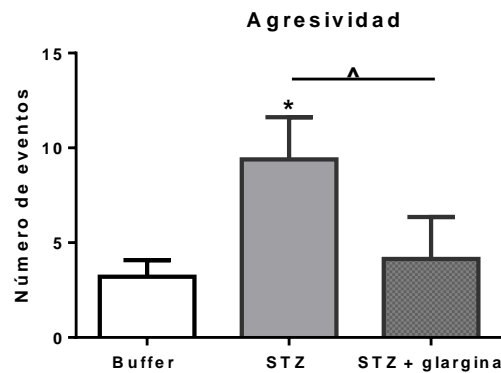
La glargina produjo un incremento significativo en la expresión de las conductas proceptivas del tipo brincoteo/zigzagado respecto del grupo control y del grupo tratado con STZ en la etapa adulta como se muestra en la figura 10 (brincoteo/ zigzagado: H=9.728, p=0.008), sin modificar el número de orejeos presentados por las hembras en la prueba de CnR (orejeo: H=2.23, p=0.33).



**Figura 10. Conductas proceptivas presentadas por ratas OVX en la condición de CnR, tratadas con buffer, STZ o STZ+glargina en la etapa adulta en (buffer n=10, STZ n= 10, STZ+glargina n=9). A) Brincoteo-zigzagado. B) orejeo. Las barras representan la media ± EEM. \*p<0.05 vs. grupo tratado con buffer, ^p<0.01 vs. grupo tratado con STZ, prueba de Dunn para comparaciones múltiples.**

### c) Conductas agresivas

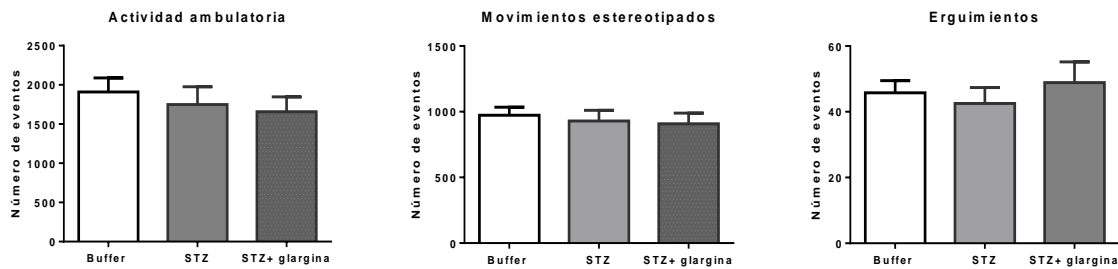
Como se mostró anteriormente, en la sección 6.1.3, las hembras tratadas con STZ en la etapa adulta presentaron un incremento en las conductas agresivas en el paradigma de CnR. La administración exógena de insulina a los animales hiperglucémicos revirtió este incremento produciendo un número de eventos agresivos comparable a los mostrados por los animales control (agresividad:  $H=8.37$ ,  $p=0.01$ ), como se muestra en la figura 11.



**Figura 11. Conductas agresivas presentadas por las ratas hembra OVX tratadas con buffer, STZ o STZ+glargina en la condición de CnR en la etapa adulta (buffer n=10, STZ n= 10, STZ+glargina n=9).** Las barras representan la media  $\pm$  EEM, \* $p < 0.05$  vs. grupo tratado con STZ,  $\Delta p < 0.05$  vs. grupo tratado con STZ, prueba de Dunn para comparaciones múltiples.

### 6.1.7 Actividad ambulatoria espontánea

El análisis estadístico de la actividad ambulatoria espontánea (fig. 12) de las ratas tratadas con STZ en la etapa adulta y aquellas restituidas con insulina glargina mostró que no existen diferencias significativas entre los grupos en ninguno de los criterios evaluados: actividad ambulatoria ( $H=0.88$ ,  $p=0.64$ ), movimientos estereotipados ( $H=0.30$ ,  $p=0.86$ ) y erguimientos ( $H=0.73$ ,  $p=0.70$ ).



**Figura 12. Actividad ambulatoria espontánea de animales OVX, tratados con buffer, STZ o STZ+glargina en la etapa adulta (buffer n=10, STZ n=10, STZ+glargina=9).** Las barras representan la media  $\pm$  EEM, para la comparación entre grupos se utilizó ANOVA de una vía de Kruskal Wallis seguido de la prueba de Dunn para comparaciones múltiples.

## 6.2 HIPERGLUCEMIA INDUCIDA POR LA ADMINISTRACIÓN DE STZ EN LA ETAPA NEONATAL

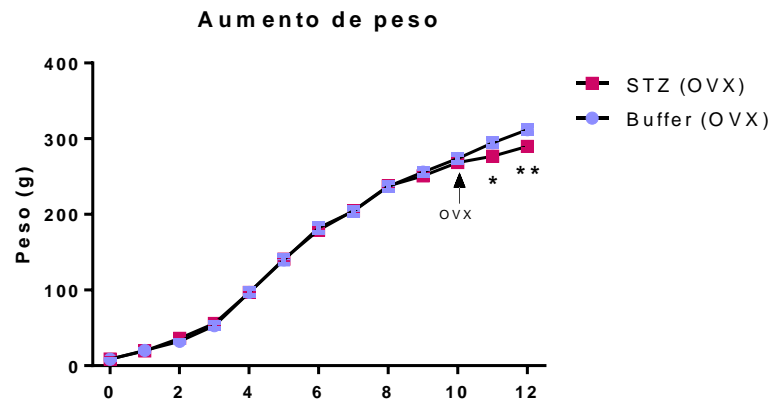
Para determinar si la administración de STZ en la etapa neonatal tenía efectos en el desarrollo de las crías, se evaluó el peso corporal a lo largo de 12 semanas antes de la prueba de conducta sexual. En este diseño experimental sólo se consideraron los animales que presentaron intolerancia a la glucosa a las 8 semanas de vida (valores de glucosa en sangre superiores a los 250 mg/dl). A continuación se muestran los valores obtenidos para ambas determinaciones.

### 6.2.1 Peso corporal y niveles de glucosa plasmática.

#### a) Ganancia de peso corporal semanal

En el modelo de administración de STZ en etapa neonatal el grupo control y el tratado con STZ presentaron un aumento de peso similar a lo largo de las primeras 10 semanas de desarrollo. Después de la ovariectomía, pudimos observar una disminución en la ganancia de peso corporal en los animales tratados con STZ (tratamiento:  $F_{(1,42)}=0.57$ ,  $p=0.45$ , tiempo:  $F_{(12,504)}=3252$ ,  $p<0.0001$ , interacción entre ambos factores:  $F_{(12,504)}=4.26$ ,  $p<0.0001$ ) (ver fig.13).

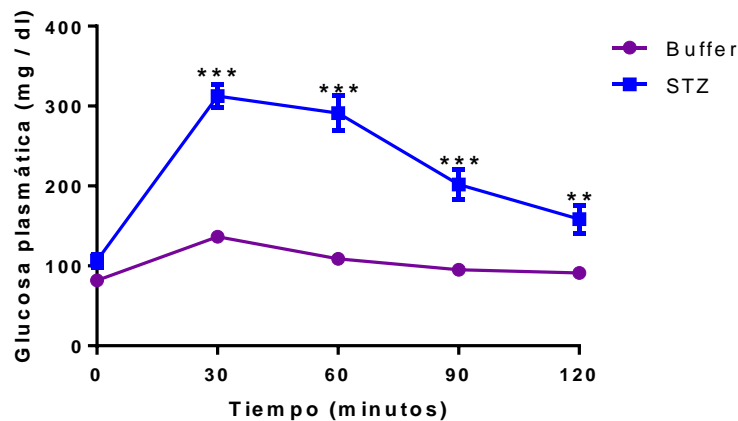




**Figura 13. Curso temporal del aumento de peso de ratas OVX tratados con buffer (n=22) o STZ (n=22) en la etapa neonatal.** Se presenta la media  $\pm$  error estándar de la media (EEM), \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  vs. grupo tratado con buffer, prueba Holm-Sidak. OVX= ovariectomía bilateral.

### b) Prueba de tolerancia a la glucosa

La administración de la solución de sacarosa produjo un aumento significativo de la concentración de glucosa plasmática en ambos grupos, siendo significativamente mayor el aumento en el grupo tratado con STZ en la etapa neonatal a los 30, 60, 90 y 120 min post-carga (tratamiento:  $F_{(1,57)}=52.71$ ,  $p < 0.0001$ ; tiempo:  $F_{(4,228)}=124.5$ ,  $p < 0.0001$ ; interacción entre los dos factores:  $F_{(4,228)}=50.56$ ,  $p < 0.001$ ) en comparación con los controles (Figura 14).



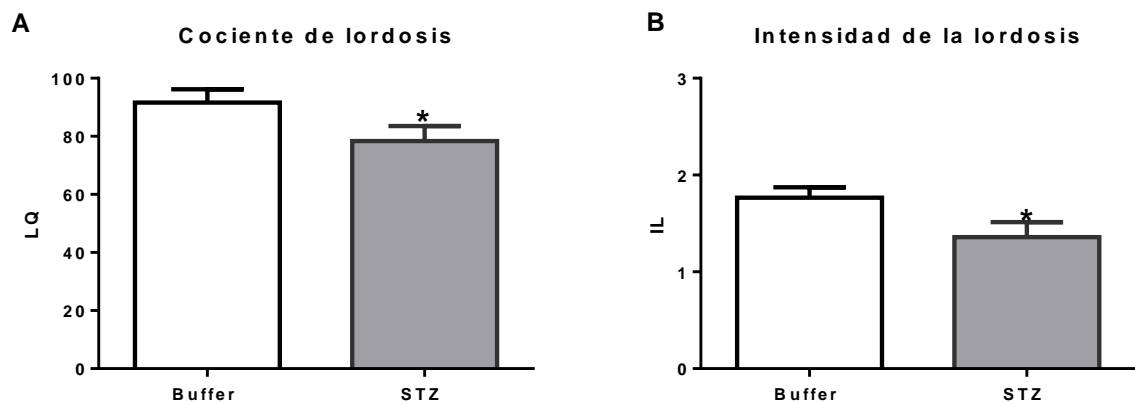
**Figura 14. Curso temporal de las modificaciones en glucosa plasmática tras la administración oral de sacarosa [2 g/kg] en animales OVX tratados con buffer (n=22) o STZ en la etapa neonatal (n=22).** Se presenta la media  $\pm$  EEM, \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$  vs. grupo tratado con buffer, prueba Holm-Sidak.

✓ **Conducta sexual femenina**

**6.2.2 Cópula no regulada por la hembra (ratas OVX)**

a) Receptividad

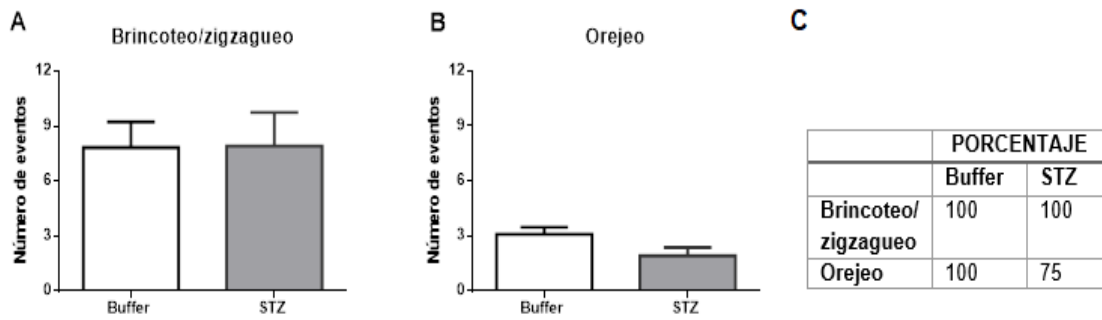
Como se observa en la fig. 15, la receptividad de las ratas tratadas con STZ en la etapa neonatal se encontró disminuida en la prueba de CnR, efecto observado tanto en el LQ ( $p=0.038$ ) (panel A), como en la IL ( $p=0.02$ ) (panel B) al compararse con el grupo tratado con buffer de citratos.



**Figura 15. Receptividad presentada por ratas OVX en la condición de CnR, en el modelo de administración de STZ en la etapa neonatal (buffer n=12, STZ n=12). A) LQ (cociente de lordosis) = (# lordosis/ #montas) X 100. B) IL (intensidad de la lordosis). Las barras representan la media  $\pm$  EEM, \* $p < 0.05$  vs. grupo control utilizando U de Mann-Whitney.**

b) Proceptividad

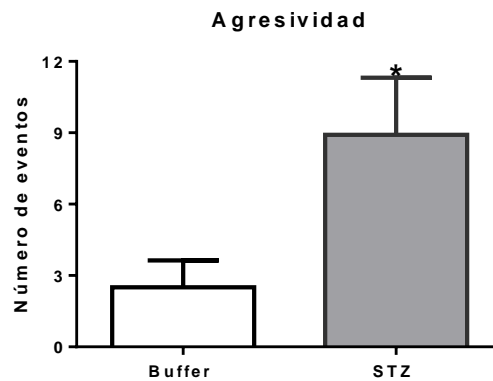
Al evaluar la proceptividad sexual de los animales tratados con STZ en etapa neonatal (fig. 16), no se observaron cambios estadísticamente significativos en ninguna de las conductas registradas: brincoteo/zigzagado ( $U=61.50$ ,  $p=0.56$ ) y orejeo ( $U=41$ ,  $p=0.07$ ), ni en el porcentaje de hembras que desplegaron las conductas (panel C) (brincoteo/zigzagado: buffer 100%, STZ 100%,  $p=1$ , orejeo: buffer 100%, STZ 75%,  $p=0.22$ , prueba de Fisher).



**Figura 16. Conductas proceptivas presentadas por ratas OVX en la condición de CnR, en el modelo de administración de STZ en la etapa neonatal (buffer n=12, STZ n= 12). A) Brincoteo-zigzagado, B) orejeo.** Las barras representan la media ± EEM. Para la comparación entre grupos se utilizó U de Mann-Whitney **C) Porcentaje de hembras que despliegan conductas proceptivas.** Para la comparación entre grupos se utilizó F Fisher.

c) Conductas agresivas

En el paradigma de CnR se registró un aumento significativo de las conductas agresivas ( $U=35$ ,  $p=0.03$ ) en el grupo tratado con STZ etapa neonatal, al compararse con el grupo tratado con buffer (Fig. 17).

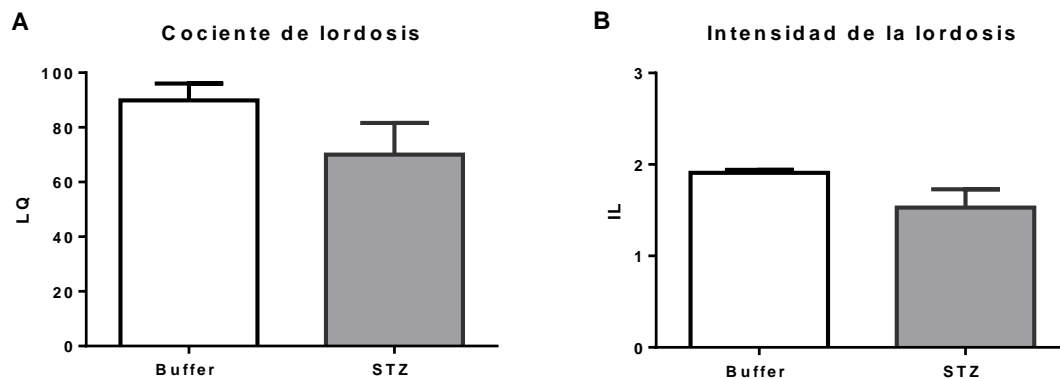


**Figura 17. Conductas agresivas presentadas por la rata hembra OVX en la condición de CnR, en el modelo de administración de STZ en la etapa neonatal (buffer n=12, STZ n=12).** Las barras representan la media ± EEM, \* $p < 0.05$  vs. grupo control utilizando U de Mann-Whitney.

### 6.2.3 Cópula regulada por la hembra (ratas OVX)

#### a) Receptividad

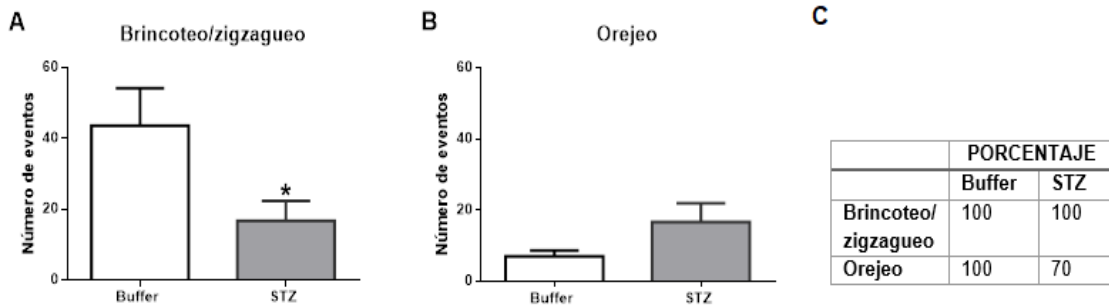
Cuando se evaluó la receptividad sexual (fig. 18) de los animales tratados con STZ en la etapa neonatal en el paradigma en el que la hembra controla el ritmo de la cópula, no observamos cambios estadísticamente significativos en el cociente de lordosis ( $U=35$ ,  $p=0.26$ ), ni en la intensidad de la lordosis ( $U=27$ ,  $p=0.08$ ).



**Figura 18.** Receptividad presentada por las ratas hembra OVX en la condición de CR, en el modelo de administración de STZ en la etapa neonatal (buffer n=10, STZ n=10). A) LQ (cociente de lordosis) = (# lordosis/ # montas) X 100. B) IL (intensidad de la lordosis). Las barras representan la media  $\pm$  EEM, para la comparación entre grupos se utilizó U de Mann-Whitney.

#### b) Proceptividad

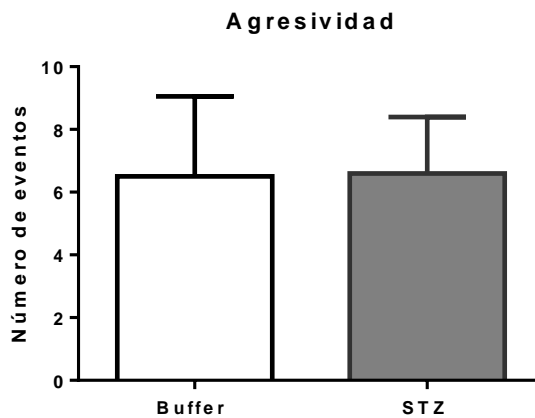
En la figura 19 se presentan las conductas proceptivas desplegadas por la hembra en ambos compartimentos (compartimento donde permanece el macho o el neutro). Como se puede observar, existe una disminución estadísticamente significativa en el número de brincoteos/zigzagues presentados por las hembras tratadas con STZ en etapa neonatal ( $U=23.5$ ,  $p=0.05$ ) al ser comparadas con el grupo control. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos en la conducta de orejeo ( $U=125$ ,  $p=0.92$ ). No existe una diferencia en el porcentaje de hembras que realizan brincoteos (buffer: 100% vs. STZ: 100%,  $p=1$ , prueba de Fisher) y orejeos (buffer: 100% vs. orejeos 70%,  $p=1$ , prueba de Fisher) (panel C).



**Figura 19. Conductas proceptivas presentadas por ratas OVX en la condición de CR, en el modelo de administración de STZ en la etapa neonatal (buffer n=10, STZ n=10). A) Brincoteo-zigzagqueo. B) orejeo.** Las barras representan la media  $\pm$  EEM, \* $p < 0.05$  vs. grupo tratado con buffer utilizando U de Mann-Whitney. **C) Porcentaje de hembras que despliegan conductas proceptivas.** Para la comparación entre grupos se utilizó F Fisher

c) Conductas agresivas

En la figura 20 se presentan las conductas agresivas registradas en la prueba de CR. Como se puede ver, no hubo diferencia significativa ( $U=46$ ,  $p=0.77$ ) en el número de eventos agresivos presentados por el grupo tratado con STZ en la etapa neonatal, respecto al tratado con buffer.

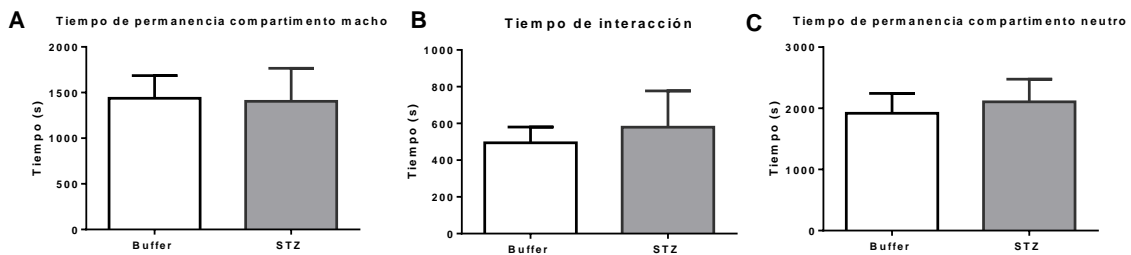


**Figura 20. Conductas agresivas presentadas por la hembra OVX en la condición de CR, en el modelo de administración de STZ en la etapa neonatal (buffer n=10, STZ n=10).** Las barras representan la media  $\pm$  EEM. Para la comparación entre grupos se utilizó U de Mann-Whitney.

d) Tiempo de permanencia en cada compartimento

En el paradigma de CR también se evaluó el tiempo de permanencia de la hembra en cada compartimento, así como el tiempo de interacción con el macho.

La figura 21 muestra que no hubo cambios en ninguno de los parámetros evaluados (tiempo de permanencia en el compartimento del macho ( $t=0.08$ ,  $p=0.94$ ), tiempo de interacción ( $t=0.40$ ,  $p=0.70$ ) y tiempo de permanencia en el compartimento neutro ( $t=0.38$ ,  $p=0.71$ ).



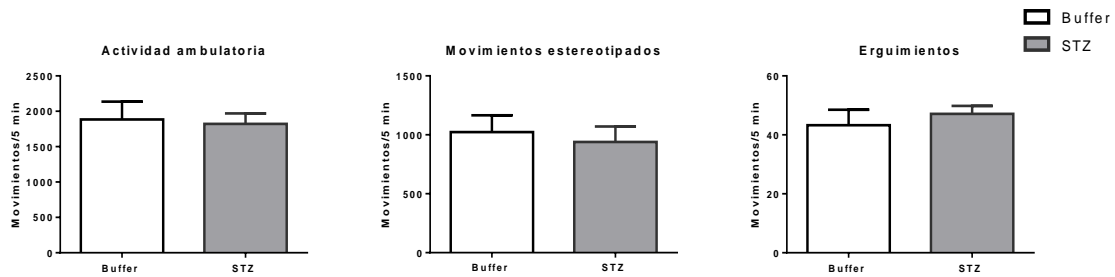
**Figura 21. Tiempo de permanencia en los compartimentos a lo largo de la prueba de CR, en el modelo de administración de STZ en la etapa neonatal (buffer n=10, STZ n=10). A) tiempo que permanece la hembra en el compartimento donde se encuentra el macho. B) tiempo de interacción hembra-macho. C) tiempo que permanece la hembra en el compartimento neutro. Las barras representan la media  $\pm$  EEM. Para la comparación entre grupos se utilizó t-Student.**

#### e) Componentes sensorial y motivacional de la cópula

Los porcentajes de salida y la latencia de retorno después del contacto sexual no pudieron ser determinados debido a que a pesar de que 7 hembras tratadas con STZ en la etapa neonatal recibieron intromisiones, sólo 3 abandonaron el compartimento después de la estimulación. Además, sólo 1 de las 10 hembras tratadas con STZ presentó una salida al compartimento neutro después de recibir una eyaculación, impidiendo calcular los parámetros antes mencionadas.

#### 6.2.4 Actividad ambulatoria espontánea

El análisis de la actividad espontánea (fig. 22) presentada por las ratas tratadas con STZ en la etapa neonatal, mostró que no hay diferencias en ninguno de los criterios evaluados: actividad ambulatoria ( $t=1.18$ ,  $p=0.26$ ), movimientos estereotipados ( $t=1.18$ ,  $p=0.26$ ) y erguimientos ( $t=0.68$ ,  $p=0.51$ ).



**Figura 22. Actividad ambulatoria espontánea de animales OVX, tratados con STZ en la etapa neonatal (buffer n=7, STZ n=8).** Las barras representan la media  $\pm$  EEM, para la comparación entre grupos se utilizó t de Student.

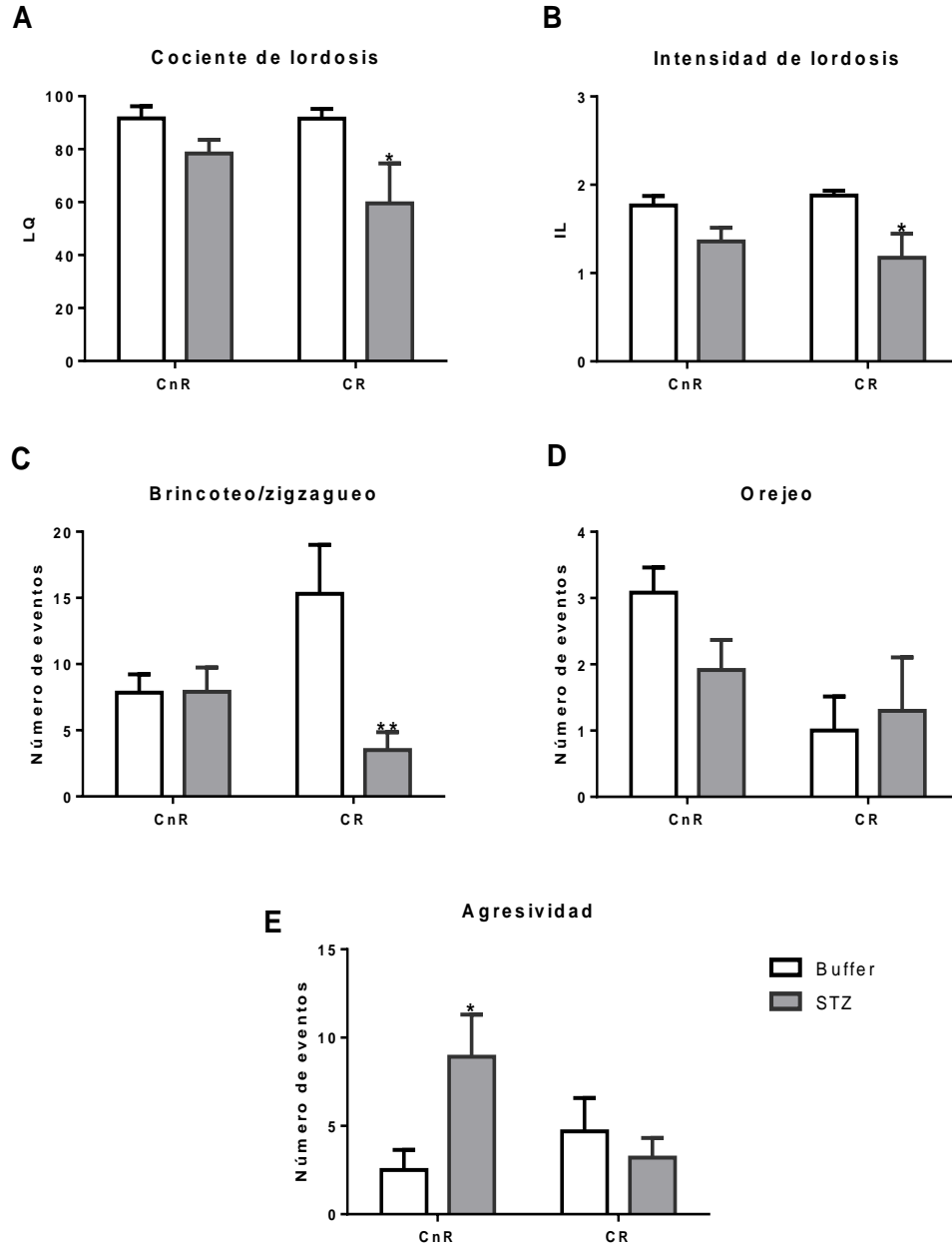
### **6.2.5 Comparación de la conducta sexual presentada en los paradigmas CnR vs. CR (10 montas) utilizando el modelo de administración de STZ en etapa neonatal**

Nuevamente, para poder realizar el análisis comparativo entre las dos pruebas (CnR vs. CR) se consideraron únicamente las primeras 10 montas realizadas por el macho en cada uno de los paradigmas.

En la figura 23 se presenta la comparación de todas las conductas observadas en el paradigma de CnR vs. CR. Como se puede observar, hubo una disminución estadísticamente significativa en el LQ, (panel A; tratamiento:  $F_{(1,40)}=7.98$ ,  $p=0.007$ , paradigma  $F_{(1,40)}=1.39$ ,  $p=0.25$ ; interacción entre ambos factores:  $F_{(1,40)}=1.36$ ,  $p=0.25$ ) y la IL (panel B; tratamiento:  $F_{(1,40)}=11.68$ ,  $p=0.001$ , paradigma  $F_{(1,40)}=0.05$ ,  $p=0.83$ , interacción entre ambos factores:  $F_{(1,40)}=0.83$ ,  $p=0.37$ .) presentada por los animales en ambos paradigmas de conducta sexual. En el panel C de esta misma figura se puede observar que el grupo tratado con STZ en etapa neonatal presentó una disminución significativa en las conductas de brincoteo/zigzaguo (tratamiento:  $F_{(1,40)}=7.11$ ,  $p=0.01$ , paradigma  $F_{(1,40)}=0.48$ ,  $p=0.49$ , interacción entre ambos factores:  $F_{(1,40)}=7.32$ ,  $p=0.01$ ). Sin embargo, no se encontraron cambios en el orejeo (panel D) realizado por las hembras en ambas condiciones experimentales, ni en los distintos paradigmas de conducta sexual utilizados (tratamiento:  $F_{(1,40)}=0.64$ ,  $p=0.43$ , paradigma  $F_{(1,40)}=6.22$ ,  $p=0.02$ , interacción entre ambos factores:  $F_{(1,40)}=1.83$ ,  $p=0.18$ ).

Finalmente, se encontró un aumento estadísticamente significativo en el número de eventos de agresividad (panel E) en el grupo tratado con STZ en etapa neonatal únicamente cuando la conducta de los animales es evaluada

en el paradigma de CnR (tratamiento:  $F_{(1,40)}=1.94$ ,  $p=0.17$ , paradigma  $F_{(1,40)}=0.99$ ,  $p=0.33$ , interacción entre ambos factores:  $F_{(1,40)}=5.02$ ,  $p=0.03$ ).



**Figura 23.** Comparación de la conducta sexual utilizando el modelo de administración de STZ en la etapa neonatal de ratas OVX y evaluadas en el paradigma de CnR (buffer  $n=12$ , STZ  $n=12$ ) vs. ratas OVX evaluadas en el paradigma de CR (buffer  $n=10$ , STZ  $n=10$ ). A) LQ (cociente de lordosis) = (# lordosis/ #montas) X 100. B) IL (intensidad de la lordosis). C) Brincoteo/ zigzagúeo. D) Orejeo. E) Agresividad. Las barras representan la media  $\pm$  EEM. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  vs. grupo tratado con buffer, prueba de Tukey.



### 6.2.6 Comparación de la conducta sexual de ratas hembras OVX vs. intactas administradas con STZ en etapa neonatal y evaluadas en el paradigma de CnR.

#### a) Ciclo estral

La figura 24 muestra el número de veces que los animales tratados con STZ en la etapa neonatal mostraron las distintas fases del ciclo estral durante 14 días, en su etapa adulta. El análisis estadístico de esta serie de datos, demostró que no hubo diferencias significativas entre los grupos en el número acumulativo de eventos de proestro, estro, metaestro y diestro. Es decir, la STZ administrada neonatalmente no modificó la regularidad del ciclo.

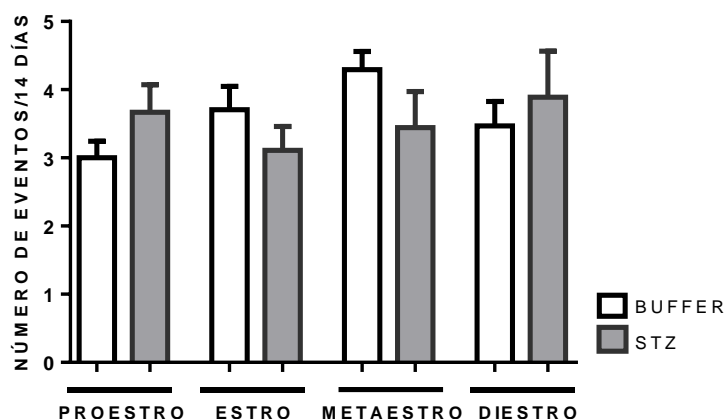
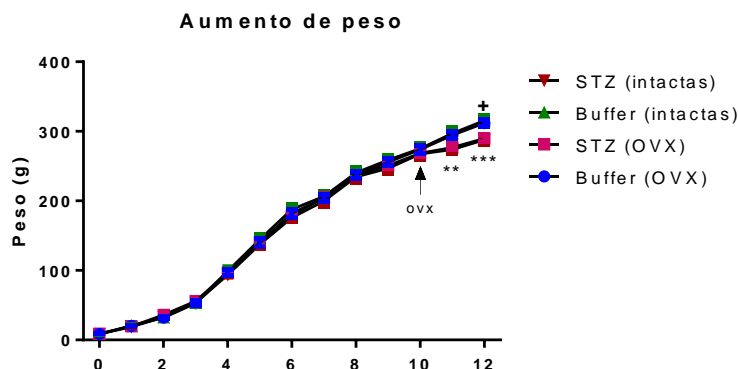


Figura 24. Número acumulativo de eventos de cada fase del ciclo estral presentados durante 14 días de hembras adultas intactas tratadas con buffer (n=7) o con STZ (n=8) en la etapa neonatal. Se presenta la media  $\pm$  EEM, para la comparación entre grupos se utilizó U Mann Whitney.

#### b) Ganancia de peso corporal semanal

En la figura 25 se presenta el curso temporal del aumento en el peso corporal de las ratas hembra intactas y OVX que fueron tratadas con STZ o buffer en la etapa neonatal. Los resultados del aumento de peso en el grupo OVX se presentan con mayor detalle en la sección 6.2.1. En los grupos de ratas hembra intactas, el aumento de peso corporal del grupo tratado con STZ fue similar al tratado con buffer hasta la semana 11 de vida ( $p=0.09$ ). En la semana 12 el grupo de ratas hembra intactas tratadas con STZ siguió incrementado su peso corporal al igual que el grupo tratado con buffer, pero con una menor intensidad en el ritmo de crecimiento ( $p=0.021$ ).

La comparación del aumento de peso presentado por los animales tratados con STZ en la etapa neonatal y que fueron ovariectomizados en la etapa adulta vs. los que se mantuvieron intactos, muestra que después de la cirugía (semana 11 y 12) no se presentaron cambios en el patrón de ganancia de peso de los animales tratados con STZ (Tratamiento  $F_{(3,55)}=5.42$ ,  $p=0.61$  tiempo:  $F_{(12,660)}=3580$ ,  $p<0.001$ ; interacción entre ambos factores:  $F_{(36,660)}=2.22$ ,  $p<0.001$ ).

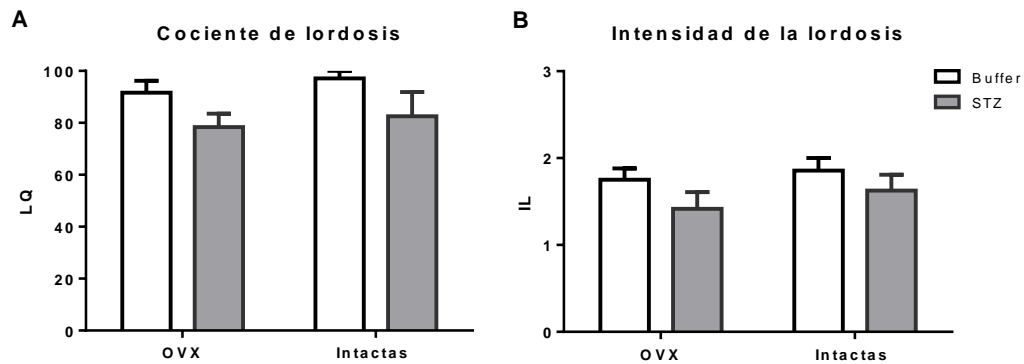


**Figura 25. Curso temporal del aumento de peso en ratas OVX (buffer n=12, STZ n=12) y en ratas intactas (buffer n=7, STZ n=8) con administración de STZ en la etapa neonatal.** Se presenta la media  $\pm$  EEM, \*\* $p < 0.01$ . \*\*\* $p < 0.001$  vs. grupo OVX tratado con buffer en la etapa neonatal, + $p < 0.05$  vs. grupo intacto tratado con buffer en la etapa neonatal, prueba Holm-Sidak. OVX= ovariectomía bilateral.

## 6.2.7 Cópula no regulada por la hembra (ratas OVX vs. ratas intactas)

### a) Receptividad

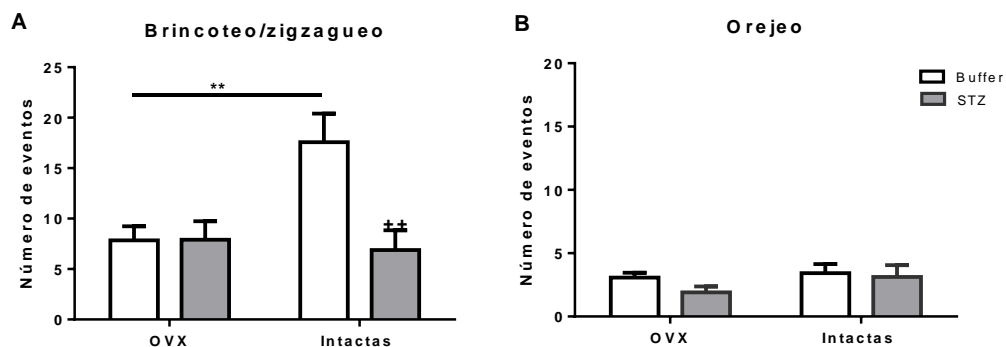
Como se observa en la fig. 26, no se encontraron diferencias en la receptividad ( $p=0.96$ ) presentada por las hembras OVX al compararlas con las hembras intactas. El análisis estadístico, utilizando la prueba U de Mann Whitney, no arrojó diferencias en el LQ y la IL (LQ:  $U=15$ ,  $p=0.20$ ; IL  $U=21.5$ ,  $p=0.57$ ) al comparar ambas condiciones experimentales (buffer vs. STZ). Asimismo, el análisis de varianza de dos vías, no mostró diferencias estadísticamente significativas entre la receptividad exhibida por los animales intactos vs. OVX (ANOVA para LQ: Tratamiento  $F_{(1,35)}=5.42$ , cirugía:  $F_{(1,35)}=0.64$ ,  $p=0.428$ ;  $p=0.03$ ; interacción entre ambos factores:  $F_{(1,35)}=0.01$ ,  $p=0.91$  y para IL: Tratamiento  $F_{(1,35)}=2.60$ ,  $p=0.12$ , cirugía:  $F_{(1,35)}=0.81$ ,  $p=0.37$ ; interacción entre ambos factores:  $F_{(1,35)}=0.08$ ,  $p=0.78$ ).



**Figura 26. Receptividad presentada en la condición de CnR, en el modelo de administración de STZ en la etapa neonatal en ratas OVX (buffer n=12, STZ n=12) y en ratas intactas (buffer n=7, STZ n=8). A) LQ (cociente de lordosis) = (# lordosis/ #montas) X 100. B) IL (intensidad de la lordosis).** Las barras representan la media ± EEM, para la comparación entre grupos se utilizó la prueba de Tukey.

b) Proceptividad

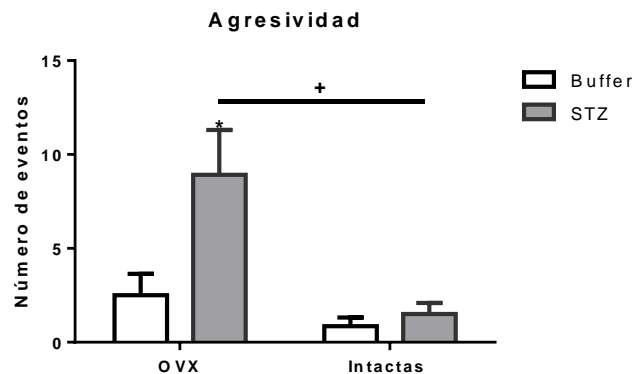
El análisis de varianza de dos vías realizado para comparar la proceptividad de los grupos tratados con STZ en etapa neonatal intactos vs. OVX, mostró una diferencia entre el número de eventos de brincoteo/zigzagúeo, el cual fue mayor en las ratas intactas tratadas con buffer, en comparación con el grupo intacto tratado con STZ y con los grupos ovariectomizados (tratados con buffer y STZ en etapa neonatal) (Tratamiento:  $F_{(1,35)}=2.60$ ,  $p=0.12$ ; cirugía:  $F_{(1,35)}=0.81$ ,  $p=0.37$ ; interacción entre ambos factores:  $F_{(1,35)}=0.08$ ,  $p=0.78$ ).



**Figura 27. Conductas proceptivas presentadas en la condición de CnR, en el modelo de administración de STZ en la etapa neonatal en ratas OVX (buffer n=12, STZ n= 12) y en ratas intactas (buffer n=7, STZ n=8). A) Brincoteo-zigzagúeo, B) orejeo.** Las barras representan la media ± EEM. \*\* $p<0.01$  vs. grupo OVX tratado con buffer en la etapa neonatal, \*\* $p<0.01$  vs. grupo OVX tratado con STZ en la etapa neonatal, ++ $p<0.01$  vs. grupo intacto tratado con buffer en etapa neonatal utilizando la prueba de Tukey.

### c) Conductas agresivas

En la figura 28 se muestra el número de eventos agresivos presentados por las hembras en el paradigma de CnR. Como se puede observar, las ratas OVX tratadas con STZ en etapa neonatal presentan un aumento en el número de conductas agresivas al ser comparadas con sus respectivos controles y con los grupos de ratas intactas tratadas con STZ o con buffer en la etapa neonatal (Tratamiento  $F_{(1,35)}=4.19$ ,  $p=0.048$ , Cirugía:  $F_{(1,35)}=6.91$ ,  $p=0.01$ ; interacción entre ambos factores:  $F_{(1,35)}=2.87$ ,  $p=0.10$ ).



**Figura 28.** Conductas agresivas presentadas por la hembra OVX en la condición de CnR, en el modelo de administración de STZ en la etapa neonatal (buffer  $n=12$ , STZ  $n=12$ ) y en ratas intactas (buffer  $n=7$ , STZ  $n=8$ ). Las barras representan la media  $\pm$  EEM, \* $p < 0.05$  vs. grupo OVX tratado con buffer en la etapa neonatal, + $p < 0.05$  vs. grupo OVX tratado con STZ en la etapa neonatal utilizando la prueba de Tukey.

### 6.3 COMPARACIÓN DE LA CONDUCTA SEXUAL DE LAS HEMBRAS EN DOS MODELOS DE HIPERGLUCEMIA INDUCIDA POR LA ADMINISTRACIÓN DE STZ

Se realizó una comparación entre los dos modelos experimentales de administración de STZ (en la etapa adulta vs. etapa neonatal), para determinar si la etapa de administración tiene algún efecto sobre la conducta sexual en los dos paradigmas utilizados: CnR y CR.

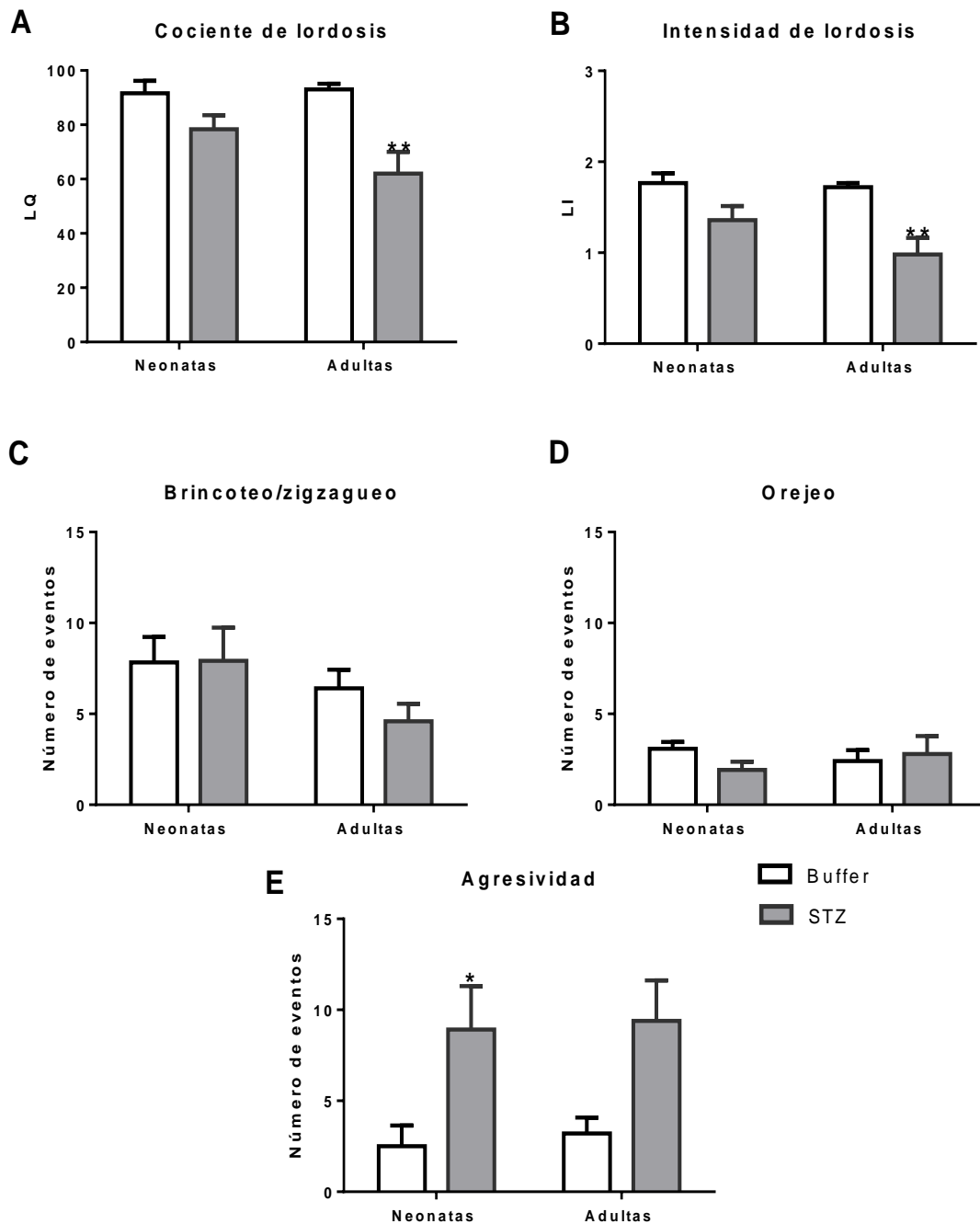
### 6.3.1 Cópula no regulada por la hembra

En la figura 29 se muestran los resultados para todos los parámetros de la conducta sexual femenina evaluados en este paradigma. El análisis estadístico de estos datos utilizando un ANOVA de dos vías y la prueba post-hoc mostró un efecto del tratamiento (administración de STZ vs. Buffer), pero no de la etapa de administración del fármaco (adulta vs. neonatal).

De la misma manera, la IL se ve modificada por el tratamiento (existe una disminución), pero no por la etapa de administración (Tratamiento  $F_{(1,40)}=18.10$ , etapa de admon.:  $F_{(1,40)}=2.48$ ,  $p=0.12$ ,  $p=0.001$ , interacción entre ambos factores:  $F_{(1,40)}=1.51$ ,  $p=0.23$ ). El análisis de comparaciones múltiples arrojó diferencias entre el grupo tratado con STZ en comparación con su control en la etapa adulta ( $p=0.0001$ ), pero no en la neonatal ( $p=0.12$ ).

Las conductas proceptivas (brincoteo/zigzaguo (Tratamiento  $F_{(1,40)}=0.37$ ,  $p=0.55$ , etapa de admon.:  $F_{(1,40)}=2.79$ ,  $p=0.10$ , interacción entre ambos factores:  $F_{(1,40)}=0.44$ ,  $p=0.51$ ) y orejeo (Tratamiento  $F_{(1,40)}=0.39$ ,  $p=0.54$ ; etapa de admon.:  $F_{(1,40)}=0.03$ ,  $p=0.87$ , interacción entre ambos factores:  $F_{(1,40)}=1.63$ ,  $p=0.206$ ) no presentaron diferencias estadísticamente significativas al comparar las etapas de administración, ni las distintas condiciones experimentales (tratamiento con buffer o STZ).

Finalmente, respecto a las conductas agresivas, el análisis estadístico mostró un aumento en el número de eventos de agresividad, si se considera el efecto del tratamiento utilizado, pero no la etapa en la que se administró la STZ (Tratamiento  $F_{(1,40)}=12.06$ ,  $p=0.001$ , etapa de admon.:  $F_{(1,40)}=0.11$ ,  $p=0.75$ ; interacción entre ambos factores:  $F_{(1,40)}=0.004$ ,  $p=0.95$ ).



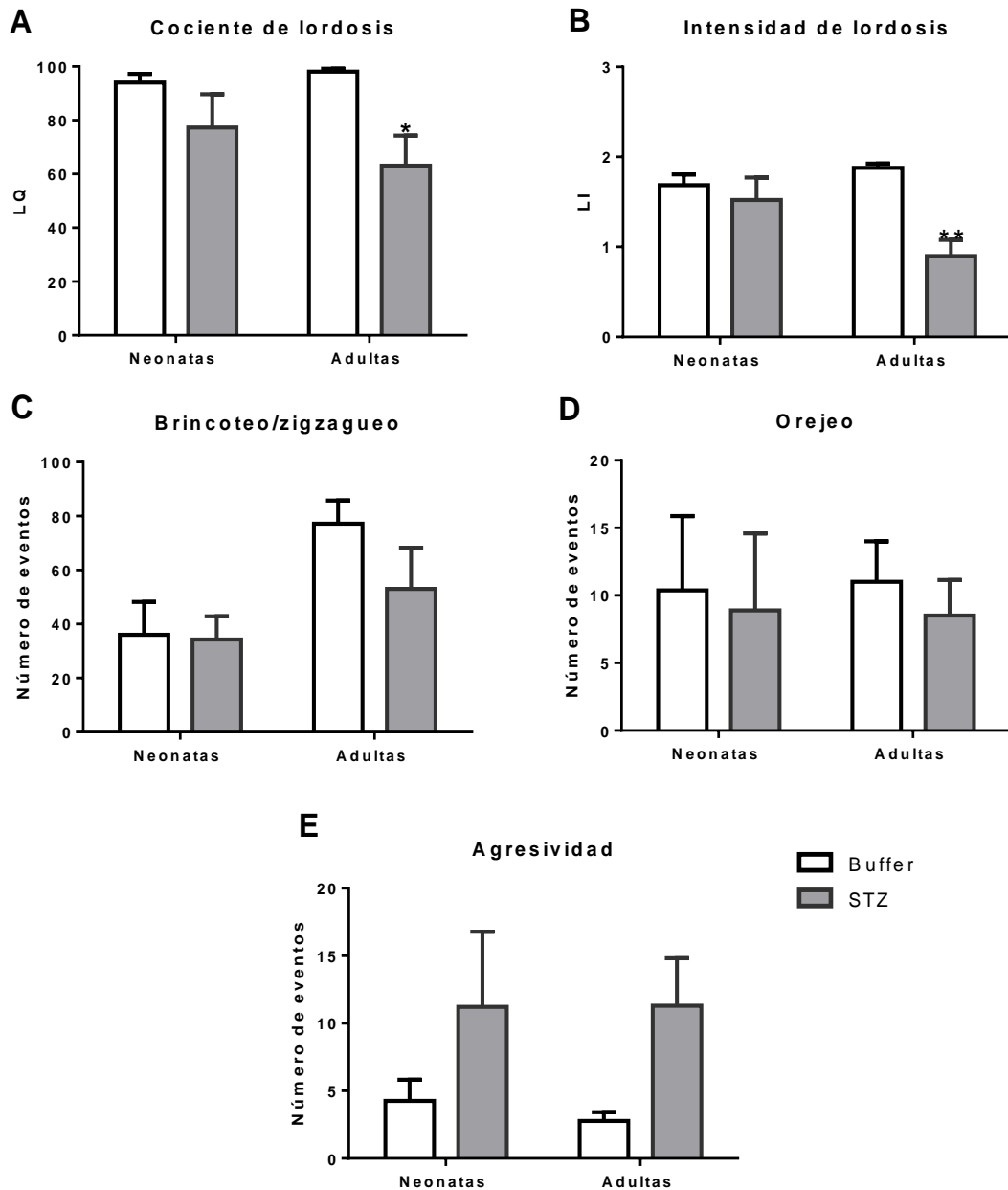
**Figura 29.** Comparación entre la conducta sexual de ratas OVX en el modelo de administración de STZ en etapa neonatal (buffer n=12, STZ n=12) y en el modelo de administración de STZ en etapa adulta (buffer n=10, STZ n=10), evaluadas en el paradigma de CnR. A) LQ (cociente de lordosis) = (# lordosis/ #montas) X 100. B) IL (intensidad de la lordosis). C) Brincoteo/ zigzag. D) Orejeo. E) Agresividad. Las barras representan la media ± EEM. \*p<0.05 vs. grupo tratado con buffer en la etapa adulta, \*\*p< 0.01 vs. grupo control utilizando ANOVA de dos vías seguido de la prueba Tukey.

### **6.3.2 Cópula regulada por la hembra**

En la figura 30 se agruparon los distintos parámetros evaluados en el paradigma de CR para la comparación entre los dos modelos de administración de STZ. Se puede observar una disminución en el cociente de lordosis dependiente del tratamiento, pero no de la etapa en la que se administra la STZ (Tratamiento  $F_{(1,32)}=8.32$ ,  $p=0.007$ ; etapa de admon.:  $F_{(1,32)}=0.32$ ,  $p=0.58$ ; interacción entre ambos factores:  $F_{(1,32)}=1.04$ ,  $p=0.32$ ). En la intensidad de lordosis, se presenta una disminución dependiente del tratamiento, pero no de la etapa de la administración (tratamiento  $F_{(1,32)}=11.24$ ,  $p=0.002$ ; etapa de admon.:  $F_{(1,32)}=1.61$ ,  $p=0.21$ ; interacción entre ambos factores:  $F_{(1,32)}=5.68$ ,  $p=0.02$ ).

De manera interesante, se presenta un aumento en las conductas proceptivas de brincoteo/zigzagado por la etapa de administración en la que se administra la STZ (tratamiento  $F_{(1,32)}=1.19$ ,  $p=0.28$ ; etapa de admon.:  $F_{(1,32)}=6.40$ ,  $p=0.02$ ; interacción entre ambos factores:  $F_{(1,32)}=0.91$ ,  $p=0.35$ ). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en el orejeo ni por el tratamiento ni por la etapa de administración de STZ (tratamiento  $F_{(1,32)}=0.21$ , etapa de admon.:  $F_{(1,32)}=0.007$ ,  $p=0.98$ ;  $p=0.65$ ; interacción entre ambos factores:  $F_{(1,32)}=0.01$ ,  $p=0.91$ ).

Para finalizar, el número de conductas agresivas no mostró cambios significativos, ni por efecto del tratamiento, ni por la etapa de administración (tratamiento  $F_{(1,32)}=0.04$ ,  $p=0.84$ , etapa de admon.:  $F_{(1,32)}=4.89$ ,  $p=0.03$ ; interacción entre ambos factores:  $F_{(1,32)}=0.05$ ,  $p=0.83$ ).



**Figura 30. Comparación de la conducta sexual presentada por ratas OVX en el modelo de administración de STZ en etapa neonatal (buffer n=10, STZ n= 10) y el modelo de administración de STZ en etapa adulta (buffer n=9, STZ n=10), evaluadas en el paradigma de CR. Las barras representan la media  $\pm$  EEM. \* $p < 0.05$  vs. grupo tratado con buffer, \*\* $p < 0.01$  vs. grupo tratado con buffer utilizando ANOVA de dos vías seguido de la prueba Tukey.**



## VII. DISCUSIÓN

A manera de resumen en la tabla 4, y para facilitar la lectura de esta sección, se presentan los resultados obtenidos para cada modelo de administración de STZ en los paradigmas utilizados (CnR y CR).

	Admon. STZ en la etapa adulta			Admon. STZ en la etapa neonatal		
	OVX			OVX		Intactas
	CnR	CR	CnR [Insulina]	CnR	CR	CnR
Receptividad	↓↓	↓↓	↓	↓	—	—
Proceptividad	—	—	↑	—	↓	↓
Agresividad	↑↑	—	—	↑	—	—

**Tabla 4. Comparación de la conducta sexual y conductas agresivas, con dos modelos de administración de STZ, bajo dos paradigmas de cópula.**

### Modelo de administración de STZ en etapa neonatal o adulta

- *Administración de STZ sobre el peso corporal y los niveles de glucosa plasmática.*

Nuestros datos reproducen lo ya reportado sobre los efectos de la administración de STZ en el peso corporal y en los niveles de glucosa plasmática. En el modelo de administración en la etapa adulta utilizado en este y otros trabajos, se presentó un aumento marcado en los niveles de glucosa plasmática (<300 mg/dl), el cual puede ser observado desde la primera hora después de la administración de este fármaco y que se mantiene constante a lo largo del tiempo. Dicho incremento es causado por la citotoxicidad selectiva de la STZ sobre las células  $\beta$  pancreáticas lo que a su vez provoca una hipoinsulinemia permanente. La pérdida de peso en estos animales es explicada por la pérdida de la homeostasis de la glucosa e insulina inducida por la muerte de las células  $\beta$ , con el consecuente decremento en la utilización calórica y el almacenamiento de glucosa por los tejidos periféricos sensibles a

la insulina (tejido adiposo, hepático y músculo esquelético) como resultado de la insuficiencia en la secreción de esta hormona (Lenzen, 2008; Sipols, 1995).

De la misma manera, nuestros datos sobre el peso corporal de los animales tratados con STZ en etapa neonatal concuerdan con lo reportado por otros (Patel, Santani, Patel, & Shah, 2015; Portha, Picon, & Rosselin, 1979; Serradas & Dolz, 2007). Se sabe que los animales tratados con STZ en etapa neonatal presentan una disminución en el peso corporal, en los primeros 5 días después de la administración de este fármaco, debido a que en este periodo los animales desarrollan una hiperglucemia e hipoinsulinemia transitoria, causadas por la muerte de cierto porcentaje de células  $\beta$  pancreáticas. Debido al incremento en el número de células  $\beta$  pancreáticas que ocurre en los días posteriores, se recupera la función celular con la consecuente normalidad en la secreción de insulina (Arulmozhi et al., 2004; Inhasz Kiss et al., 2013; Portha & Kergoat, 1985), hormona que participa también en el crecimiento y desarrollo corporal (Livingstone & Collison, 2002). Es por esto, que los animales tratados con STZ presentan un aumento de peso similar al del grupo control en las primeras 10 semanas de vida.

En un estudio realizado en ratas macho tratadas con STZ en el día 5 postnatal, los animales mostraron una tasa de crecimiento menor a la del grupo control desde la semana 8, hasta la 12. De hecho, en la 12<sup>a</sup> semana de vida se presentó una disminución en el peso corporal (Serradas & Dolz, 2007), tal y como nosotros lo observamos en nuestros ensayos. Asimismo, en concordancia con este trabajo, una investigación realizada por el grupo de Patel (2015), que utilizó indistintamente machos y hembras tratadas con STZ en el día 2 postnatal, mostró que estos animales presentaban una reducción en el peso corporal a las 10 semanas de vida (Patel et al., 2015). Respecto a las hembras tratadas con STZ en etapa neonatal, se ha reportado que ganan en promedio 10% menos de peso corporal desde el primer mes hasta los doce meses en comparación con su grupo control (Portha et al., 1979).

Un estudio realizado en ratón demostró la estrecha relación entre el sexo y el desarrollo de hiperglucemia (Michelis, Kim, & Shin, 1982). Este grupo comprobó que el tratamiento con STZ afecta de manera diferencial a machos y hembras, siendo los machos los más afectados. Asimismo, demostró que en las hembras los estrógenos juegan un papel inhibitorio en el establecimiento de la hiperglucemia provocada por la administración de STZ. Esto podría explicar por qué al eliminar la principal fuente de secreción de estradiol -

después de la ovariectomía-, nuestros animales pierden la protección brindada por los estrógenos sobre los efectos de la hiperglucemia en el peso corporal.

Respecto a la curva de tolerancia a la glucosa en los animales tratados con STZ en etapa neonatal, nuestros resultados concuerdan con otros previamente reportados en los que se muestra que los animales tratados con STZ en etapa neonatal, en la 8ª semana de vida presentan valores de hiperglucemia moderados (150-180 mg/dl) y una respuesta anormal en la prueba de tolerancia a la glucosa (i.v. o v.o.), debido a la disminución del 50% en la secreción de insulina pancreática (Oidor-Chan et al., 2016; Portha et al., 1979; Serradas & Dolz, 2007). La intolerancia a la glucosa puede ser explicada por la pérdida parcial de células  $\beta$  pancreáticas que se presenta tras la administración de este fármaco (Liang et al., 2011; Portha & Movassat, 2007).

## **Conducta sexual de la rata hembra tratada con STZ en etapa neonatal o adulta**

### **a) Receptividad**

*-Las hembras tratadas con STZ en etapa adulta presentan un perfil de conducta sexual similar en el paradigma de CnR y CR.*

Después de 10 días de la administración de STZ las hembras adultas presentaron una disminución en el LQ y en LI en concordancia con otros estudios (Ahdieh et al., 1983; Gentry & Blaustein, 1977; Hashimoto et al., 2010; Karkanias et al., 1997; Kovacs et al., 2003; Saito et al., 1999; Siegel & Wade, 1979). Cabe señalar que nuestro trabajo es el primero en realizar esta evaluación en el paradigma de CR observando, de igual forma, una disminución en la receptividad sexual de estas hembras.

Mucho se ha discutido acerca de las posibles causas que podrían explicar la inhibición en la receptividad presente en los animales con DM; se plantean cambios tanto a nivel central, como a nivel periférico. A nivel central, se ha demostrado que estos animales presentan una disminución en la unión del complejo estradiol-receptor en varias áreas cerebrales como el área preóptica media, (mPOA por sus siglas en inglés) y en la hipófisis (Ahdieh et al., 1983; Coirini, Weisenberg, Tornello, & De Nicola, 1980; Dudley, Ramirez, & Wade, 1981; Gentry & Blaustein, 1977), tanto en el citosol (Ahdieh et al., 1983; Coirini et al., 1980), como en el núcleo (Coirini et al., 1980; Gentry & Blaustein, 1977;

Siegel & Wade, 1979). De forma interesante, el tratamiento agudo (24 h) o crónico (7 días) de restitución de insulina, fue inefectivo para restaurar los niveles normales del receptor de estrógenos  $\alpha$  (Ahdieh et al., 1983; Dudley et al., 1981). Trabajos en ratones hembra en los que se ha bloqueado la expresión del gen que codifica para el receptor  $\alpha$  de estrógenos (Musatov, Chen, Pfaff, Kaplitt, & Ogawa, 2006; Ogawa et al., 1998) han reportado que en comparación con animales que no fueron manipulados genéticamente, presentan una disminución en la lordosis y un aumento en las conductas agresivas, que es un perfil conductual similar al de las hembras tratadas con STZ en la etapa adulta encontrado en este trabajo. Estos hallazgos sugieren la posible participación de este subtipo de receptor a estrógenos en las acciones observadas en este trabajo.

Por otro lado, se ha reportado una disminución en el tamaño de las neuronas del mPOA después de 4 meses de la administración de STZ (Bestetti, Hofer, & Rossi, 1987). En otro estudio, se demostró que la hiperglucemia generada por la administración de STZ provoca cambios en las proyecciones neuronales del mPOA. En esa investigación, realizada por el grupo de Mohamadi (2015), utilizaron un marcador neuronal, el cual fue inyectado en el mPOA; dicho marcador es transportado por los axones de manera retrógrada hacia la amígdala y la estría terminal (áreas importantes en la regulación de la conducta sexual). Mohamadi y cols. reportaron que el número de neuronas marcadas en estas áreas era significativamente menor en el grupo tratado con STZ en comparación con su control, concluyendo que las proyecciones neuronales provenientes del mPOA en estos dos sitios cerebrales se encuentra disminuida (Mohamadi, Jameie, & Akbari, 2015). Cambios similares podrían estar interfiriendo en la adecuada consumación de la cópula en nuestros animales.

Como ya hemos mencionado, los cambios presentados por la hiperglucemia son variados; a nivel periférico se tiene evidencia de que la hiperglucemia inducida por STZ después de 2 o 4 semanas disminuye el flujo vaginal después de la estimulación del nervio pélvico en ratas (Lee et al., 2012), además de existir fibrosis en el tejido vaginal (Park et al., 2001). Los animales tratados con STZ, de manera crónica (10 semanas de tratamiento) presentan también cambios anatómicos y funcionales en la vagina (por ejemplo el desarrollo de fibrosis en el tejido) (Kim et al., 2006). Todos estos daños patológicos pudieran afectar la respuesta genital durante la cópula, provocando la disminución en la receptividad.

Se ha propuesto que la pérdida de peso, mediante un mecanismo inespecífico de daño general, pudiera ser responsable de la reducción en la receptividad sexual de los animales tratados con STZ. Dicha premisa, fue considerada por el grupo de Karkanias y cols. (1997). En su trabajo evaluaron la conducta sexual de un grupo de ratas normoglucémicas con una dieta restringida (sólo consumiendo el 60% del alimento promedio diario) y un grupo tratado con STZ. Al cabo de 10 días los animales mostraban una pérdida de peso similar en ambos grupos. Sin embargo, el grupo normoglucémico con dieta restringida presentaba un LQ similar al encontrado en animales control, mientras que el tratado con STZ presentaba una disminución en la receptividad (Karkanias et al., 1997), descartando así la idea de que la pérdida de peso fuera un factor que influye de manera directa en la receptividad sexual.

Finalmente, podemos descartar que la deficiencia en la conducta sexual desplegada por los animales en esta investigación sea por posibles efectos sobre la ejecución motora de los animales causados por la hiperglucemia/hipoinsulinemia, por los fármacos (STZ, insulina), vehículo (buffer de citratos) utilizados, o de la manipulación realizada (OVX), puesto que no se encontraron cambios en la actividad locomotora con ninguno de los tratamientos. Nuestros resultados concuerdan con los presentados por el grupo de Karkanias (Karkanias et al., 1997), quienes tampoco encontraron cambios en la actividad ambulatoria de las ratas tratadas con STZ.

Es importante señalar que en el ámbito clínico se ha reportado una asociación entre la DM y la vida sexual, puesto que las pacientes con DM1 reportan una sensación disminuida en el clítoris, resequedad y disconfort vaginal, disfunción orgásmica, dispareunia y vulvodinia (dolor crónico en la región vulvar, manifestado como ardor, irritación y/o comezón) (Caruso et al., 2012; Enzlin et al., 1998; Wineze, Albert, & Bansa, 1993). Todos estos síntomas afectan el desempeño sexual y la calidad de vida de estas pacientes.

*Las hembras tratadas con STZ en etapa neonatal presentan una disminución en la receptividad en CnR y CR.*

Pocos son los trabajos que han evaluado la conducta sexual de la rata hembra en el modelo de administración de STZ en etapa neonatal y ninguno de ellos la había evaluado en CR. Por lo tanto, sólo se pueden hacer aproximaciones sobre las causas de las alteraciones en la conducta sexual observada en estas condiciones.

Nuestras observaciones de la conducta sexual presentada por las hembras en el modelo de administración de STZ en etapa neonatal concuerdan con los resultados obtenidos por el grupo de Inhanz (Inhasz Kiss et al., 2013) en ratas intactas. En ambos trabajos observamos que no existe diferencia entre el LQ presentado por el grupo tratado con STZ vs. el grupo tratado con buffer. Sin embargo, en el grupo ovariectomizado tratado con STZ en etapa neonatal se presentó una disminución en el LQ cuando se evaluó en el paradigma de CnR o cuando sólo se consideraron las primeras 10 montas en CR. Entre el grupo intacto y el OVX no se presentaron diferencias en el LQ ni en IL, lo que sugiere que en estos animales no está alterada la conducta sexual.

Sólo el grupo tratado con STZ en la etapa neonatal y OVX en la etapa adulta presentó una disminución en la receptividad al compararse con el grupo tratado con buffer (al ser evaluado en la prueba de CnR). Creemos que esta diferencia es debido a la pérdida en la secreción de estrógenos después de la ovariectomía, ya que se sabe que los estrógenos tienen un papel importante en la regulación de la secreción de la insulina, favoreciendo su liberación (Nadal, Rovira, Laribi, & Leon-Quinto, 1998). Al eliminar la regulación endocrina de insulina ejercida por los estrógenos, es probable que la hipoinsulinemia moderada presente en los animales tratados con STZ en la etapa neonatal genere algún cambio a nivel central y periférico en las estructuras encargadas de la respuesta receptiva. En la clínica se ha reportado que pacientes que se encuentran en la etapa de transición hacia la menopausia tienen mayor riesgo de padecer enfermedades metabólicas como la DM2. Este mayor riesgo se considera que es debido a la disminución progresiva en la secreción de estrógenos, sin tenerse claro los mecanismos por los que se desarrolla esta asociación (Clegg et al., 2017).

*La administración de insulina revierte la disminución en la receptividad de las hembras tratadas con STZ en etapa adulta*

Varios autores han demostrado que la administración periférica de insulina restaura la receptividad sexual de hembras tratadas con STZ en etapa adulta (Ahdieh et al., 1983; Gentry & Blaustein, 1977; Karkanias et al., 1997; Kovacs et al., 2003; Siegel & Wade, 1979). Como se mencionó anteriormente, el grupo de Karkanias (Karkanias et al., 1997) demostró que este déficit en la respuesta sexual no era provocado por la hiperglucemia, sino por la hipoinsulinemia. En su diseño experimental administraron, a ratas tratadas con STZ, un fármaco antihiperglucemiante (que normalizaba los niveles de glucosa a nivel periférico), o insulina ultralenta de res. A pesar de que en el grupo administrado

con el antihiperglucemiante los niveles de glucosa se encontraban dentro del rango normal (>120 mg/dl) el LQ y la IL seguían disminuidos y fue únicamente en el grupo administrado con insulina donde se revertían los efectos de la hipoinsulinemia. Años más tarde, el grupo de Hashimoto (Hashimoto et al., 2010) demostró que la implantación de un páncreas artificial en ratones diabéticos por la administración de STZ restauró la receptividad sexual.

Posterior al hallazgo de Karknias et al., se realizaron otros protocolos que ahondaron en el mecanismo por el cual la insulina mejoraba la conducta sexual femenina. Entre ellos, el realizado por Kovacs (Kovacs et al., 2003), demostró que la administración intracerebroventricular (ICV) de insulina humana de acción lenta era suficiente para restaurar la disminución en el LQ en los animales tratados con STZ, aun cuando éstos podían presentar glucemias ligeramente elevadas (170 mg/dl). Nuestras observaciones difieren de estos resultados, ya que la glargina no restauró el LQ. Estas diferencias podrían deberse a que se utilizó un análogo de insulina diferente (glargina, una insulina recombinante humana modificada con una biodisponibilidad lenta, de larga duración) a los trabajos previos. Se ha demostrado que los distintos análogos de insulina tienen distintos efectos farmacocinéticos en el SNC, tales como el paso de la barrera hematoencefálica y la duración de sus efectos en el líquido cefalorraquídeo (Begg, May, Mul, Liu, & Alessio, 2015; Tsuneki, Yoshida, Endo, Mori, & Hosoh, 2017). Estos datos, junto con los señalados previamente, sugieren un papel importante de la insulina en la regulación de la conducta sexual.

Otra posible explicación a la disminución en la receptividad de las hembras tratadas con STZ en la etapa adulta y restituidas con insulina, podría ser el día de administración de la insulina (día 3 post STZ), ya que estudios previos demostraron que la unión de estradiol a su receptor en el mPOA del hipotálamo se ve afectada desde las primeras 24 h posteriores a la falta de insulina aguda y que existe una relación negativa entre los niveles de glucosa en sangre y los niveles del receptor a estradiol en el cerebro (Ahdieh et al., 1983). El seguimiento a los niveles de glucosa plasmática realizado en nuestros ensayos, nos permitió determinar que los animales presentaban periodos de hiperglucemia a pesar de ser tratadas con insulina (anexo d, fig. 34). Es posible que esta hiperglucemia transitoria afectara las proyecciones neuronales involucradas en el correcto desempeño de la lordosis.

## **b) Proceptividad**

*Las hembras OVX tratadas con STZ en la etapa adulta no presentan cambios en la proceptividad en CnR, ni en CR. Las hembras intactas tratadas con STZ en la etapa neonatal muestran una disminución en la proceptividad.*

En el presente trabajo no observamos efectos de la hiperglucemia/hipoinsulinemia sobre la proceptividad en el modelo de administración de STZ en etapa adulta. Para inducir la conducta sexual de la rata hembra se administraron 10 µg de BE 24 h antes de la prueba, seguido de la administración de 3 mg de progesterona 4h antes de la prueba. Este esquema hormonal ha sido previamente utilizado en ratas OVX para inducir la conducta sexual en nuestro laboratorio (García-Cárdenas et al., 2015; Olvera-Hernández et al., 2015). En contraste con nuestros datos, otros autores (Hashimoto et al., 2010; Kovacs et al., 2003; Saito et al., 1999), utilizando un esquema de administración hormonal diferente, reportaron una disminución en el porcentaje de ratas que desplegaban conductas proceptivas. Por ejemplo, el grupo de Saito utilizando 2 µg de BE por 3 días consecutivos con 0.5 mg de progesterona 4-6 h antes de la prueba en el cuarto día observaban que a lo largo de las 7 semanas que duraba el experimento, un menor número de hembras presentaba alguna conducta proceptiva (Saito et al., 1999). El grupo de Karkanias y colaboradores (1997) también reportó una disminución en la proceptividad cuando se administraron 2 µg de estradiol 48 y 24 h de BE y 500 µg de progesterona antes de la prueba (Karkanias et al., 1997).

Estudios previos han demostrado que los efectos inhibitorios de distintos fármacos en la conducta sexual femenina varían dependiendo del esquema de administración hormonal (Adams et al., 2012). Por ejemplo, existe un estudio que brinda evidencia de que la administración de progesterona antes de la inyección de un antagonista serotoninérgico previene la reducción de la receptividad provocada por este fármaco (Uphouse, Hiegel, Guptarak, & Maswood, 2009). Con base en estos datos, es posible considerar que la dosis y esquema de administración de hormonas sexuales utilizado en este trabajo no permiten ver de forma clara los efectos de la STZ sobre la proceptividad, la cual ha sido considerada una forma de evaluar la motivación sexual de la hembra para iniciar la cópula (Ågmo, 1999; Blaustein & Erskine, 2002; Mary S. Erskine, 1989).



En un intento por estudiar la conducta sexual de ratas hembras con hiperglucemia moderada de una manera más fisiológica, se utilizaron ratas adultas intactas tratadas con STZ en la etapa neonatal. En este grupo de animales observamos una disminución en las conductas proceptivas (brincoteo/zigzagado). Como ya se mencionó, el grupo de Karkanas demostró la importancia de la insulina (tanto a nivel periférico, como a nivel central) en la modulación de la conducta sexual. Con base en esta idea, una posible explicación al decremento de la proceptividad presente en las hembras tratadas con STZ en la etapa neonatal, es que estos animales presentan hipoinsulinemia moderada en la etapa adulta; esta deficiencia de insulina podría estar interfiriendo con el adecuado despliegue de la proceptividad (Portha & Kergoat, 1985).

### **c) Agresividad**

*Las hembras tratadas con STZ, en etapa neonatal o adulta, presentan un mayor número de eventos agresivos en el paradigma de CnR.*

Sólo tres estudios preclínicos han evaluado las conductas agresivas en el modelo de diabetes por la administración de STZ y, hasta donde sabemos, este es el primer trabajo en analizarlo en hembras. El trabajo de Hilakivi et. al (Hilakivi-Clarke et al., 1990) utilizó el paradigma intruso-residente, en ratones macho tratados con STZ y encontró una tendencia en los animales hiperglucémicos a desplegar un comportamiento agresivo por tiempos mayores que los controles (Hilakivi-Clarke, 1991; Hilakivi-Clarke et al., 1990). Por otro lado, el trabajo de Meehan y su grupo (Meehan et al., 1987) usando el mismo paradigma conductual encontró que los ratones hiperglucémicos eran más sumisos y menos agresivos que los controles. Las diferencias entre estos resultados y los nuestros pueden ser explicadas basadas en las distintas especies utilizadas (ratón vs. rata), el sexo de los animales estudiados (machos vs. hembras) y el contexto en el que la agresividad se manifiesta (ante un co-específico o en un contexto sexual). De forma interesante, la administración exógena de insulina a las ratas hembras tratadas con STZ en etapa adulta, evaluadas en la prueba de CnR, revirtió completamente el incremento de conductas agresivas.

No es sorprendente que los niveles de glucosa en sangre influyan en el comportamiento, debido a que el cerebro (como el resto del organismo) es dependiente de la glucosa y una falla en su control influye en su correcto

funcionamiento. En la clínica se ha demostrado que en pacientes con DM1 existe una correlación positiva entre los niveles de hemoglobina glucosilada y los niveles de agresión en delincuentes juveniles (Leonard, Savik, Plumbo, & Christensen, 2002) o en comportamientos tipo bullying (Storch et al., 2006). Por otro lado, la prevalencia de DM se ha estimado que es mayor en agresores sexuales en comparación con la población general (2:1) (Langevin, Langevin, Curnoe, & Bain, 2008). También se ha reportado que los pacientes diabéticos presentan más agresiones verbales, que aquellos pacientes que padecen otras enfermedades crónicas, como la hipertensión o alteraciones musculoesqueléticas (Tilov, Semerdzhieva, Bakova, & Torniyova, 2016). Estos datos, junto con las observaciones realizadas en este estudio, apoyan la idea de que la falta de insulina está relacionada con el incremento de la agresividad. Esta premisa deberá ser estudiada con detalle más adelante.

No debe dejar de considerarse que en el paradigma donde la hembra no es capaz de regular el ritmo de la cópula (CnR) distintos autores han reportado que existe un incremento en las conductas agresivas (Paredes & Vazquez, 1999; Ventura-Aquino & Fernandez-Guasti, 2013). Sin embargo, al evaluar los eventos agresivos en el paradigma de CR (fig. 6) -considerado un paradigma de evitación pasiva-, se encontró una tendencia al aumento de estas conductas, aun cuando la hembra tenía la posibilidad de evadir al macho escapando al compartimento neutro, lo que sugiere que las hembras tratadas con STZ interactúan con el macho simplemente para agredirlo.

Sobre el control a nivel central de las conductas agresivas podemos mencionar distintas áreas cerebrales involucradas, entre ellas la amígdala y el mPOA. Hoshina en 1994 (Hoshina, Takeo, Nakano, Sato, & Sakuma, 1994) demostró que lesionando el mPOA se incrementa el número de conductas de rechazo hacia el macho durante la prueba de CnR (Hoshina et al., 1994). En un estudio en hámster, utilizando la técnica de inmunohistoquímica para c-Fos, se determinó que después de un evento agresivo, la amígdala fue el área cerebral con mayor actividad (Joppa & Lafayette, 1995). Otro sistema que se ve involucrado en la expresión de conductas agresivas es el sistema de neurotransmisión serotoninérgico. Se ha demostrado que después de la administración de agonistas del receptor 5HT-1A se reduce el número de conductas agresivas presentadas por hembras post parto ante un macho intruso (De Almeida & Lucion, 1997). Por otro lado, el grupo de Miyata (2004) (Miyata, Hirano, & Kanei, 2004), reportó que la tasa de recaptura de serotonina está incrementada en la corteza cerebral y el cerebro medio en ratones tratados con STZ, además de que la respuesta antidepresiva mediada por el

receptor 5-HT<sub>1A</sub> se encuentra atenuada en estos animales. Estudios futuros deberán encaminarse a entender los mecanismos que subyacen a la relación DM-agresividad en las hembras con mayor profundidad.

Otra área cerebral relacionada con el procesamiento de las conductas agresivas es el núcleo accumbens (Nacc). Se ha demostrado que en hembras la lesión de esta área cerebral incrementa el número de conductas agresivas, sin modificar las conductas proceptivas (Rivas & Mir, 1991). Aunado a este dato, el trabajo realizado por el grupo de Pal (2002) encontró evidencias de que los animales tratados con STZ presentan modificaciones en esta estructura relacionadas con cambios en la ingesta de alimentos (Pal & Pal, 2002). Es posible, entonces, que las alteraciones presentes en el Nacc en estos animales también puedan estar involucradas en el incremento de la agresividad observada en las hembras tratadas con dicho fármaco en este estudio, hipótesis que deberá ser confirmada en futuras investigaciones.

Siguiendo el planteamiento anterior acerca de la coexistencia de conductas proceptivas y agresivas durante la cópula, es posible pensar que estas dos conductas sean mutuamente excluyentes, basado en el hecho de que la inhibición de un comportamiento motivado es necesaria para la correcta expresión de una conducta de rechazo (Numan & Insel, 2003). Sin embargo, esta idea ha sido cuestionada recientemente. En un trabajo realizado en nuestro laboratorio se encontró que en hembras en post-parto existía un alto porcentaje de transiciones rápidas entre las conductas proceptivas y agresiones maternas (Agrati, Fernández-Guasti, Ferreño, & Ferreira, 2011). Estas observaciones se realizaron cuando la hembra se exponía a un macho sexualmente experto en la caja donde se encontraban las crías. En cambio, si la prueba se realizaba en una caja sin la presencia de las crías, la hembra no se mostraba agresiva y desplegaba conductas proceptivas ante el macho. Estos datos apoyan la idea de la coexistencia de conductas agresivas y proceptivas cuando la hembra se enfrenta a los dos estímulos (el materno y el sexual). Es decir que el contexto podría determinar la expresión de estas conductas. Estos datos son relevantes para nuestro estudio debido a que, como se mencionó anteriormente, la hembra agrede al macho en los dos paradigmas utilizados, a pesar de que en la prueba de CR ella puede escapar del macho.

#### **d) Posibles efectos de la hiperglucemia/ hipoinsulinemia en la cópula regulada.**

En nuestro trabajo, las ratas tratadas con STZ en etapa adulta presentaron bajos niveles de receptividad y, debido a esto, los machos no realizaron de manera eficaz intromisiones, ni eyaculaciones y, por lo tanto, no fue posible calcular las latencias de retorno (componente sensorial), ni los porcentajes de salida (componente motivacional) después del contacto sexual. Sin embargo, al cuantificar los tiempos de interacción entre la hembra y el macho, así como el tiempo de permanencia en el compartimento donde se encontraba el macho, no se encontraron diferencias con el grupo tratado con buffer. Estos resultados no nos permitieron determinar con claridad la motivación de la hembra para copular, el cual era uno de los objetivos principales de esta investigación. Así que, para poder analizar esto desde una mejor aproximación, sería interesante estudiar la motivación sexual en otros paradigmas, como el de motivación sexual incentiva.

Por otro lado, el grupo de Yang (Yang & Clemens, 2000), demostró que al evaluar a hembras en el paradigma de CR después de la lesión del mPOA, se incrementaban las latencias de retorno después de una intromisión, o una eyaculación, sugiriendo que esta área está involucrada en regular el patrón temporal de la hembra durante la CR. Asimismo, se ha demostrado que la transección de los nervios pélvicos y pudendos (que llevan la información sensorial de la vagina, el cérvix, el útero y el clítoris), las hembras no eran capaces de distinguir entre la estimulación provocada por una monta, una intromisión o una eyaculación y, por lo tanto, las latencias de retorno después de cada una de estas estimulaciones no difería (M. S. Erskine, 1992). Estos hallazgos permitieron concluir que la estimulación VCS transmitida a través de dichos nervios es importante para establecer el patrón temporal del comportamiento sexual femenino en esta prueba (Yang & Clemens, 2000). Lo anterior podría sugerir que existen alteraciones en el procesamiento de la información somatosensorial integrada en los nervios pélvicos y pudendos y/o en el circuito neuronal involucrado en la regulación del ritmo de la cópula (mPOA, en específico) en los animales tratados con STZ, hipótesis que debe ser confirmada en un futuro.

Aunado a la idea anterior, se ha demostrado que tras 29 días de administración de STZ en ratas adultas existe un incremento en las respuestas de alodinia (condición en la que se percibe un estímulo no doloroso como doloroso) y vulvodinia (Ali et al., 2015; Aman et al., 2016). Asimismo, se ha demostrado

que después de 12 semanas de tratamiento usando el modelo de DM inducida en etapa neonatal, las ratas hiperglucémicas presentan hiperalgesia mecánica (Ferreira-da-Silva et al., 2013). Estos datos, en conjunto, sugieren que las ratas pudieran experimentar nocicepción cuando son montadas o al recibir una intromisión del macho, interfiriendo esto con el desempeño adecuado de la cópula.

Los resultados obtenidos en la prueba de CR en el modelo de administración de STZ en etapa neonatal contrastan cuando se evalúan el tiempo total de la prueba (1h) (en donde no se encontraron cambios significativos tras la administración de STZ en el LQ e IL), en comparación con la evaluación de sólo 10 montas (donde se encontró una disminución en la receptividad sexual en los animales tratados con STZ). Estas diferencias pueden ser explicadas siguiendo la línea de ideas acerca de la nocicepción, tomando en cuenta que se ha demostrado que 5 intromisiones son suficientes para generar un efecto analgésico en la rata hembra, sin importar el paradigma de conducta sexual utilizado (Lee & Erskine, 2000). Este efecto analgésico pudo haber sido el mecanismo involucrado en prevenir el efecto inhibitorio de STZ sobre la receptividad sexual cuando se considera el tiempo total de la prueba de CR, puesto que de esta forma, se contemplaron un mayor número estimulaciones, en comparación con los primeros minutos de la prueba, en donde se realizan las 10 primeras montas.

Hasta ahora no existen reportes clínicos del impacto directo del dolor sobre la motivación sexual. Sin embargo, existe una alta prevalencia en trastornos del deseo sexual en poblaciones con problemas de dolor (Fine, 2011), lo cual sugiere que éste tiene una influencia negativa sobre la motivación sexual (Farmer et al., 2014). Se ha considerado que la DM puede causar vulvodinia (Kalra, Kalra, & Bajaj, 2013) y que la neuropatía provocada por la DM puede ser un factor de riesgo para padecer alguna disfunción sexual (Li, Wang, Xiao, Lou, & Fish, 2016).

*- No existen alteraciones en el ciclo estral de las hembras administradas con STZ en etapa neonatal*

El número acumulado de eventos presentados de cada fase del ciclo estral en las hembras adultas tratadas con STZ en la etapa neonatal, no difiere del grupo tratado con buffer. Los resultados obtenidos en este estudio concuerdan con los publicados por el grupo de Inhasz y cols. (Inhasz Kiss et al., 2013), que tampoco encontró cambios en la duración del ciclo estral utilizando el mismo

modelo de DM. Es importante señalar que el registro de un ciclo estral regular no necesariamente indica que la ovulación haya ocurrido, ya que la luteinización de un folículo con la consecuente liberación de un oocito puede también presentarse en folículos no desprendidos (Goldman et al., 2007). Este fenómeno pudiera estar sucediendo en las hembras tratadas con STZ en la etapa neonatal, ya que el grupo de Inhasz demostró que estos animales presentan una alteración folicular y un daño en la formación del cuerpo lúteo (Inhasz Kiss et al., 2013).

Al parecer, las alteraciones en el ciclo estral en las ratas tratadas con STZ, se observan dependiendo del nivel de hiperglucemia, como ha sido sugerido por Inhasz et. al, ya que cuando es severa (como en el caso del modelo de administración de STZ en la etapa adulta) existe una disrupción en la regularidad del ciclo, aumentando el número y duración de la fase diestro (Gentry & Blaustein, 1977; Yildiz & Sandikci, 2016) (ver anexo, fig. 35). Sin embargo, cuando se presenta una hiperglucemia moderada estos cambios no se observan. En apoyo a esta idea, está bien establecido que las pacientes con DM1 presentan irregularidades en la duración del ciclo menstrual, así como oligomenorreas, amenorreas, una disminución en la fertilidad y mayores tasas de muerte fetal (Salonia et al., 2006; Strotmeyer, Steenkiste, Foley, Berga, & Dorman, 2003; Yildiz & Sandikci, 2016), mientras que en las pacientes con DM2 esta asociación es controversial (Conn, Jacobs, & Conway, 2000; Kjaer, Hagen, Sandø, & Eshøj, 2016; Shim, Oh, Lee, Hong, & Sung, 2011).

Los resultados obtenidos en la presente investigación proveen evidencia sobre algunas alteraciones conductuales ocasionadas por la hiperglucemia/hipoinsulinemia en dos modelos distintos que se utilizan para el estudio de la DM. Sin embargo, debido a que ninguno logra mimetizar toda la serie de respuestas que ocurren en los pacientes ante esta enfermedad, es importante realizar más estudios que determinen con mayor certeza qué ocurre con el componente motivacional ante la hiperglucemia e investigar con profundidad los sistemas de neurotransmisión que se ven afectados por esta condición.

## **VIII. CONCLUSION**

El presente trabajo muestra que utilizando el modelo de administración de STZ en etapa adulta las hembras exhiben un perfil conductual similar: una inhibición de la lordosis y un incremento en las conductas agresivas, sin importar el paradigma en el que sean evaluadas: CnR/CR. Estos resultados apoyan la idea del aumento de la prevalencia de las disfunciones sexuales y de agresión

en el ámbito clínico de las pacientes con DM1, como ha sido reportado previamente.

En contraste, el patrón conductual de las ratas hembra tratadas con STZ en etapa neonatal varía dependiendo del paradigma utilizado para evaluar la conducta sexual. Así, observamos una disminución en la receptividad sexual y un incremento en la agresividad en la CnR, sin presentarse cambios en estos parámetros cuando las ratas se evaluaron en CR. Además, en este último paradigma pudimos observar una reducción en la proceptividad de los animales hiperglucémicos en ciclo natural u OVX tratadas con hormonas, sugiriendo una posible reducción en la motivación sexual. Sin embargo, no fue posible determinar el componente motivacional y sensorial de la cópula en el paradigma de CR. Por lo tanto, es necesario estudiar el factor motivacional de la conducta sexual de estos animales en otras pruebas, como la preferencia de pareja o la motivación sexual incentiva.

De manera interesante, este trabajo muestra evidencias de que los cambios conductuales observados en hembras con DM se ven acentuados cuando la condición de hiperglucemia de los animales es más severa (como la que ocurre en el modelo de administración de STZ en etapa adulta), en comparación a cuando es moderada (como la que se presenta en el modelo de administración de STZ en etapa neonatal). Cabe mencionar que la importancia de este estudio es que este es el único trabajo que ha realizado esta comparación conductual entre dos modelos de hiperglucemia en ratas hembras. Esto es importante, dado que los distintos modelos de DM permiten analizar distintas facetas de esta enfermedad. Estudios futuros deberán enfocarse a examinar los mecanismos que subyacen a la asociación entre DM y disfunción sexual, y en el desarrollo de nuevas aproximaciones terapéuticas que puedan aminorar las alteraciones sexuales de las pacientes con DM.



## **IX. PERSPECTIVAS**

### **STZ en etapa adulta:**

- ❖ Estudiar el efecto de la insulina sobre la receptividad y proceptividad de ratas OVX, evaluadas en el paradigma de CR.

- ❖ Estudiar si en las hembras tratadas con STZ en la etapa adulta existen alteraciones en la motivación sexual, evaluándolos en otros paradigmas de conducta sexual que permitan estudiar el componente motivacional de la cópula, tales como la de preferencia de pareja o la prueba de motivación sexual incentiva.
- ❖ Elucidar si el aumento en las conductas agresivas, en los animales tratados con STZ en etapa adulta, es debido a la hipoinsulinemia o la hiperglucemia, mediante la administración de insulina ICV.

#### **STZ en etapa neonatal:**

- ❖ Evaluar otros aspectos de la motivación sexual femenina haciendo uso de otros paradigmas, como el de preferencia de pareja o la prueba de motivación sexual incentiva.
- ❖ Determinar si la CR en los animales tratados con STZ induce neurogénesis en el bulbo olfatorio, como se ha demostrado en animales control.
- ❖ Estudiar la expresión de los receptores a estrógenos tipo  $\alpha$  en la zona de preóptica y ventromedial del hipotálamo.

**X. REFERENCIAS**

- Adams, S., Heckard, D., Hassell, J., & Uphouse, L. (2012). Factors influencing fluoxetine-induced sexual dysfunction in female rats. *Behavioural Brain Research*, 235(1), 73–81. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2012.07.029>
- Ågmo, A. (1999). Sexual motivation — an inquiry into events determining the occurrence of sexual behavior. *Behavioural Brain Research*, 105(1), 129–150.
- Ågmo, A. (2014). Animal models of female sexual dysfunction: Basic considerations on drugs, arousal, motivation and behavior. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 121, 3–15. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2013.10.003>
- Agrati, D., Fernández-Guasti, A., Ferreño, M., & Ferreira, A. (2011). Coexpression of Sexual Behavior and Maternal Aggression : The Ambivalence of Sexually Active Mother Rats Toward Male Intruders. *Behavioral Neuroscience*, 125(3), 446–451.
- Ahdieh, H. B., Hamilton, J. M., & Wade, G. N. (1983). Copulatory behavior and hypothalamic estrogen and progesterin receptors in chronically insulin-deficient female rats. *Physiology and Behavior*, 31(2), 219–223. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(83\)90122-1](https://doi.org/10.1016/0031-9384(83)90122-1)
- Ali, G., Subhan, F., Abbas, M., Zeb, J., Shahid, M., & Sewell, R. D. E. (2015). A streptozotocin-induced diabetic neuropathic pain model for static or dynamic mechanical allodynia and vulvodinia : validation using topical and systemic gabapentin. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 388(11), 1129–1140. <https://doi.org/10.1007/s00210-015-1145-y>
- Aliño, J. J. L. I., Miyar, M. V., & American Psychiatric Association. (2014). *DSM-V-TR: Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales*. American Psychiatric Pub.
- Aman, U., Subhan, F., Shahid, M., Akbar, S., Ahmad, N., Ali, G., ... Sewell, R. D. E. (2016). *Passiflora incarnata* attenuation of neuropathic allodynia and vulvodinia apropos GABA-ergic and opioidergic antinociceptive and behavioural mechanisms. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(1), 1–17. <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1048-6>
- American Diabetes Association. (2016). Retrieved from [http://www.diabetes.org/diabetes-basics/type-2/?loc=util-header\\_type2](http://www.diabetes.org/diabetes-basics/type-2/?loc=util-header_type2)
- Arulmozhi, D. K., Veeranjanyulu, A., & Bodhankar, S. L. (2004). Neonatal streptozotocin-induced rat model of Type 2 diabetes mellitus: A glance. *Indian Journal of Pharmacology*, 36(4), 217–221.
- Bacon, C. G., Hu, F. B., Giovannucci, E., Glasser, D. B., Mittleman, M. A., & Rimm, E. B. (2002). Association of type and duration of diabetes with erectile dysfunction in a large cohort of men. *Diabetes Care*, 25(8), 1458–1463. <https://doi.org/10.2337/diacare.25.8.1458>
- Ballester, J., Muñoz, M. C., Domínguez, J., Palomo, M. J., Rivera, M., Rigau, T., ... Rodríguez-Gil, J. E. (2007). Tungstate administration improves the sexual and reproductive function in female rats with streptozotocin-induced diabetes. *Human Reproduction*, 22(8), 2128–35. <https://doi.org/10.1093/humrep/dem168>
- Bargiota, A., Dimitropoulos, K., Tzortzis, V., & Koukoulis, G. (2011). Sexual dysfunction in diabetic women. *Hormones*, 10(3), 196–206.
- Begg, D. P., May, A. A., Mul, J. D., Liu, M., & Alessio, D. A. D. (2015). Insulin Detemir Is Transported From Blood to Cerebrospinal Fluid and Has Prolonged Central Anorectic Action Relative to NPH Insulin. *Diabetes*, 64(July), 2457–2466. <https://doi.org/10.2337/db14-1364>

- Bell, R., & Hye, R. (1983). Animal models of diabetes mellitus: physiology and pathology. *Journal of Surgical Research*, 460. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0022480483900343>
- Bequer, L., Gómez, T., Molina, J. L., Artilles, D., Bermúdez, R., & Clapés, S. (2016). Acción diabetogénica de la estreptozotocina en un modelo experimental de inducción neonatal. *Biomédica: Revista Del Instituto Nacional de Salud*, 36(2), 2–26.
- Bergheim, D., Chu, X., & Ågmo, A. (2015). The function and meaning of female rat paracopulatory (proceptive) behaviors. *Behavioural Processes*, 118, 34–41. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2015.05.011>
- Bestetti, G., Locatelli, V., Tirone, F., Rossi, G. L., & Müller, E. E. (1985). One month of streptozotocin-diabetes induces different neuroendocrine and morphological alterations in the hypothalamo-pituitary axis of male and female rats. *Endocrinology*, 117(1), 208–216. <https://doi.org/10.1210/endo-117-1-208>
- Bestetti, Hofer, & Rossi. (1987). The preoptic-suprachiasmatic nuclei though morphologically heterogeneous are equally affected by streptozotocin diabetes. *Experimental Brain Research*, 66(1), 74–82.
- Blaustein, J. D., & Erskine, M. (2002). Feminine Sexual Behavior: Cellular Integration of Hormonal and Afferent Information in the Rodent Forebrain. *Hormones, Brain and Behavior*, 1, 139–214. Retrieved from <http://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=6GgHpQdk8vYC&oi=fnd&pg=PA139&dq=Feminine+sexual+behavior:+cellular+integration+of+hormonal+and+afferent+information+in+the+rodent+forebrain&ots=ObqOo0zaRk&sig=UYr9kfQocwG5asNIC33bPwuHje8>
- Caruso, S., Cicero, C., Romano, M., Presti, L. Lo, Ventura, B., & Malandrino, C. (2012). Tadalafil 5 mg Daily Treatment for Type 1 Diabetic Premenopausal. *The Journal of Sexual Medicine*, 9(8), 2057–2065. <https://doi.org/10.1111/j.1743-6109.2012.02777.x>
- Chatzigeorgiou, A., Halapas, A., Kalafatakis, K., & Kamper, E. (2009). The use of animal models in the study of diabetes mellitus. *In Vivo*, 23(2), 245–58. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19414410>
- Clegg, D., Hevener, A. L., Moreau, K. L., Morselli, E., Criollo, A., Pelt, R. E. Van, & Vieira-potter, V. J. (2017). Sex Hormones and Cardiometabolic Health: Role of Estrogen and Estrogen Receptors. *Endocrinology*, 158(February), 1095–1105. <https://doi.org/10.1210/en.2016-1677>
- Coirini, H., Weisenberg, L., Tornello, S., & De Nicola, A. (1980). Effect of experimental diabetes on estradiol binding by the anterior pituitary and hypothalamus in ovariectomized rats. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 36(6), 683–685.
- Conn, J. J., Jacobs, H. S., & Conway, G. S. (2000). The prevalence of polycystic ovaries in women with type 2 diabetes mellitus. *Clinical Endocrinology*, 52(1), 81–86.
- Coopersmith, C., Candurra, C., & Erskine, M. S. (1996). Effects of paced mating and intromissive stimulation on feminine sexual behavior and estrus termination in the cycling rat. *Journal of Comparative Psychology*, 110(2), 176–186. <https://doi.org/10.1037/0735-7036.110.2.176>
- Cora, M. C., Kooistra, L., & Travlos, G. (2015). Vaginal Cytology of the Laboratory Rat and Mouse: Review and Criteria for the Staging of the Estrous Cycle Using Stained Vaginal Smears. *Toxicologic Pathology*, 0192623315570339-. <https://doi.org/10.1177/0192623315570339>

- De Almeida, R. M. M., & Lucion, A. B. (1997). 8-OH-DPAT in the median raphe , dorsal periaqueductal gray and corticomedial amygdala nucleus decreases , but in the medial septal area it can increase maternal aggressive behavior in rats. *Psychopharmacology*, *134*(4), 392–400.
- de Luis, D. A., & Romero, E. (2013). Análogos de insulina : modificaciones en la estructura , consecuencias moleculares y metabólicas. *SEMERGEN - Medicina de Familia*, *39*(1), 34–40. <https://doi.org/10.1016/j.semerg.2012.04.010>
- Dornan, W. A., Peterson, M., Matuszewich, L., & Malen, P. (1991). Ibotenic acid-induced lesions of the medial zona incerta decrease lordosis behavior in the female rat. *Behavioral Neuroscience*, *105*(1), 210–214. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.105.1.210>
- Doruk, H., Akbay, E., Cayan, S., Bozlu, M., & Acar, D. (2005). Effect of diabetes mellitus on female sexual function and risk factors. *Archives of Andrology*, *51*(1), 1–6. <https://doi.org/10.1080/014850190512798>
- Duby, J., Campbell, R., Setter, S., White, J., & Rasmussen, K. (2004). Diabetic neuropathy: An intensive review. *American Journal of Health-System Pharmacy*, *61*(2), 160–176. <https://doi.org/10.2337/diabetes.54.6.1615>
- Dudley, S., Ramirez, I., & Wade, G. (1981). Deficits in pituitary and brain cell nuclear retention of (3H) estradiol in diabetic rats deprived of insulin: Time course and metabolic correlates. *Neuroendocrinology*, *33*(1), 1–6.
- Enzlin, P., Mathieu, C., Vanderschueren, D., & Demyttenaere, K. (1998). Diabetes mellitus and female sexuality: a review of 25 years' research. *Diabetic Medicine*, *15*(10), 809–815. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9136\(199810\)15:10<809::AID-DIA689>3.0.CO;2-Z](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9136(199810)15:10<809::AID-DIA689>3.0.CO;2-Z)
- Erskine, M. S. (1989). Solicitation behavior in the estrous female rat: A review. *Hormones and Behavior*, *23*(4), 473–502. [https://doi.org/10.1016/0018-506X\(89\)90037-8](https://doi.org/10.1016/0018-506X(89)90037-8)
- Erskine, M. S. (1992). Pelvic and pudendal nerves influence the display of paced mating behavior in response to estrogen and progesterone in the female rat. *Behavioral Neuroscience*, *106*(4).
- Farmer, M. A., Leja, A., Foxen-craft, E., Chan, L., Macintyre, L. C., Niaki, T., ... Mogil, J. S. (2014). Pain Reduces Sexual Motivation in Female But Not Male Mice. *Journal of Neuroscience*, *34*(17), 5747–5753. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5337-13.2014>
- Ferreira-da-Silva, F. W., Silva-Slves, K. S., Lemos-dos-Santos, M., Oliveira, K. A. De, Joca, H. C., Cardoso, O., ... Leal-Cardoso, J. H. (2013). n5-STZ Diabetic Model Develops Alterations in Sciatic Nerve and Dorsal Root Ganglia Neurons of Wistar Rats. *ISRN Endocrinology*, *2013*.
- Fine, P. G. (2011). Long-Term Consequences of Chronic Pain : Mounting Evidence for Pain as a Neurological. *Pain Medicine*, *12*(7), 996–1004.
- García-Cárdenas, N., Olvera-Hernández, S., Gómez-Quintanar, B. N., & Fernández-Guasti, A. (2015). Male rats with same sex preference show high experimental anxiety and lack of anxiogenic-like effect of fl uoxetine in the plus maze test. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, *135*, 128–135. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2015.05.017>
- Gentry, W., & Blaustein, J. D. (1977). Diabetes mellitus was induced in the ovariectomized rats by intraperitoneal. *Brain Research*, *130*, 135–146.
- Giddings, S. J., Orland, M. J., Weir, G. C., Bonner-Weir, S., & Permutt, M. A. (1985). Impaired insulin biosynthetic capacity in a rat model for non-insulin-dependent diabetes: Studies with dexamethasone. *Diabetes*, *34*(3), 235–240.

- Gil-Velázquez, L. E. ., Sil-Acosta, M. J. ., Domínguez-Sánchez, E. R. ., Torres-Arreola, L. D. P. ., & Medina-Chávez, J. H. . (2013). Guía de práctica clínica diagnóstico y tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*, *51*(1), 104–19.
- Goldman, J. M., Murr, A. A. S., & Cooper, R. L. (2007). The Rodent Estrous Cycle : Characterization of Vaginal Cytology and Its Utility in Toxicological Studies. *Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology*, *97*, 84–97. <https://doi.org/10.1002/bdrb>
- Gómez Ayala, A. E. (2008). Terapia insulínica. *Offarm: Farmacia Y Sociedad*, *27*.
- Gonzalez, M. I., Vaziri, S., & Wilson, C. a. (1996). Behavioral effects of alpha-MSH and MCH after central administration in the female rat. *Peptides*, *17*(1), 171–177.
- Hashimoto, H., Moritani, N., Terada, M., Kromkhun, P., Fungfuaug, W., Nakada, T., ... Saito, T. R. (2010). Improvement of hyperglycemia and sexual dysfunction in diabetic female rats by an artificial endocrine pancreas developed from mouse beta cells. *Experimental Animals*, *59*(4), 515–519. <https://doi.org/10.1538/expanim.59.515>
- Henríquez, M. S., & Hernández, D. (2007). *Tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 en el primer nivel de atención*. IMSS.
- Hilakivi-Clarke, L. (1991). Effects of Tryptophan on Depression and Aggression in STZ-D Mice. *Diabetes*, *40*(December), 1598–1602.
- Hilakivi-Clarke, L., Wozniak, K., Durcan, M., & Linnoila, M. (1990). Behavior of Streptozotocin-Diabetic Mice in Tests of Exploration , Locomotion , Anxiety , Depression and Aggression. *Physiology & Behavior*, *48*(3), 429–433.
- Homko, C. J., & Trout, K. (2006). Women and Diabetes. *Nursing Clinics of North America*, *41*(4), 549–565. <https://doi.org/10.1016/j.cnur.2006.07.004>
- Hoshina, Y., Takeo, T., Nakano, K., Sato, T., & Sakuma, Y. (1994). Axon-sparing lesion of the preoptic area enhances receptivity and diminishes proceptivity among components of female rat sexual behavior. *Behavioural Brain Research*, *61*, 197–204.
- Inhasz Kiss, A. C., Woodside, B., Sinzato, Y. K., Bernardi, M. M., De Grava Kempinas, W., Anselmo-Franci, J. A., & Damasceno, D. C. (2013). Neonatally induced mild diabetes: influence on development, behavior and reproductive function of female Wistar rats. *Diabetology & Metabolic Syndrome*, *5*(1), 61. <https://doi.org/10.1186/1758-5996-5-61>
- International Diabetes Federation. (2017). Retrieved from <https://www.idf.org/>
- Joppa, M. A., & Lafayette, W. (1995). c-Fos EXPRESSION IN FEMALE HAMSTER BRAIN. *Neuroscience*, *68*(3), 783–792.
- Kalra, B., Kalra, S., & Bajaj, S. (2013). Vulvodynia: an unrecognized diabetic neuropathic syndrome. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, *17*(5).
- Karkanias, G. B., Morales, J. C., & Li, C. S. (1997). Deficits in reproductive behavior in diabetic female rats are due to hypoinsulinemia rather than hyperglycemia. *Horm Behav*, *32*(1), 19–29. [https://doi.org/S0018-506X\(97\)91401-X](https://doi.org/S0018-506X(97)91401-X) [pii]n10.1006/hbeh.1997.1401
- Kaspersen, H., & Agmo, A. (2012). Paroxetine-induced reduction of sexual incentive motivation in female rats is not modified by 5-HT 1B or 5-HT 2C antagonists. *Psychopharmacology*, *220*(2), 269–280. <https://doi.org/10.1007/s00213-011-2475-1>
- Kim, N. N., Stankovic, M., Cushman, T. T., Goldstein, I., Munarriz, R., & Traish, A. M. (2006). Streptozotocin-induced diabetes in the rat is associated with

- changes in vaginal hemodynamics , morphology and biochemical markers. *BMC Physiology*, 6(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/1472-6793-6-4>
- Kizilay, F., Gali, H. E., & Serefoglu, E. C. (2016). Diabetes and Sexuality. *Sexual Medicine Reviews*, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.sxmr.2016.07.002>
- Kjaer, K., Hagen, C. L. A. U. S., Sandø, S. H., & Eshøj, O. (2016). Epidemiology of menarche and menstrual disturbances in an Unselected Group of Women with Insulin- Dependent Compared to controls. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 75(June), 524–529. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1502479&tool=pmcentrez&rendertype=abstract%5Cnhttp://www.pnas.org/content/103/27/10456.long>
- Kovacs, P., Morales, J. C., & Karkanias, G. B. (2003). Central insulin administration maintains reproductive behavior in diabetic female rats. *Neuroendocrinology*, 78(2), 90–95. <https://doi.org/10.1159/000071964>
- Langevin, R., Langevin, M., Curnoe, S., & Bain, J. (2008). The prevalence of diabetes among sexual and violent offenders and its co-occurrence with cognitive impairment, mania, psychotic symptoms and aggressive behavior. *International Journal of Prisoner Health*, 4(2), 83–95. <https://doi.org/10.1080/17449200802038215>
- Lee, J., & Erskine, M. S. (2000). Changes in pain threshold and lumbar spinal cord immediate-early gene expression induced by paced and nonpaced mating in female rats. *Brain Research*, 861(1), 26–36.
- Lee, Li, Kim, Ahn, Kim, & Park. (2012). Effect of Hyperglycemia on Expression of Aquaporins in the Rat Vagina. *Urology*, 80(3), 7–12. <https://doi.org/10.1016/j.urology.2012.03.026>
- Lenzen, S. (2008). The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, 51, 216–226. <https://doi.org/10.1007/s00125-007-0886-7>
- Leonard, B. J., Savik, K., Plumbo, P. M., & Christensen, R. (2002). Psychosocial Factors Associated With Levels of Metabolic Control in Youth With Type 1 Diabetes. *Journal of Pediatric Nursing*, 17(1). <https://doi.org/10.1053/jpdn.2002.30931>
- Li, F., Wang, Y., Xiao, L., Lou, Q., & Fish, A. F. (2016). Frequency , severity , and risk factors related to sexual dysfunction in Chinese women with T2D. *Journal of Diabetes*, 8, 544–551. <https://doi.org/10.1111/1753-0407.12335>
- Liang, X., Guo, Y., Sun, M., Ding, Y., Wang, N., Yuan, L., & De, W. (2011). Streptozotocin-induced expression of Ngn3 and Pax4 in neonatal rat pancreatic  $\alpha$  -cells. *World Journal of Gastroenterology*, 17(23), 2812–2820. <https://doi.org/10.3748/wjg.v17.i23.2812>
- Livingstone, C., & Collison, M. (2002). Sex steroids and insulin resistance. *Clinical Science*, 102, 151–166.
- Madlafousek, J., & Hlinak, Z. (2012). Sexual Behaviour of the Female Laboratory Rat : Inventory , Patterning, and Measurement. *Behaviour*, 63(3), 129–174.
- Mahler, R. J., & Adler, M. L. (1999). Type 2 Diabetes Mellitus: Update on Diagnosis, Pathophysiology, and Treatment. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 84(4), 1165–1171. <https://doi.org/10.1210/jc.84.4.1165>
- Marcondes, F. K., Bianchi, F. ., & Tanno, A. . (2002). Determination of The Estrous Cycle Phases of Rats: Some Helpful Considerations. *Brazilian Journal Biology*, 62(4), 609–614. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842002000400008>
- Matuszczyk, J. V., Larsson, K., & Eriksson, E. (1998). Subchronic administration of

- fluoxetine impairs estrous behavior in intact female rats. *Neuropsychopharmacology*, 19(6), 492–498. [https://doi.org/10.1016/S0893-133X\(98\)00040-2](https://doi.org/10.1016/S0893-133X(98)00040-2)
- Meehan, W. P., Leedom, L. J., Nagayama, T., & Zeidler, A. (1987). Hyperglycemia and fight-flight behavior in nondiabetic and diabetic mice. *Physiology and Behavior*, 41(5), 397–403. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(87\)90072-2](https://doi.org/10.1016/0031-9384(87)90072-2)
- Michelis, M. A., Kim, Y. T., & Shin, S. (1982). Induction of Insulin-dependent Diabetes by Streptozotocin Inhibition by Estrogens and Potentiation by Androgens. *Diabetes*, 31(August), 724–729.
- Miyata, S., Hirano, S., & Kanei, J. (2004). Diabetes attenuates the antidepressant-like effect mediated by the activation of 5-HT<sub>1A</sub> receptors in the mouse tail suspension test. *Japanese Journal of Neuropsychopharmacology*, 24(3), 159–163. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300354>
- Mohamadi, Y., Jameie, S. B., & Akbari, M. (2015). Hyperglycemia Decreased Medial Amygdala Projections to Medial Preoptic Area in Experimental Model of Diabetes Mellitus. *Acta Medica Iranica*, 53(1), 1–7.
- Musatov, S., Chen, W., Pfaff, D. W., Kaplitt, M. G., & Ogawa, S. (2006). RNAi-mediated silencing of estrogen receptor {alpha} in the ventromedial nucleus of hypothalamus abolishes female sexual behaviors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(27), 10456–60. <https://doi.org/10.1073/pnas.0603045103>
- Nadal, A., Rovira, J. M., Laribi, O., & Leon-Quinto, T. (1998). Rapid insulinotropic effect of 17 $\beta$ -estradiol via a plasma. *The FASEB Journal*, 12(13), 1341–1348.
- National Diabetes Data Group. (1995). Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus and Other Categories of Glucose Intolerance. *Diabetes*, 28(12), 1039–1057. <https://doi.org/10.2337/diab.28.12.1039>
- Newman, A. S., & Bertelson, A. D. (1986). Sexual dysfunction in diabetic women. *Journal of Behavioral Medicine*, 9(3), 261–270.
- NOM 015 SSA. (2010). Para la Prevencion, Control, y Tratamiento de la Diabetes. Retrieved from [http://www.hgm.salud.gob.mx/descargas/pdf/dirgral/marco\\_juridico/normas/nom\\_14.pdf](http://www.hgm.salud.gob.mx/descargas/pdf/dirgral/marco_juridico/normas/nom_14.pdf)
- Nowosielski, K., Drosdzol, A., Sipiński, A., Kowalczyk, R., & Skrzypulec, V. (2010). Diabetes mellitus and sexuality - does it really matter? *Journal of Sexual Medicine*, 7(2 PART 1), 723–735. <https://doi.org/10.1111/j.1743-6109.2009.01561.x>
- Nowosielski, K., Wróbel, B., & Kowalczyk, R. (2016). Womens Endorsement of Models of Sexual Response: Correlates and Predictors. *Archives of Sexual Behavior*, 45(2), 291–302. <https://doi.org/10.1007/s10508-015-0611-4>
- Numan, M., & Insel, T. R. (2003). Motivational Models of the Onset and Maintenance of Maternal Behavior and Maternal Aggression. *The Neurobiology of Parental Behavior*, 69–103.
- Ogawa, S., Eng, V., Taylor, J., Lubahn, D. B., Korach, K. S., Pfaff, D. W., & York, N. (1998). Roles of Estrogen Receptor- $\alpha$  Gene Expression in Reproduction-Related Behaviors in Female Mice \*. *Endocrinology*, 139(12), 5070–5081.
- Ogbonnaya, E. C., Eleazu, K. C., Chukwuma, S., & Essien, U. N. (2013). Review of the mechanism of cell death resulting from streptozotocin challenge in experimental animals, its practical use and potential risk to humans. *Journal of Diabetes and Metabolic Disorders*, 12(1), 60. <https://doi.org/10.1186/2251-6581-12-60>



- Oidor-Chan, V. H., Hong, E., Pérez-Severiano, F., Montes, S., Torres-Narváez, J. C., Valle-Mondragón, L., ... Sánchez-Mendoza, A. (2016). Fenofibrate plus Metformin Produces Cardioprotection in a Type 2 Diabetes and Acute Myocardial Infarction Model. *PPAR Research*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/8237264>
- Olvera-Hernández, S., Chavira, R., & Fernández-Guasti, A. (2015). Prenatal letrozole produces a subpopulation of male rats with same-sex preference and arousal as well as female sexual behavior. *Physiology & Behavior*, 139, 403–411. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.11.060>
- Organización Mundial de la Salud. (2003). Diagnostic Criteria and Classification of Hyperglycaemia First Detected in Pregnancy, 1–62. Retrieved from [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/85975/1/WHO\\_NMH\\_MND\\_13.2\\_eng.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/85975/1/WHO_NMH_MND_13.2_eng.pdf?ua=1)
- Organización Mundial de la Salud. (2016a). Diabetes. Retrieved from <http://www.who.int/diabetes/es/>
- Organización Mundial de la Salud. (2016b). Diabetes: perfiles de los países 2016. Retrieved from [http://www.who.int/diabetes/country-profiles/mex\\_es.pdf](http://www.who.int/diabetes/country-profiles/mex_es.pdf)
- Pal, G. K., & Pal, P. (2002). Alteration of ingestive behaviours by nucleus accumbens in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Indian Journal of Experimental Biology*, 40(May), 536–540.
- Paredes, R. G., & Alonso, A. (1997). Sexual behavior regulated (paced) by the female induces conditioned place preference. *Behavioral Neuroscience*, 111(1), 123–8. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.111.1.123>
- Paredes, R. G., & Vazquez, B. (1999). What do female rats like about sex? Paced mating. *Behavioural Brain Research*, 105(1), 117–127. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(99\)00087-X](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(99)00087-X)
- Park, K., Ahn, K., Chang, J. S., Lee, S.-E., Ryu, S. B., & Park, Y. II. (2002). Diabetes induced alteration of clitoral hemodynamics and structure in the rabbit. *The Journal of Urology*, 168(3), 1269–72. <https://doi.org/10.1097/01.ju.0000023403.20100.7a>
- Park, K., Ryu, S. B., Park, Y. II, Ahn, K., Nyeong, S., & Nam, J. H. (2001). Diabetes Mellitus Induces Vaginal Tissue Fibrosis by TGF-beta ; 1 Expression in the Rat Model. *Journal of Sex & Marital Therapy*, 27(5), 577–587. <https://doi.org/10.1080/713846811>
- Patel, S. B., Santani, D., Patel, V., & Shah, M. (2015). Anti - diabetic effects of ethanol extract of Bryonia laciniosa seeds and its saponins rich fraction in neonatally streptozotocin - induced diabetic rats. *Pharmacology Research*, 7(1). <https://doi.org/10.4103/0974-8490.147217>
- Portha, B., & Kergoat, M. (1985). Dynamics of Glucose-induced Insulin Release During the Spontaneous Remission of Streptozocin Diabetes Induced in the Newborn Rat. *Diabetes*, 34(June).
- Portha, & Movassat, J. (2007). Neonatally streptozotocin-induced (n-STZ) diabetic rats: a family of type 2 diabetes models. *Animal Models of Diabetes*, 223–250.
- Portha, Picon, & Rosselin. (1979). Chemical Diabetes in the Adult Rat as the Spontaneous Evolution of Neonatal Diabetes. *Diabetologia*, 17, 371–377.
- Rebolledo-Solleiro, D., Crespo-Ramirez, M., Roldán-Roldán, G., Hiriart, M., & Perez de la Mora, M. (2013). Role of thirst and visual barriers in the differential behavior displayed by streptozotocin-treated rats in the elevated plus-maze and the open field test. *Physiology and Behavior*, 120, 130–135. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2013.08.002>

- Rivas, F. J., & Mir, D. (1991). Accumbens lesion in female rats increases mount rejection without modifying lordosis. *Revista Española de Fisiología*, 47(1), 1–6.
- Saito, T. R., Serizawa, I., Hokao, R., Tohei, A., Aoki-komori, S., & Takahashi, K. W. (1999). Effects of Streptozotocin-induced Proceptive Behaviors Diabetes in Female on Receptive and Rats Department of Laboratory Animal Science and \* Veterinary Medical Teaching Hospital , Nippon Veterinary okyo 180 , \* \* Pharmaceutical Development Laboratory , K, 93(9).
- Salonia, A., Lanzi, R., Scavini, M., Pontillo, M., Gatti, E., Petrella, G., ... Montorsi, F. (2006). Sexual function and endocrine profile in fertile women with type 1 diabetes. *Diabetes Care*, 29(2), 312–316.
- Secretaria de Salud. (2016). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016, 2016. Retrieved from <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/209093/ENSANUT.pdf>
- Seethalakshmi, L., Menon, M., & Diamond, D. (1987). The effect of streptozotocin-induced diabetes on the neuroendocrine-male reproductive tract axis of the adult rat. *The Journal of Urology*, 138(1), 190–194.
- Serradas, P., & Dolz, M. (2007). Neonatal streptozotocin-induced diabetes mellitus: a model of insulin resistance associated with loss of adipose mass. *Metabolism*, 56(7), 977–984. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2006.05.021>
- Shim, U., Oh, J.-Y., Lee, H. J., Hong, Y. S., & Sung, Y.-A. (2011). Long menstrual cycle is associated with type 2 diabetes mellitus in korean women. *Diabetes & Metabolism Journal*, 35(4), 384–9. <https://doi.org/10.4093/dmj.2011.35.4.384>
- Siegel, L., & Wade, G. (1979). Insulin withdrawal impairs sexual receptivity and retention of brain cell nuclear estrogen receptors in diabetic rats. *Neuroendocrinology*, 29(3), 200–206.
- Sipols, A. (1995). Effect of Intracerebroventricular Insulin Infusion on Diabetic Hyperphagia and Hypothalamic Neuropeptide Gene Expression. *Diabetes*, 44, 147–151.
- Snoeren, E. M. S., Refsgaard, L. K., Waldinger, M. D., Olivier, B., & Oosting, R. S. (2011). Chronic Paroxetine Treatment Does Not Affect Sexual Behavior in Hormonally Sub-primed Female Rats Despite 5-HT1A Receptor Desensitization. *Journal of Sexual Medicine*, 8(4), 976–988. <https://doi.org/10.1111/j.1743-6109.2010.02192.x>
- Steger, R. W., Amador, A., Lam, E., Rathert, J., Weis, J., & Smith, M. S. (1989). Streptozotocin-induced deficits in sex behavior and neuroendocrine function in male rats. *Endocrinology*, 124(4), 1737–1743. <https://doi.org/10.1210/endo-124-4-1737>
- Steger, R. W., Kienast, S. G., Pillai, S., & Rabe, M. (1993). Effects of Streptozotocin-Induced Diabetes on Neuroendocrine Responses to Ovariectomy and Estrogen Replacement in Female Rats. *Neuroendocrinology*, 57, 525–531.
- Steger, R. W., & Rabe, M. B. (1997). The effect of diabetes mellitus on endocrine and reproductive function. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 214(1), 1–10.
- Storch, E. A., Heidgerken, A. D., Geffken, G. R., Lewin, A. B., Ohleyer, V., Freddo, M., & Silverstein, J. H. (2006). Bullying, regimen self-management, and metabolic control in youth with type I diabetes. *The Journal of Pediatrics*, 148(6), 1–4.
- Strotmeyer, E. S., Steenkiste, A. R., Foley, T. P., Berga, S. L., & Dorman, J. S. (2003). Menstrual cycle differences between women with type 1 diabetes and women without diabetes. *Diabetes Care*, 26(4), 1016–1021.

- <https://doi.org/10.2337/diacare.26.4.1016>
- Tilov, B., Semerdzhieva, M., Bakova, D., & Tornyova, B. (2016). Study of the relationship between aggression and chronic diseases ( diabetes and hypertension ). *Journal of Evaluation in Clinical Practice*, 22(3), 421–424. <https://doi.org/10.1111/jep.12502>
- Tsuneki, H., Yoshida, H., Endo, K., Mori, N., & Hosoh, S. (2017). Different impacts of acylated and non-acylated long-acting insulin analogs on neural functions in vitro and in vivo. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 129, 62–72. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2017.03.032>
- Uphouse, L., Hiegel, C., Guptarak, J., & Maswood, N. (2009). Progesterone reduces the effect of the serotonin 1B / 1D receptor antagonist , GR 127935 , on lordosis behavior. *Hormones and Behavior*, 55(1), 169–174. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2008.09.011>
- Ventura-Aquino, E., & Fernandez-Guasti, A. (2013). Reduced proceptivity and sex-motivated behaviors in the female rat after repeated copulation in paced and non-paced mating: Effect of changing the male. *Physiology and Behavior*, 120, 70–76. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2013.07.006>
- Wankeu-Nya, M., Watcho, P., Nguenefack, T. B., Carro-Juarez, M., Taponjhou, L., & Kamanyi, A. (2014). Effects of *Dracaena arborea* (Dracaenaceae) on sexual dysfunction in 4 weeks hyperglycemic male rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 7(8), 609–619. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(14\)60103-6](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(14)60103-6)
- Wineze, J. P., Albert, A., & Bansa, S. (1993). Sexual Arousal in Diabetic Females : Physiological and Self-Report Measures. *Archives of Sexual Behavior*, 22(6), 587–601.
- Yang, L., & Clemens, L. G. (2000). MPOA Lesions Affect Female Pacing of Copulation in Rats. *Behavioral Neuroscience*, 114(6), 1191.
- Yildiz, M., & Sandikci, M. (2016). Changes in the uterus and vagina of rats with experimentally induced diabetes and the effect of lycopene on the changes. *Romain Journal of Morphology & Embriology*, 53(3), 151–160.
- Zipse, L. R., Brandling-Bennett, E. M., & Clark, A. S. (2000). Paced mating behavior in the naturally cycling and the hormone-treated female rat. *Physiology and Behavior*, 70(1–2), 205–209. [https://doi.org/10.1016/S0031-9384\(00\)00242-0](https://doi.org/10.1016/S0031-9384(00)00242-0)

## XI. ANEXOS

### a) Prueba piloto, curso temporal de la acción de 4U de glargina.

Basados en el trabajo de Karkanias *et al.* (1997), se decidió evaluar el efecto hipoglucemiante de la insulina glargina en ratas hembra ovariectomizadas, administradas con estreptozotocina en etapa adulta. En la figura 31, se presenta el curso temporal de las concentraciones de glucosa plasmática después de la administración de 4U de insulina. Se realizaron mediciones cada 2 h, a lo largo de 12 h, lo cual nos permitió observar que el efecto del fármaco tiene una duración de 8 h aproximadamente y a las 12 h los animales vuelven a tener glucemias elevadas.

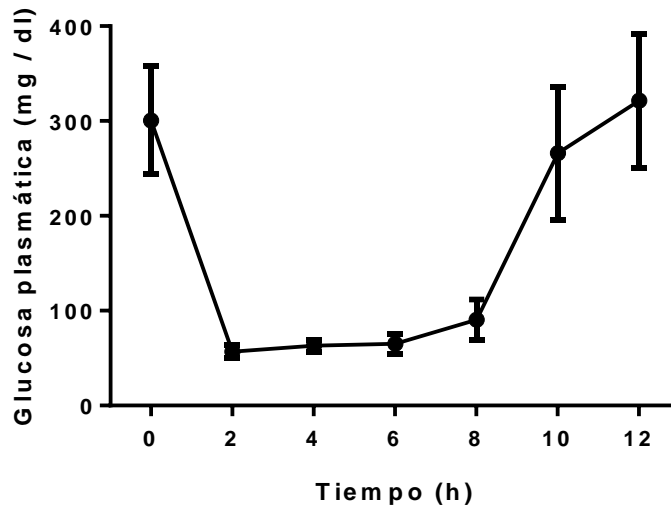


Figura 31. Curso temporal de los niveles de glucosa plasmática en animales OVX tratados con STZ en la etapa adulta (n=6), restituidos con insulina glargina (4U), a lo largo de 12h. Se presenta la media  $\pm$  EEM.

b) Prueba piloto, curso temporal de la acción de 2U de glargina.

Basados en los resultados de la administración de 4U de glargina y en el esquema de administración utilizado por Karkanias, *et al.* (1997), se decidió evaluar la duración del efecto hipoglucemiante de 2U de insulina glargina, para lo cual se realizaron mediciones de glucosa en sangre durante cada hora después de la administración del fármaco (fig. 32). El seguimiento se detuvo a las 8 h, debido a que a este tiempo las hembras tratadas con STZ comenzaron a presentar valores de glucosa elevados (mayores a 120 mg/dl).

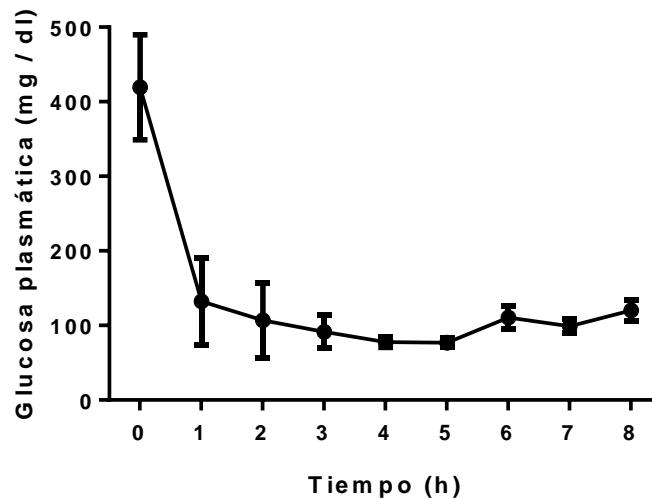


Figura 32. Curso temporal de los niveles de glucosa plasmática en animales OVX tratados con STZ en la etapa adulta (n=6), restituidos con insulina glargina (2U), a lo largo de 8h.

c) Prueba piloto, curso temporal de la acción de 2U (9 am)/ 4U (9 pm) de glargina

Los ensayos anteriores administrando 2 y 4U de insulina glargina nos permitieron determinar que el efecto hipoglucemiante del fármaco se perdía a las 12h y que en las primeras horas después de la administración de 4U de insulina glargina los animales presentaban hipoglucemias severas (figura 33). Con base en estas observaciones, se decidió administrar una combinación de ambas dosis comenzando con 2U en la mañana y 4U por la noche, de manera subcrónica (4 días antes de finalizar el diseño experimental). En la figura 33 se presenta el curso temporal de los valores de glucosa plasmática durante 4 días de administración de glucosa. Las mediciones se realizaron antes de cada administración de insulina (9:00 am y 9:00 pm) y 4 h después de la administración matutina (horario promedio en el que se realizaban las pruebas de conducta sexual).

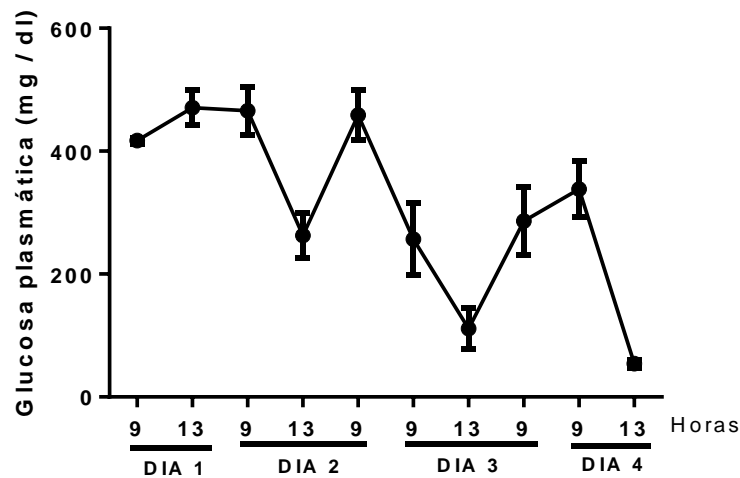
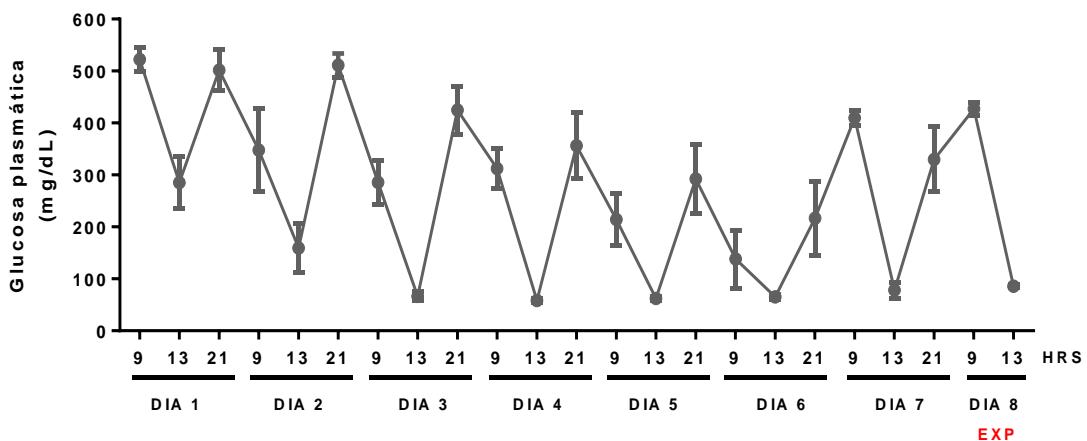


Figura 33. Curso temporal de los niveles de glucosa plasmática en animales OVX tratados con STZ en la etapa adulta (n=7), restituidos con insulina glargina 2U (9 am)/ 4U (9 pm), a lo largo de 4 días. Se presenta la media  $\pm$  EEM.

d) Seguimiento de la glucosa plasmática en animales tratados con STZ+insulina glargina.

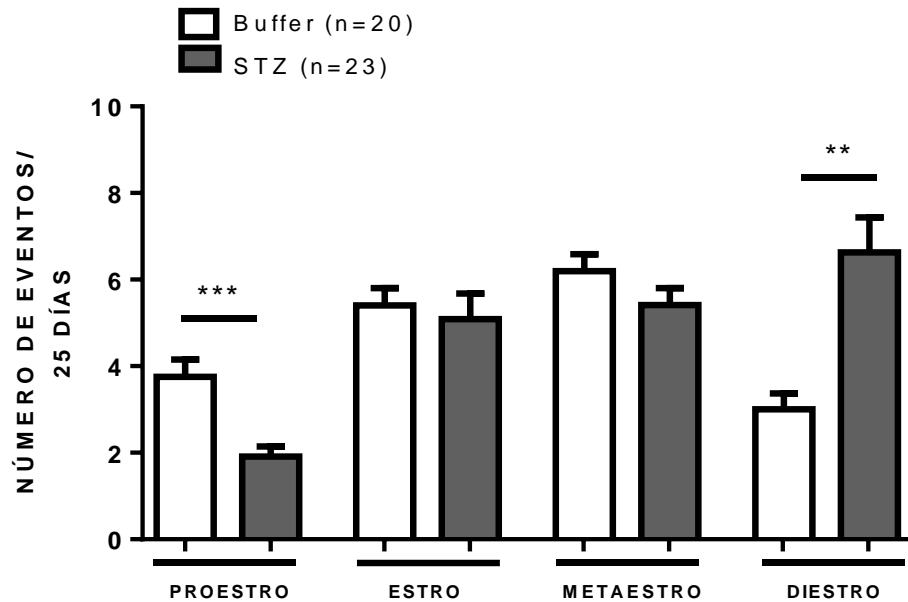
Dado que en el esquema de administración de insulina glargina descrito previamente (2U a las 9:00 am y 4U a las 9:00 pm, durante 4 días) los animales presentaban valores hipoglucémicos a la hora en que se realizan las pruebas conductuales, se decidió prolongar el tratamiento con insulina, así como disminuir la dosis del fármaco en los últimos días del diseño experimental. En la figura 34 se muestra el curso temporal de la glucosa plasmática de ratas tratadas con STZ en etapa adulta, restituidas con insulina glargina durante 8 días. Durante los primeros 6 días se administraron 2U a las 9:00 am/ 4U a las 9:00 pm, el séptimo día se administraron 2U a las 9:00 am/ 2U a las 9:00 pm (para evitar que los animales presentaran hipoglucemia). El día de la evaluación de la conducta sexual (octavo día) se administraron 2U a las 9:00 am, logrando así tener en nuestros ensayos animales normoglucémicos que fueron evaluados en la prueba de conducta sexual (CnR) entre las 13:00 y 15:00 hrs.



**Figura 34. Curso temporal de los niveles de glucosa plasmática en animales tratados con STZ en la etapa adulta, restituidos con insulina glargina, a lo largo de 8 días de experimento. Se presenta la media  $\pm$  EEM.**

e) Seguimiento del ciclo estral de ratas tratadas con STZ en etapa adulta.

En la figura 35 se presenta el número de veces que las hembras tratadas con STZ en la etapa adulta mostraron cierta fase del ciclo estral durante 25 días. Este seguimiento fue realizado previamente en nuestro laboratorio (Rebolledo-Solleiro y Fernández-Guasti, en preparación). Con base en estas observaciones, en este estudio decidimos trabajar con este modelo de DM utilizando animales ovariectomizados y tratados con hormonas ováricas, puesto que la probabilidad de encontrar una hembra receptiva en proestro natural resultaba muy baja.



**Figura 35. Número de eventos de cada fase del ciclo estral presentados durante 25 días en hembras adultas tratadas con buffer (n=20) o STZ (n=23) en la etapa adulta. Se presenta la media  $\pm$  EEM, \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$  vs. grupo tratado con buffer utilizando U Mann Whitney.**



## TRABAJOS DERIVADOS DE ESTA TESIS:

### a) CONGRESOS

- 47<sup>th</sup> Society for Neuroscience Annual Meeting. **Hernández-Munive AK**; Rebolledo-Solleiro D; Fernández-Guasti A. “Comparison of female’s sexual behavior in the paced and non-paced mating paradigms using two different rat models of diabetes”. Washington, D.C., E.U.A. Noviembre 2017 (aceptado).
- LX Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. Rebolledo-Solleiro D; **Hernández-Munive AK**; Fernández-Guasti A. Presentación oral: Conducta sexual femenina en dos modelos de hiperglucemia I. Cópula no regulada por la hembra. Monterrey, México. Agosto, 2017 (aceptado).
- LX Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. **Hernández-Munive AK**; Rebolledo-Solleiro D; Fernández-Guasti A. Presentación oral: Conducta sexual femenina en dos modelos de hiperglucemia II. Cópula regulada por la hembra. Monterrey, México. Agosto, 2017 (aceptado).
- Academia de Investigación en Biología de la Reproducción. **Hernández-Munive AK**; Rebolledo-Solleiro D; Ventura-Aquino E, Fernández-Guasti A. Trabajo en extenso: “STZ-induced diabetic female rats exhibit impaired lordosis and enhanced aggressive behaviors in paced and no-paced mating”. Guadalajara, México. May 2017.
- Academia de Investigación en Biología de la Reproducción. **Hernández-Munive KA**, Rebolledo-Solleiro D, Fernández-Guasti A. Póster: “Impacto de la hiperglucemia inducida en etapa neonatal sobre la conducta sexual femenina evaluada en los paradigmas de cópula no regulada y regulada. Guadalajara, Mayo 2017.

### b) PUBLICACIONES

- **Hernández-Munive AK**; Rebolledo-Solleiro D; Ventura-Aquino E, Fernández-Guasti. STZ-induced diabetic female rats exhibit impaired lordosis and enhanced aggressive behaviors in paced and no-paced mating” (Journal of Sexual Medicine, en revisión).
- **Hernández-Munive AK**; Rebolledo-Solleiro D; Fernández-Guasti A. “Analysis of female’s sexual behavior in paced and non-pace mating using intact and ovariectomized neonatally-induced diabetic rats ” (en preparación).