

03086

5  
2ij



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Colegio de Ciencias y Humanidades  
Unidad Académica de los Ciclos Profesional  
y de Posgrado  
Centro de Neurobiología

ACTIVIDAD REPRODUCTIVA DE LA RATA HEMBRA:  
ANALISIS ANATOMICO, ELECTROFISIOLOGICO Y  
CONDUCTUAL DEL AREA PELVICA.

**T E S I S**

Que para obtener el grado de:

DOCTORA EN CIENCIAS FISIOLÓGICAS

Presenta

**MARGARITA MARTINEZ GOMEZ**

México, D.F

1996

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

La presente tesis se realizó bajo la tutoría del Dr. Pablo Pacheco Cabrera en las instalaciones de la Universidad Autónoma de Tlaxcala.

El trabajo de tesis contó con el apoyo del Programa de Apoyo a las Divisiones de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México bajo los números de proyecto: 030374 y 030380.

**DEDICATORIA**

**A DYNO A. JUAREZ**

**COMPAÑERO DE DESVELOS Y CARRETERAS,  
CURIOSO Y OBSERVADOR, PARA EL QUE LA  
VIDA ES UNA SIMPLE SUMA  
DE IMAGINACION Y PASION.  
POR ENSEÑARME A REIR DE MI MISMA.**

## AGRADECIMIENTOS

A mi maestro el Dr. Pablo Pacheco, donde quiera que esté, Tlaxcala, Xalapa o el DF, por el privilegio de sus enseñanzas, su confianza y su amistad.

Al Dr. Manuel Salas no sólo por la revisión de la tesis y su paciencia ante mis desvaríos, sino por sus años de ejemplo de seriedad y cuidado extremo en la investigación científica.

A la Dra. Robyn Hudson y al Dr. Raúl Aguilar, "nuestros patrimoniales", por sus consejos y regaños así como por su singular entusiasmo y preocupación por la formación de mi grupo en Tlaxcala.

Al Dr. Ismael Jiménez, rara mezcla de modestia y brillantez, por su visión de lo que es el potencial de mi trabajo.

A la Dra. Sofía Díaz por su vigilancia y constante presión a mi trabajo de tesis así como por todas las facilidades que otorgó ante mi desorganización.

A mi amigo el Dr. Javier Velázquez por haberse recibido primero que yo para poder ser mi sinodal.

Al Ing. Alfredo Vázquez Galicia, amigo y académico de la UAT, por las incontables horas de discusión de lo que puede ser la academia en provincia y por facilitar las actividades de mi grupo de investigación.

A mi grupo de amigos y colegas Rosa Angélica, Porfirio, Jorge, Elena y Ramón Eguíbar por el tiempo caminado juntos aprendiendo el difícil arte de trabajar en equipo.

A mi querido CIF: Yolanda, Patricia, Miguel, René, Madaí, Rebeca, Graciela, Miguel Angel, Alejandro, Antonio, Rodolfo y Margarita, por compartir el ideal de abrir camino y crear un núcleo de investigación en Tlaxcala muy pequeño pero sólido. Por toda la ayuda para realizar esta tesis.

Al Instituto de Neuroetología de la UV: Ernesto, Marcela, Regina, Leticia, Rebeca, contraparte de apoyo y entusiasmo a mi trabajo. A Miguel Angel por su ayuda.

A mi singularísima familia: Angelina, Tomás, Mayeli, Angeles, Vicki, Elvita, Aura, Miguel, Elvia, Arturo, Dyno, Lupita, Ornella, Marne y Margarita por su inagotable ingenuidad al creer que estoy haciendo cosas más importantes que estar con ellos. Con todo cariño aunque no les prometo que es la última.

A las amigas de siempre: Lupe, Laura y Robyn por su enorme paciencia para mis divagaciones existenciales.

## INDICE

	Página
RESUMEN	1
ABSTRACT	3
INTRODUCCION	5
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	15
HIPOTESIS Y OBJETIVOS	22
NERVIO PUDENDO Y PLEXO SACRO EN LA RATA HEMBRA	
Introducción	23
Objetivo	27
Material y Método	27
Resultados	29
Discusión y conclusiones	34
RESPUESTAS DE LAS RAICES DORSALES ESPINALES A LA ESTIMULACION GENITAL EN RATAS HEMBRAS ANESTESIADAS CON URETANO	
Introducción	38
Objetivo	40
Material y Método	40
Discusión y conclusiones	53
REFLEJOS VISCERALES Y POSTURALES PRODUCIDOS POR ESTIMULACION GENITAL EN RATAS HEMBRAS ANESTESIADAS CON URETANO	
Introducción	55
Objetivo	56
Material y Método	56
Resultados	57

Discusión y conclusiones	66
--------------------------	----

**PARTICIPACION DE LAS RAMAS DEL NERVIO PELVICO  
EN EL PROCESO DEL PARTO DE LA RATA**

Introducción	70
Objetivo	76
Material y Método	76
Resultados	80
Discusión y conclusiones	87

<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>90</b>
---------------------	-----------

## RESUMEN

Los segmentos espinales lumbosacros presentan un sistema de organización funcional único entre los mamíferos, dados los componentes viscerales, somáticos y autonómicos. Tal interacción confiere rasgos característicos a las actividades reproductivas, de excreción y contención presentes en el área pélvica.

En la presente tesis se determinan parte de los diferentes componentes espinales de la actividad refleja reproductora relacionada al tracto vaginocervical y área perineal de la rata. Se utilizan técnicas anatómicas, electrofisiológicas y conductuales.

Se revisó el origen y distribución macroscópica del nervio pudendo a través de la observación con un microscopio de cirugía. Se corroboró que el nervio pudendo se origina del tronco L6-S1. Ramas del tronco L3-L5 y del nervio pudendo conforman el llamado plexo sacro. Se mostró que el nervio pudendo da origen a cinco ramas: al músculo coccígeo, a la piel perineal, al clítoris, al músculo obturador interno y una rama que va a hacer anastomosis con otra del tronco L3-L5. El tronco L3-L5 lleva también información sensorial de la piel del periné. El nervio pudendo y el tronco L3-L5 dan la inervación motora a los músculos esfintéricos y perineales.

Para analizar funcionalmente la inervación se estimuló eléctricamente al nervio pudendo y a sus ramas, combinándolo con secciones a diferentes niveles.

La estimulación eléctrica del nervio pudendo provocó contracción de los músculos coccígeo, esfínter externo del ano, esfínter externo de la uretra, isquiocavernoso, bulboespongioso y obturador interno. Así mismo se observó la extensión de los dedos de las patas posteriores, una disminución de la presión intravaginal y movimientos del orificio vaginal y de la glándula prepucial.

Mediante el registro eléctrico de las raíces dorsales espinales se encontró que la estimulación mecánica del periné y del tracto vaginocervical produce actividad aferente característica en L6 y S1 principalmente. Se determinó que la estimulación del tracto vaginal con un émbolo de vidrio o un globo inflable produce una actividad diferencial en las raíces dorsales dependiendo del área vaginal que se estimule (entrada, vagina medial y cérvix).



Se exploró la actividad EMG refleja de los músculos iliococcígeo y pubococcígeo provocada por la tracción aplicada a los pelos del área perigenital, por la presión a la vaina clitoral y por la estimulación de la vagina distal. Dicha actividad permanece después de que se deja de aplicar el estímulo y puede durar hasta un minuto. La presión suave aplicada con un émbolo de vidrio sobre el cérvix, produjo inhibición de la contracción refleja de los músculos iliococcígeo y pubococcígeo. La presión suave (menos de 30 gr) aplicada al cérvix provoca actividad EMG refleja de los músculos abdominales psoas mayor e ilíaco; en cambio, la estimulación de las áreas perigenitales no provocó ninguna actividad en estos músculos.

Se mostró la participación diferencial de las ramas del nervio pélvico en el proceso del parto. En hembras embarazadas se seccionó bilateralmente la rama somatomotora o la rama viscerocutánea del nervio pélvico y posteriormente se observó el desarrollo del parto. Se incluyeron hembras gestantes a las que se les realizó una manipulación similar a la cirugía pero sin cortar el nervio (grupo testigo) y hembras gestantes a las que no se les hizo ninguna manipulación (grupo control). No hubo diferencia alguna entre las hembras de los grupos testigo y control. Se encontró que las hembras con sección de la rama viscerocutánea presentaban un 100% de distocia y el parto no llegaba a su término. En las hembras con sección de la rama somatomotora se observó una reducción en la duración total del parto así como, en el inicio del parto, una pequeña facilitación en la expulsión de los fetos y una tendencia a expulsar dos crías seguidas.

Con los hallazgos de la presente investigación se proporciona información sobre las características neurales anatómicas y electrofisiológicas de reflejos espinales pertinentes a la conducta reproductora de la rata hembra.

## ABSTRACT

The lumbosacral segments of the spinal cord operate as a unified functional system integrating visceral, somatic and autonomic components. This interaction gives rise to the features characteristic of reproductive activity, excretion and continence displayed by the pelvic area.

It is the aim of the present thesis to investigate the role of the spinal components of reproductive reflex activity relating to the vaginocervical tract and the perineal area in female rat. For this, anatomical, electrophysiological and behavioral methods are used.

The origin and microscopic distribution of the pudendal nerve is revised based on observations using a dissecting microscope. The origin of the pudendal nerve from the L6-S1 trunk is confirmed. Branches of the L3-L5 trunk and of the pudendal nerve form the so-called sacral plexus. It is also demonstrated that the pudendal nerve gives rise to five branches: to the coccygeus muscle, to the perineal skin, to the clitoris, to the internal obturator muscle, and to a branch forming an anastomosis with another branch of the L3-L5 trunk. The L3-L5 trunk also transmits sensory information from the perineal skin. The pudendal nerve and the trunk L3-L5 provide the motor innervation to the sphincter and perineal muscles.

Functional analysis of the pattern of innervation is performed by electrical stimulation of the pudendal nerve and its branches in combination with transections at different levels. Electrical stimulation of the pudendal nerve produces contraction of the coccygeus muscles, the external anal sphincter, the external sphincter of the uretra, and of the ischiocavernosus, bulbospongiosus and internal obturator muscles. At the same time and extension of the toes of the hind feet, a reduction in intravaginal pressure, and movements of the vaginal orifice and preputial gland are observed.

By recording electrically from the dorsal spinal roots it can be shown that mechanical stimulation of the perineum and vaginocervical tract produces characteristic afferent activity mainly in L6-S1. It is demonstrated that stimulation of the vaginal tract with a glass rod or a balloon induces differential activity in the dorsal roots depending on the area of the vagina stimulated (entrance, mid-vagina or cervix).

Reflex EMG activity of the iliococcygeus and pubococcygeus muscles is investigated by pulling at the fur of the perigenital area, by applying pressure to the clitoral sheath, and by stimulation of the distal vagina. Activity persists after the end of stimulation and may last from seconds to one minute. Gentle pressure applied with a glass rod to the cervix inhibits the reflexive contraction of the iliococcygeus and pubococcygeus muscles. Gentle pressure (less than 30 g) applied to the cervix provokes reflexive EMG activity of the abdominal muscles psoas major and iliacus, whereas stimulation of perigenital areas does not elicit any activity in these muscles.

Differential participation of the branches of the pelvic nerve in the birth process is demonstrated. The course of parturition is observed following bilateral transection of the somato-motor or viscerocutaneous branches of the pelvic nerve. Also included are pregnant females in which sham transections were performed (sham group) and pregnant females which were not manipulated (control group). No differences are found between the sham and control groups. In females with transections of the viscerocutaneous branches 100% dystocia is found and failure to complete parturition. In females with transections of the somato-motor nerve a reduction in the total duration of parturition was observed, as well as a reduction in the time to initiate parturition, moderate facilitation in the expulsion of fetuses and a tendency to expel two pups in rapid succession.

The findings of the present investigation provide information on the neuroanatomical and neurophysiological characteristics of the spinal reflexes relevant to reproductive behavior in the female rat.

## INTRODUCCION

La actividad reproductora de los mamíferos es la expresión de la compleja interacción de una multitud de reflejos.

Un reflejo puede definirse como una respuesta relativamente estereotipada a un estímulo sensorial específico (Kandel, 1991). Básicamente un arco reflejo está constituido de cinco elementos: un receptor sensorial, una vía neural aferente, un centro nervioso integrador de la información, una vía eferente (neural o endócrina) y un efector (p.ej. músculo o glándula) que exhibe la respuesta.

Una multitud de reflejos dan cuenta de la mayor parte de las funciones reproductoras de la hembra de los mamíferos que tiene como sustrato el área pélvica. Ovulación, fertilización, embarazo y parto son algunas de las funciones que se llevan a cabo en la región pélvica. Dicha área presenta una gran complejidad anatómica y funcional, ya que incluye no sólo a estructuras que participan en las funciones sexuales como la vagina, el útero y el cérvix, y a estructuras de expulsión y de contención como la vejiga y el recto (Fig. 1), sino también a entidades glandulares cuyas secreciones pueden utilizarse por hembras de algunas especies para marcaje de territorio, identidad sexual, reconocimiento individual, etc.

El interés general de la presente tesis es el análisis de los reflejos del área pélvica involucrados en funciones reproductoras. Atención especial hemos puesto a la descripción precisa de la inervación del área pélvica y a la participación de la musculatura estriada en la ejecución apropiada de tales funciones.

En rata existe confusión concerniente a la anatomía y nomenclatura de los nervios pélvico y pudendo. En lo que corresponde al nervio pélvico, Greene (1961) no lo menciona, otros investigadores afirman que es una rama del nervio pudendo (Kollar, 1952), o que surge desde S1 y S2 (Reiner y col., 1980), o que se origina desde el tronco L6-S1 (Baljet y Drukker, 1980; McKenna y Nadelhaft, 1986).

Nosotros hemos descrito (Pacheco y col., 1989) que los nervios pélvico y pudendo viajan principalmente en las raíces espinales L6 y S1, vía la anastomosis con L6 y S1 (Fig. 2), lo cual corrobora observaciones previas (Baljet y Drukker, 1980; McKenna y Nadelhaft, 1986). Las raíces espinales L6 y S1 forman un tronco en el cual observamos que el

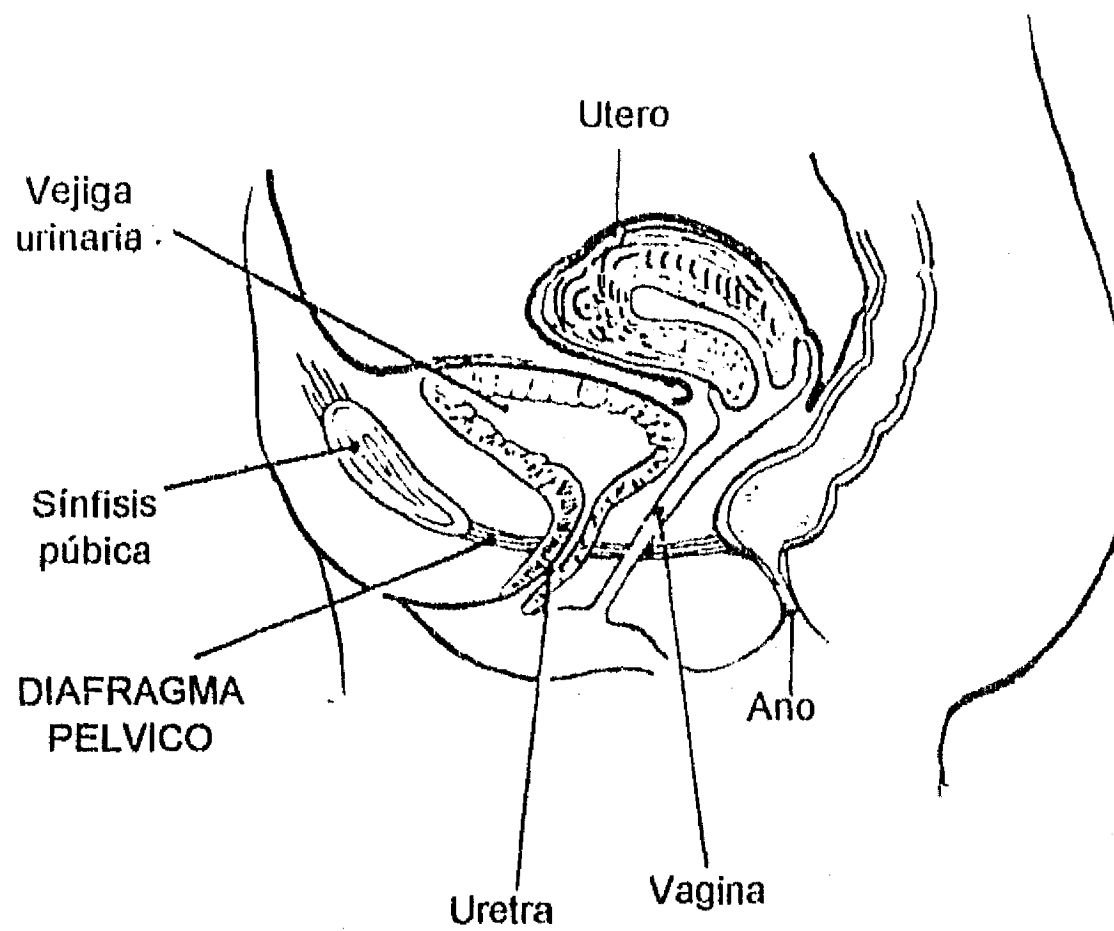
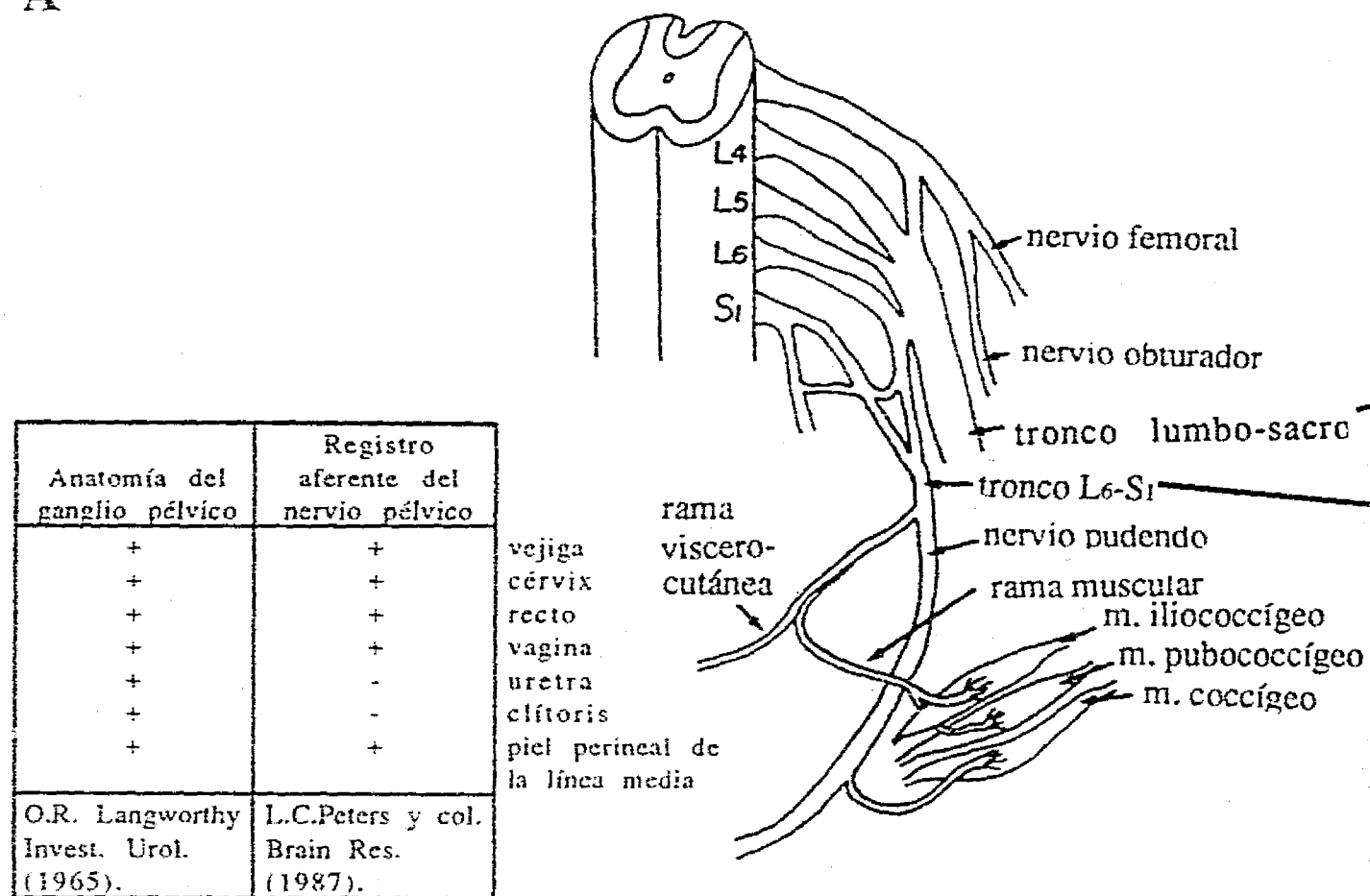


Figura 1. Esquema que señala en mujer algunas de las estructuras pélvicas que participan en diferentes funciones que se realizan en esta área como las sexuales y de contención. Nótese la disposición del diafragma pélvico (modificado de Wilson y Wilson, 1978).

A



m. isquicavernoso  
 esfínter externo del ano  
 esfínter externo de la uretra  
 clítoris  
 piel perigenital

B

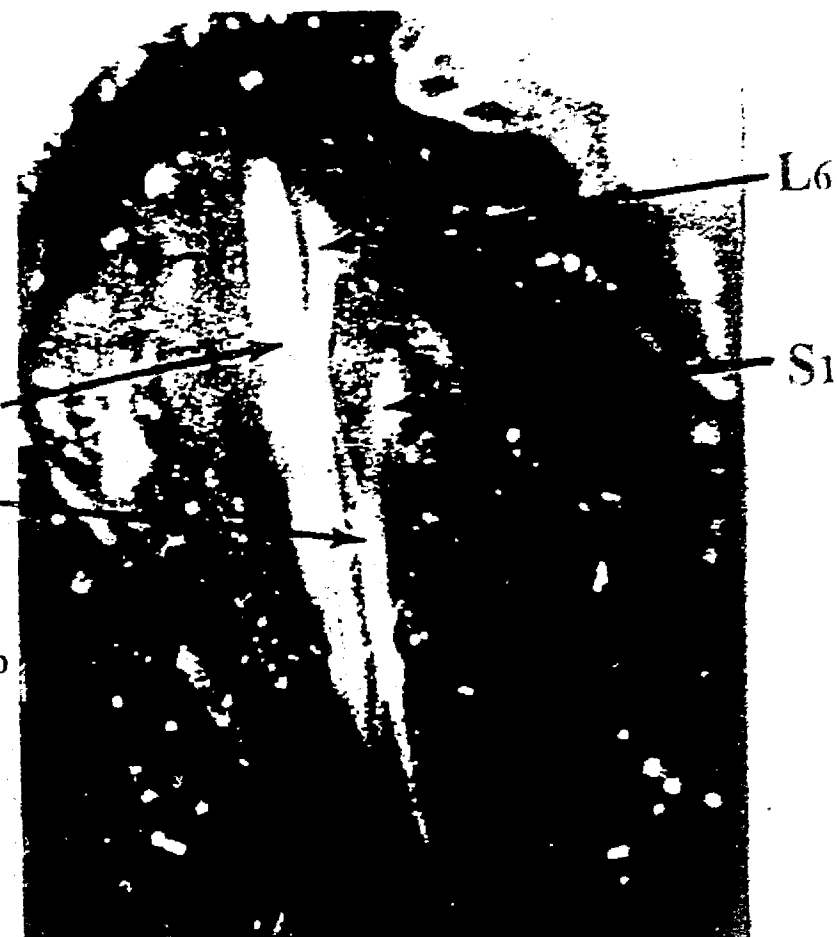


Figura 2 A: Representación esquemática del origen de los nervios pélvicos y pudendo del tronco lumbo-sacro y de una rama de S1 en la rata hembra. El cuadro señala las estructuras inervadas por el ganglio pélvico, basadas en evidencias anatómicas y en registros de la actividad aferente del nervio pélvico. B: Fotografía de una variación en la ramificación de los nervios pélvico y pudendo (Pacheco y cols., 1989).

componente principal es L6 en la mayoría de los casos. El tronco está fusionado por una distancia de 5 a 7 mm, y entonces se bifurca en los nervios pélvico y pudendo. Después de su separación del tronco L6-S1, el nervio pélvico viaja en dirección caudal, aproximadamente unos 10 mm, y con un sentido dorsoventral hasta que llega al lado interno de la vena iliaca interna, donde se bifurca. Una rama, la 'viscero-cutánea' consta de tres haces que viajan hacia la línea media. La otra, la 'rama muscular', más compacta, viaja caudalmente y entonces se bifurca. Basados en observaciones directas y registros electromiográficos, encontramos que una de estas bifurcaciones inerva al músculo iliococcígeo y la otra rama al pubococcígeo (Fig. 3). Se había sugerido que una de las ramas del nervio pélvico "se dirige caudalmente, y da ramas a músculo y, aparentemente, termina en la piel perineal" (Peters y col., 1987). Nuestros resultados indicaron que la rama del nervio pélvico que contiene tanto aferentes viscerales como cutáneas (Peters y col., 1987) corresponde a la rama viscero-cutánea, y es también una de las vías eferentes que van de la médula espinal al ganglio pélvico.

En cuanto al nervio pudendo, se había propuesto que en rata hembra enviaba una serie de fibras delicadas al músculo coccígeo (Reiner y col., 1980), al esfínter externo del ano y al "extremadamente fino" músculo isquiocavernoso (McKenna y Nadelhaft, 1986). Nosotros encontramos que la estimulación eléctrica directa del nervio pudendo, cerca de su separación del tronco L6-S1, producía contracciones y actividad EMG de los músculos coccígeo, del isquiocavernoso y del esfínter externo del ano (Fig. 4).

En base a estudios anatómicos, se ha afirmado que los músculos isquiocavernoso, bulbocavernoso y levator ani involucionan completamente en ratas hembras adultas (Hayes, 1965; Venable, 1966; Cihak y col., 1967). Las motoneuronas de la porción lumbar de la médula espinal que inervan estos músculos, son más pequeñas y en menor cantidad en la rata hembra que en el macho (Breedlove y Arnold, 1980; Jordan y col., 1982; McKenna y Nadelhaft, 1986). A pesar de estos datos, el músculo isquiocavernoso ha sido identificado en ratas hembras adultas (McKenna y Nadelhaft, 1986). El que la estimulación eléctrica del nervio pudendo produzca actividad EMG en el músculo isquiocavernoso corrobora tal identificación (Pacheco y col., 1989).

Durante la estimulación eléctrica de los nervios pélvico y pudendo observamos movimientos del orificio y la pared vaginal expuesta. Así mismo, registramos cambios en la presión intravaginal medida con un globo intravaginal (Fig. 5). La estimulación eléctrica del nervio pélvico produjo movimientos del tercio medio de la pared vaginal, un aumento en la

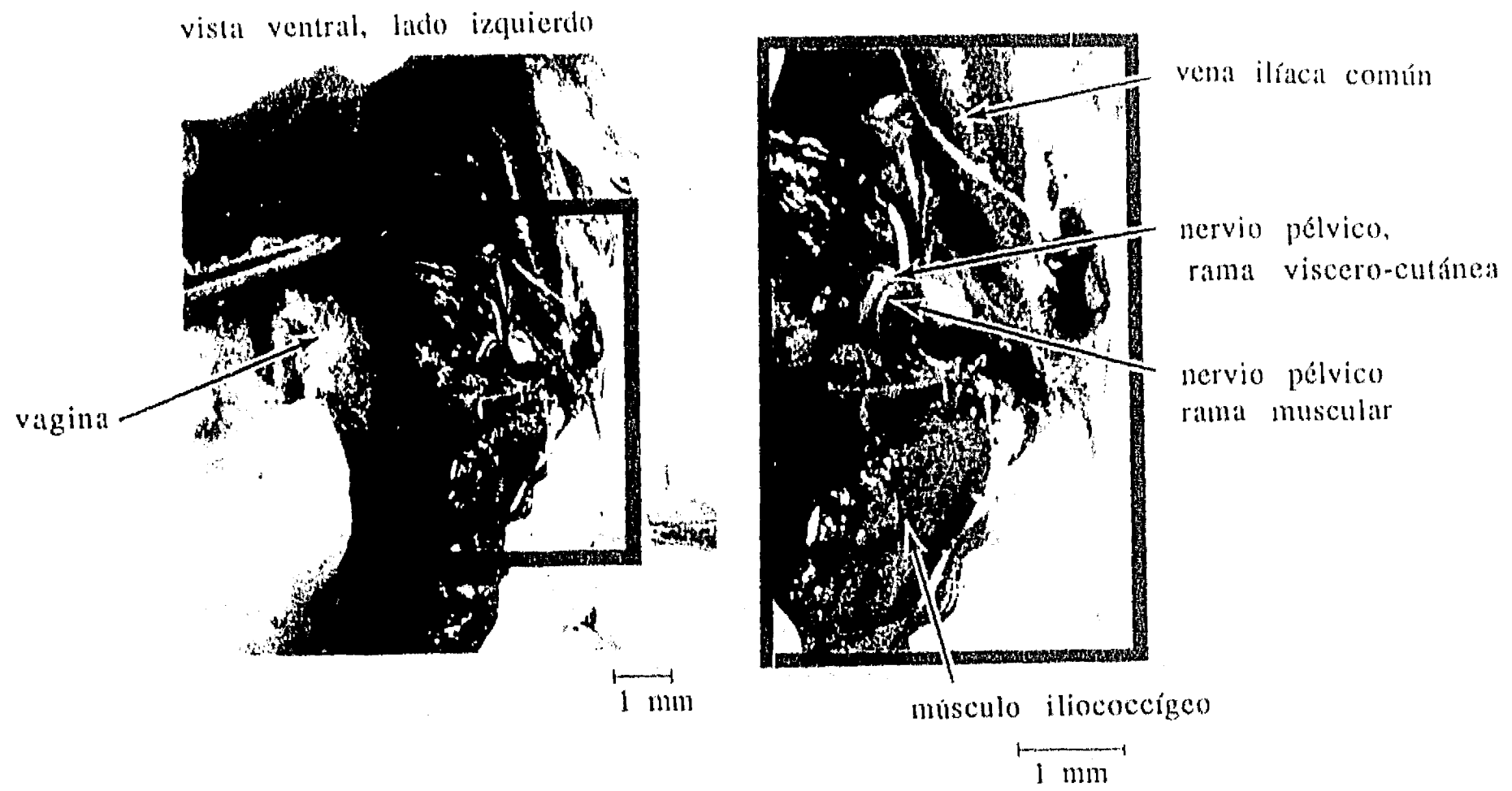


Figura 3. Las ramas viscerocutánea y muscular del nervio pélvico se visualizan en detalle al cortar los vasos útero-vesicales. Los cuadros izquierdo y derecho son fotografías, tomadas a menor y mayor amplificación, respectivamente (Pacheco y cols., 1989)



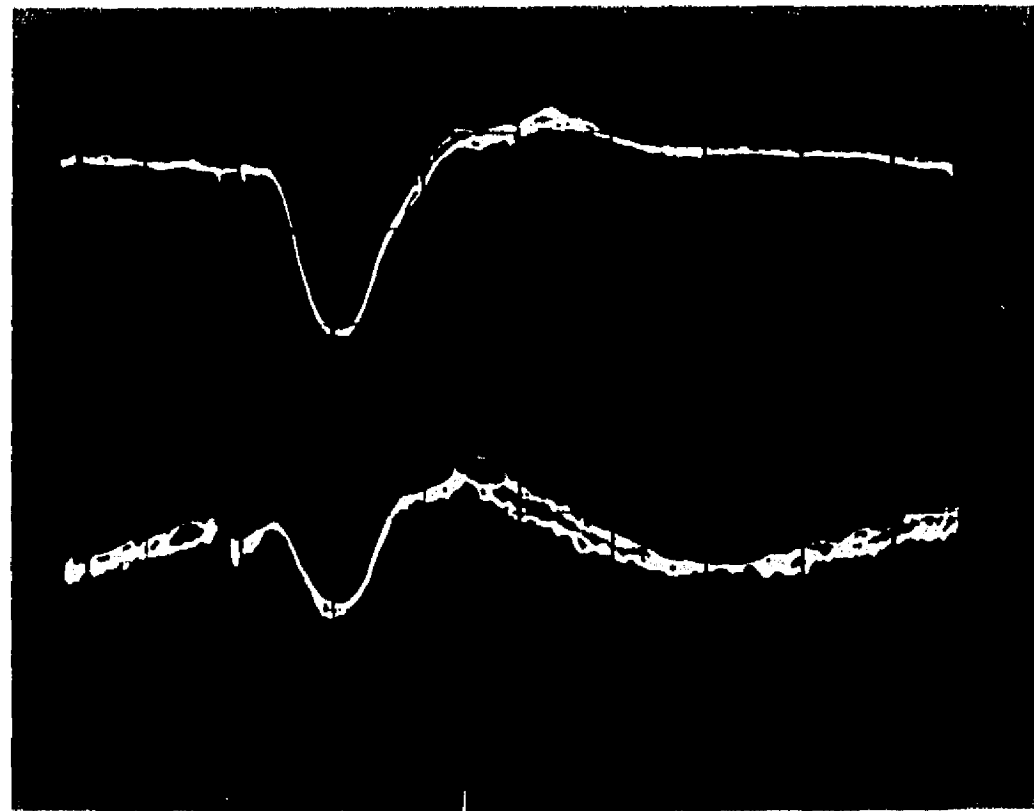
# Estimulación Eléctrica del Nervio Pudendo

EMG

♀

esfínter externo del ano

isquiocavernoso



I

1 mV

2 msec

Figura 4. Los músculos esfínter externo del ano e isquiocavernoso de la rata hembra presentan actividad EMG en respuesta a la estimulación del nervio pudendo. Se muestran cinco respuestas superpuestas (Pacheco y cols., 1989).

## Presión Intravaginal

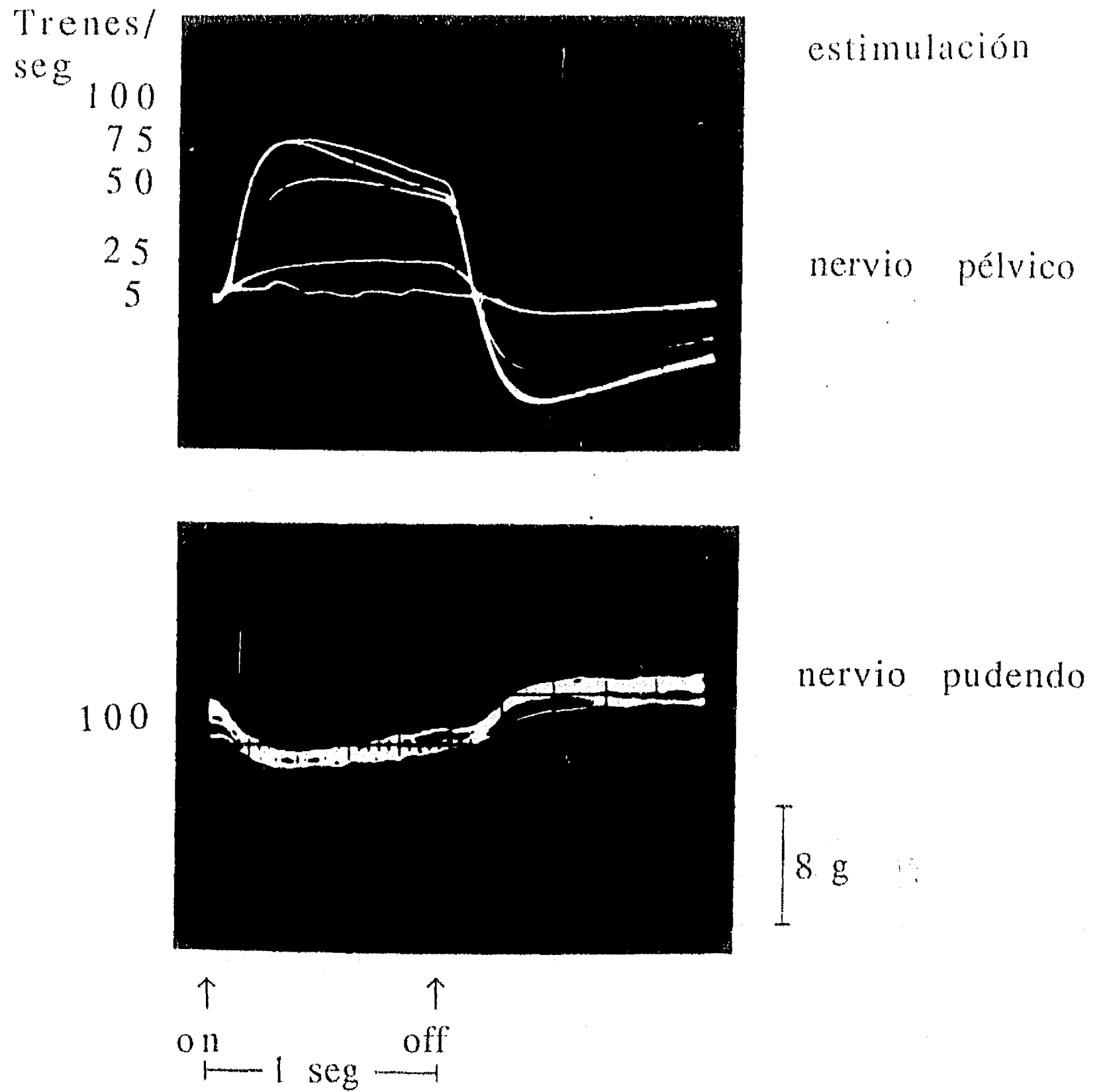


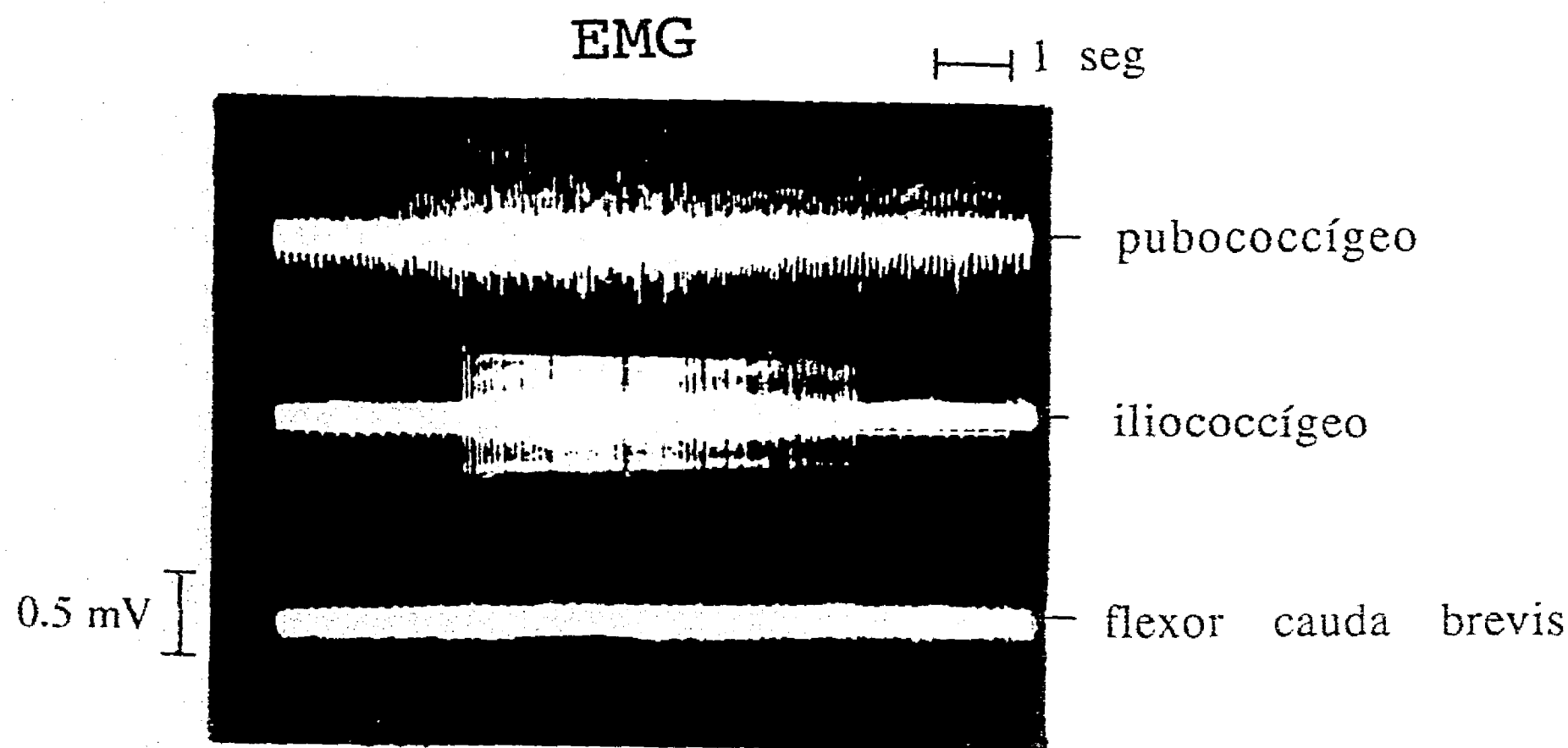
Figura 5. La estimulación del nervio pélvico (cuadro superior), provoca un aumento en la presión intravaginal, cuya fuerza está directamente relacionada a la frecuencia del estímulo. La estimulación del nervio pudendo (cuadro inferior), disminuye la presión intravaginal (Pacheco y cols., 1989).

presión vaginal así como su desplazamiento hacia la línea media, si la cola estaba colocada al lado contralateral al nervio. La estimulación eléctrica del nervio pudendo produjo el movimiento lateral del orificio vaginal ipsilateral y la disminución en la presión intravaginal.

En este mismo estudio observamos la actividad EMG refleja de los músculos iliococcígeo y pubococígeo, por la estimulación mecánica del campo sensorial genital externo de los nervios pélvico y pudendo. Así, la estimulación de la piel perigenital, del clitoris o de la vagina distal produjeron actividad muscular refleja (Fig. 6). Si durante la presencia de la actividad muscular, un émbolo de vidrio se introducía en la vagina y tocaba el cérvix, la actividad muscular desaparecía inmediatamente, aunque la estimulación periférica productora de ella se siguiera aplicando (Fig. 7).

Nuestros resultados, que indicaban una interacción entre las funciones de los nervios pélvico y pudendo, como parte de arcos reflejos, nos llevaron a proponer que quizá durante la cópula, la activación refleja de estos nervios provoca el cierre del orificio anal y la apertura del orificio vaginal, facilitando así la intromisión del pene. Los movimientos reflejos de la pared vaginal y el aumento y disminución de la presión intravaginal pueden facilitar la eyaculación. La contracción de los músculos iliococcígeo, pubococígeo y coccígeo pueden producir rigidez y fijación de la pared perineal de la hembra, facilitando con ello la intromisión. Cuando la eyaculación ocurre, el tapón seminal puede estimular los receptores cervicales, provocando la inhibición de las contracciones musculares y el cierre del orificio vaginal.

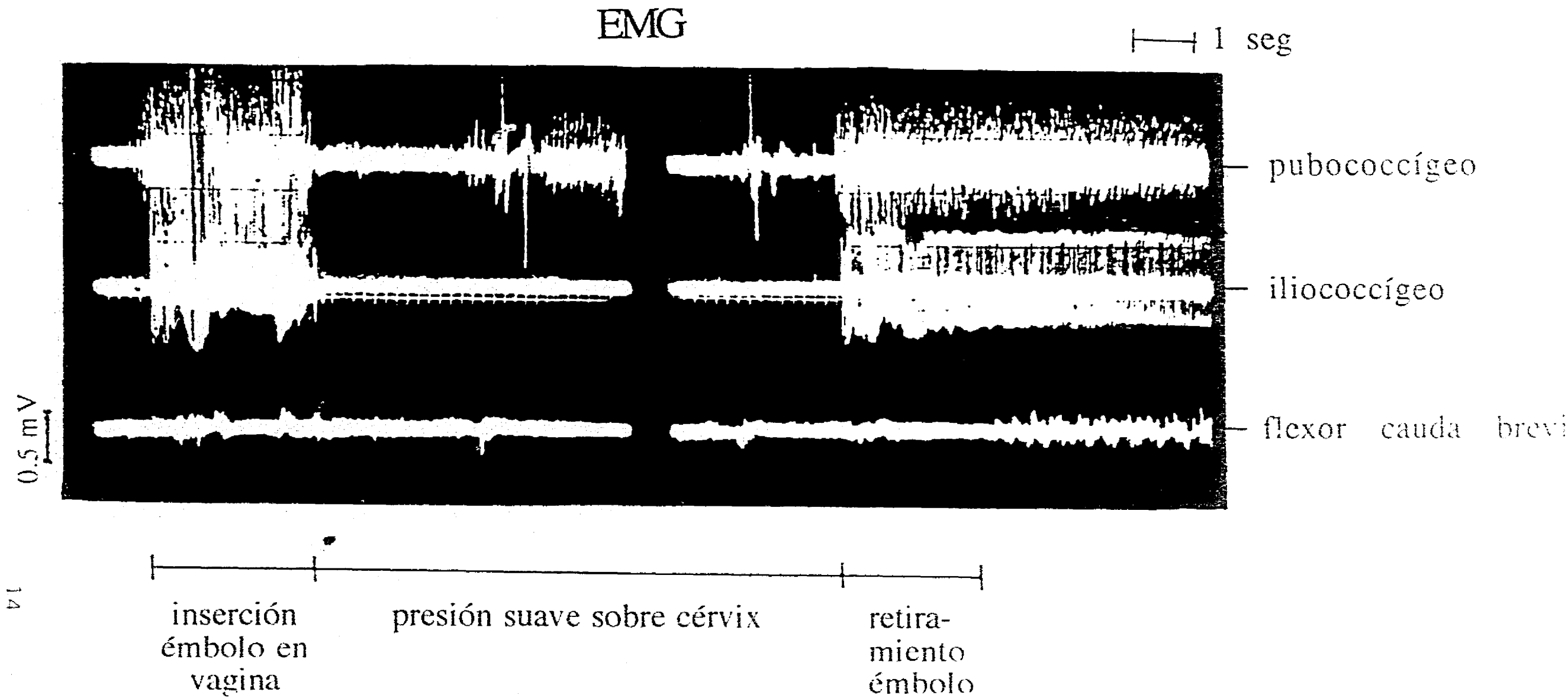
El efecto inhibitorio de la estimulación cervical encontrado en nuestro estudio, es consistente con otros efectos motores inhibitorios (Komisaruk y Larsson, 1971) y analgésicos (Komisaruk y Wallman, 1977) producidos por dicha estimulación. Sin embargo, resultó interesante el saber más acerca de las posibilidades de esta inhibición así como si todos los efectos motores de la estimulación cervical eran exclusivamente del tipo inhibitorio. Esta cuestión se exploró en la presente tesis, y es importante para nosotros dada la relación con nuestros datos de estudios anteriores en gato (Dubrovsky y col., 1985; Pacheco y col., 1987) donde sostuvimos que los músculos del piso pélvico no se comportan como una masa unitaria sino que se contraen o actúan selectivamente, como una unidad, dependiendo de la función en que participan (continencia, defecación, micción, y sexual o reproductora). Por otro lado, y en relación a la misma cuestión del comportamiento muscular, apareció el trabajo de Higuchi y su grupo en rata



13



Figura 6. EMG simultáneo de los músculos pubococcígeo, iliococcígeo y flexor cauda brevis de la rata hembra durante la tracción de la piel perineal. Este tipo de estímulo mecánico se midió subjetivamente como mínimo, submáximo y máximo. En la figura, la rampa simula el tipo de estímulo aplicado. Los músculos pubococcígeo e iliococcígeo presentan actividad refleja durante y posteriormente a la aplicación del estímulo. El músculo flexor cauda brevis no presenta actividad durante este tipo de estimulación (Pacheco y cols, 1989).



14

Figura 7. La respuesta EMG refleja producida por la estimulación mecánica de un émbolo de vidrio que se introducía en la vagina siempre se presentó en los músculos pubococcygeo e iliococcygeo. En la figura se muestra que la estimulación mecánica vaginal, produce la respuesta EMG refleja de estos dos músculos y que esta respuesta se inhibe durante todo el tiempo que el émbolo de vidrio toca el cérvix uterino. Al retirar el émbolo del cérvix y sacarlo completamente de la vagina, la actividad EMG de los dos músculos se reinicia y se mantiene por varios segundos posteriores al retiro del émbolo de la vagina. Nótese que el músculo flexor cauda brevis no presenta actividad EMG refleja (Pacheco y cols., 1989).

(1987). Ellos mostraron que ciertos músculos abdominales no especificados se contraían durante el parto por la estimulación vaginocervical que efectuaba el feto. Higuchi indicó que la principal anomalía en el parto de ratas con sección del nervio pélvico, es su prolongación, y que ésta puede ser debida a una falta del llamado "reflejo de expulsión del feto", que es una contracción refleja de músculos abdominales y del diafragma y que juega el papel fisiológico de mover el feto desde la porción cranial de la cavidad vaginal, en contra de la resistencia opuesta por la salida pélvica. La estimulación cervical producía entonces en músculos abdominales, un efecto diferente (activar), al que nosotros habíamos obtenido en los músculos iliococcígeo y pubococcígeo (bloqueo de la activación refleja). Consideré que en el proceso de parto de la rata era posible analizar la participación del diafragma pélvico en funciones reproductoras; el estudio se incluye en la presente tesis.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Como se puede apreciar de la información hasta aquí presentada brevemente, el modelo de los reflejos de las regiones pélvica y pudenda es altamente complejo y carece aún de mucha información básica.

Muchos cuestionamientos surgen sobre la dinámica funcional del área pélvica. El primero de ellos atañe a la participación y modulación neural de las funciones pélvicas, para lo que se requiere en principio de una descripción aún más precisa de la inervación. En muchas especies de mamíferos se observa un alto grado de complejidad en la distribución y el origen de los nervios del área pélvica que se debe en parte, a la estrecha interacción entre el sistema somático y el autónomo.

La confusión acerca de la anatomía y nomenclatura de los nervios pélvico y pudendo no es de ninguna manera trivial, dada la enorme cantidad de estudios que se han realizado sobre estos nervios o sobre alguna de sus ramas (Kollar, 1952; Carlson y DeFeo, 1965; Peeters y Houvenaghel, 1971; Spies y Niswender, 1971; Spies y col., 1971; Bradley y Teague, 1972; Kow y Pfaff, 1973/74; Katagiri y col., 1986; Mackenna y Nadelhaft, 1986; Higuchi y col., 1986,1987; Nadelhaft y Booth, 1984; Pacheco y col., 1989; Berkley y col., 1990,1993a; Cueva-Rolón y col., 1994) y las interpretaciones funcionales que se han hecho de los resultados.

La complejidad de los plexos de esta área reside en que constan de ganglios con múltiples interconexiones y sitios de convergencia y divergencia de las vías simpáticas, parasimpáticas y somáticas. Aunque diversos estudios se han realizado sobre la inervación del área pélvica en varias especies animales (Langworthy, 1965; Purinton y col., 1973; Baljet y Drukker, 1980; Reiner y col., 1980; Hulsebosch y Coggeshall, 1982; Dubrovsky y col., 1985; Berkley y col., 1988; Kirk y col., 1988; Langley y Anderson, 1896; Peters y col., 1987; Nance y col., 1988), el arribo a una comprensión integral de lo que es la inervación ha dependido mucho de las técnicas al alcance así como de los pocos estudios sobre la actividad fisiológica en que ellos participan y de su expresión conductual. Así por ejemplo, un impedimento técnico fue que la mayoría de los axones de los nervios en el área pélvica son amielínicos y no pueden observarse con microscopio de luz, de tal manera que los estudios que se hicieron antes de la microscopía electrónica no cuantificaron tales axones.

El conocimiento de la arquitectura del sistema nervioso autonómico y su relación al sistema nervioso somático son de vital importancia. Nuestras investigaciones pretenden contribuir a aclarar la anatomía del sistema nervioso en el área pélvica, lo que es necesario para la interpretación de experimentos concernientes a la regulación de la actividad reproductora periférica.

Así, como se puede apreciar en la Fig. 8, aún la imagen más sencilla que nos podamos hacer sobre la porción terminal de la médula espinal y los nervios que de ella se originan hacia la región pélvica, entraña una enorme complejidad.

Por otra parte, las características de los segmentos espinales lumbosacros están apenas siendo entendidas. Los segmentos terminales de la médula espinal se diferencian de los ensanchamientos, distinguiéndose por la presencia de un gran núcleo dorsal de la línea media, por el crecimiento de la comisura gris dorsal y por la gran decusación de fibras aferentes primarias (Lloyd y Wilson, 1959; Sprague y Ha, 1964; Rethelyi y col., 1979).

En los últimos segmentos espinales en la rata, las fibras aferentes primarias siguen en principio la misma organización de otros mamíferos en lo que respecta a su distribución en el asta dorsal: las fibras más delgadas terminan en las láminas superficiales, y las más gruesas llegan a las láminas más profundas (Light y Perl, 1979). Sin embargo, fibras aferentes primarias viscerales, presumiblemente finas, terminan en las láminas VII y X (Grant, 1985).

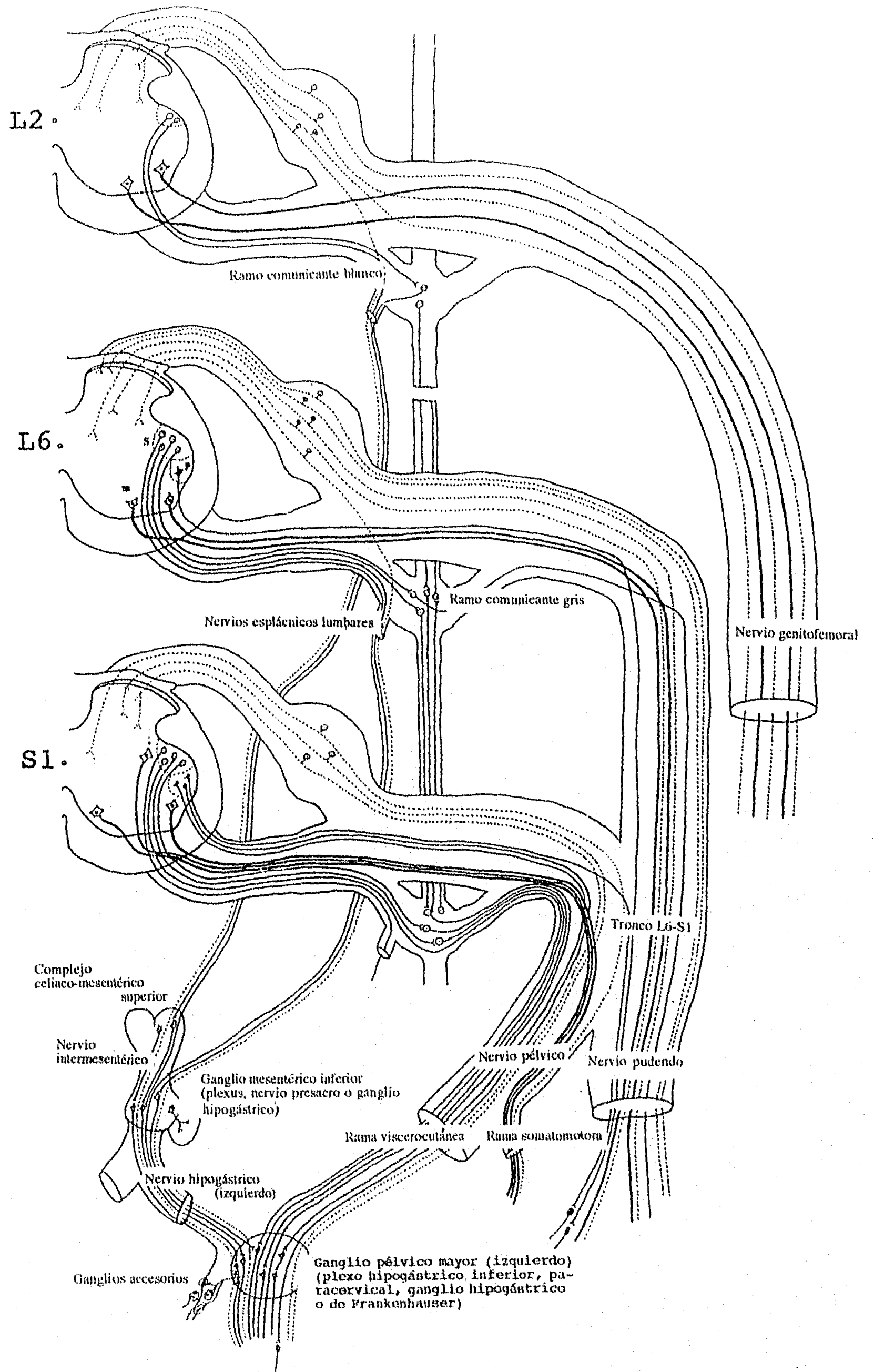


Figura 8. Esquema del origen de la inervación somático-autonómica a las vísceras y músculos del área pélvica (modificado de Martínez-Gómez, 1991).



En el borde laterodorsal de la lámina VII de los segmentos L6 y S1 está la zona de traslape entre los núcleos simpáticos y parasimpáticos (Nadelhaft y Booth, 1984). El núcleo parasimpático sacro del borde dorsomedial de la lámina VII de L6 y S1 recibe conexiones primarias directas de fibras aferentes primarias finas (Grant, 1985).

Ohta y col. (1991) han descrito también en la rata que células de los segmentos espinales L4 a S1 son activadas por la estimulación eléctrica de raíces ventrales y que la estimulación cutánea viaja también por raíces ventrales. Ellos han sugerido que muchas de las células que registraron provienen de vísceras.

En esta región espinal es notable el control de áreas superiores del SNC sobre varias funciones primordiales para el animal. El patrón dendrítico exhibido por las neuronas preganglionares en la rata, es similar al patrón correspondiente en el gato (Nadelhaft y Booth, 1984). Las dendritas reciben influencias descendentes de los centros del tallo cerebral que controlan la micción (Kuru, 1965), así como de las aferentes viscerales pélvicas y de las provenientes de estructuras somáticas importantes para las funciones de micción, defecación y copulación (de Groat y col., 1981).

Las motoneuronas de la médula espinal lumbosacra están distribuidas en varios núcleos, y no se puede hablar de una verdadera lámina IX en la rata (Molander y col., 1984). Existen cuatro núcleos de motoneuronas en los segmentos L6 y S1: dorsomedial, ventral, dorsolateral y retrodorsolateral (Schroeder, 1980). Las motoneuronas de estos núcleos inervan a músculos del área pélvica, entre ellos a los músculos del diafragma pélvico (Breedlove y Arnold, 1980; Jordan y col., 1982; McKenna y Nadelhaft, 1986; Lucio y col., 1990). En la rata macho se ha mostrado que un músculo pélvico puede estar inervado por motoneuronas distribuidas hasta en tres núcleos distintos (Lucio y col., 1990).

Dimorfismo sexual en los núcleos motores de la médula espinal lumbar se ha descrito en la rata (Breedlove y Arnold, 1981). Diferencias significativas entre hembra y macho con respecto al tamaño y al número de neuronas, se han encontrado en los núcleos dorsolateral, ventral y dorsomedial (Breedlove y Arnold, 1981; Jordan y col., 1982) y su relación a los metabolitos de la testosterona (Forger y col., 1992). Las neuronas del ganglio de la raíz dorsal y de los ganglios de la cadena simpática correspondientes a los segmentos L6 y S1, también muestran diferencias sexuales (McKenna y Nadelhaft, 1986). Se ha mostrado que las neuronas de los núcleos dorsolateral y dorsomedial así como los músculos que ellas

inervan, están bajo control hormonal el cual es el responsable del dimorfismo sexual (Breedlove y Arnold, 1981).

Otra característica importante de los segmentos espinales lumbosacros, al menos en gato, es que poseen motoneuronas con conexiones monosinápticas "débiles". Así, los nervios pudendos inervan también en gato a los esfínteres externos del ano y de la uretra que poseen husos musculares (Todd, 1964), sin embargo, en un estudio previo (Dubrosky y col., 1985) mostramos que la estimulación del nervio pudendo produce solo respuestas polisinápticas en las raíces ventrales S2. Jankowska y col. (1978) y Mackel (1979), encontraron que los potenciales excitatorios postsinápticos (PEPS) producidos en motoneuronas esfíntéricas por la estimulación de la raíz dorsal, tenían amplitudes menores a 1.0 mV, mientras que aquellas provocadas por la estimulación del nervio pudendo, raramente excedían 0.5 mV. No solamente estas conexiones monosinápticas eran débiles, sino que también eran pocas en número: menos de la mitad de las motoneuronas esfíntéricas probadas exhibieron PEPSs monosinápticos. Estos hallazgos, poca amplitud de PEPSs y baja frecuencia de conectividad, podrían explicar la ausencia de respuesta monosináptica en raíz ventral sacra, durante la estimulación del nervio pudendo. Nuestros hallazgos fueron confirmados más tarde por Jolesz y col. (1982).

Todas estas características espinales juntas contribuyen a la dificultad que representa el entendimiento de las funciones pélvicas.

Otro de los cuestionamientos es acerca del por qué el pobre entendimiento sobre la musculatura del piso pélvico, sobre todo si consideramos las patologías femeninas que de él atienden los médicos cada año (Wall y DeLancey, 1991). En nuestros días, aún prevalece lo que desde 1889 decía Dickinson: "No hay un músculo considerable en el cuerpo en el que la forma y la función sean más difíciles de entender que las del levator ani, y del cual prevalecen impresiones nebulosas" (citado por Graber, 1982). El que ésta situación persista puede deberse en parte a que el piso pélvico es el medio ambiente en el cual tienen lugar los eventos que son los que realmente capturan nuestra atención, y no el actor central. Parece una especie de "hamaca" que solo sirve para sostener a las vísceras pélvicas. La estructura de musculo estriado llamado "piso pélvico" rodea y dirige al feto durante el parto por ejemplo, pero es en sí el tracto úterovaginal el que "expulsa" al feto. A pesar de su importancia para la función pélvica normal en la mujer, pocos clínicos han visto realmente los músculos del levator ani o podrían describir su anatomía con alguna precisión (Martínez-Gómez y

Lucio, 1996). Es por ello escaso el conocimiento que se tiene sobre su regulación neural, a pesar de que se reconoce su alteración como una importante causa de disfunción pélvica (Gilpin y col., 1989; Wall y DeLancey, 1991).

La inmensa cantidad de reflejos que se suscitan en la hembra, por ejemplo, durante la cópula y el parto, aún requieren para su estudio de información anatómica y fisiológica básica. Las funciones sexuales han sido estudiadas por la mayoría usando técnicas endocrinológicas y conductuales (ver revisiones Pfaff y col., 1994; Sachs y Meisel, 1994). Algunos experimentos usando técnicas electrofisiológicas (Semans y Langworthy, 1938) habían sido poco contundentes en el sentido de que no parece posible producir reflejos sexuales significativos en animales anestesiados.

En el modelo de la rata, los estudios sobre los reflejos sexuales se han realizado principalmente en machos (Meisel y Sachs, 1994), aunque, excepcionalmente, Pfaff y Komisaruk han realizado estudios en hembras. Pfaff ha definido el reflejo o postura de la lordosis y ha descrito sus mecanismos hormonales, algunos de sus mecanismos moleculares así como los mecanismos y circuitos neuronales involucrados (Pfaff y Schwartz-Giblin, 1988). Komisaruk se ha interesado principalmente en el efecto que tiene la estimulación vaginocervical sobre la modulación al dolor (Komisaruk y Larsson, 1971). Sin embargo, ya se tienen algunos otros estudios específicos de secuencias complejas de actividad pélvica producida por estimulación genital en ratas anestesiadas (Chung y col., 1988) que también incluyen a hembras (Chung y col., 1988; McKenna y col., 1991a y b). Así, Mackenna ha descrito en rata hembra lo que denominó el reflejo del coito, el cual es producido por estimulación uretral y consiste de actividad nerviosa de los nervios pélvico y pudendo, contracciones clónicas de los músculos esfintéricos externos y contracciones vaginales y uterinas (Chung y col., 1988; McKenna y col., 1991a y b).

Con mayor información básica disponible es posible continuar en la búsqueda de la comprensión de los mecanismos neurales de control sobre reflejos genitales que subyacen a las funciones reproductoras en el animal despierto.

Es importante entonces continuar las investigaciones que indaguen específicamente por la naturaleza y dinámica de la actividad de los nervios del área pélvica y su relación a los ganglios y plexos, a la médula espinal y a los músculos del área pélvica. Asimismo, es necesario caracterizar la participación de la musculatura pélvica estriada en las múltiples funciones reflejas que en esta área se suscitan. Finalmente, resulta relevante el análisis integrativo de la actividad refleja pélvica reproductiva desencadenada en la hembra por eventos reproductores como el parto. La rata hembra es un modelo experimental adecuado para el estudio de la organización de la función refleja pélvica.

## **HIPOTESIS**

Parte de la actividad refleja del área pélvica de la rata hembra relacionada a funciones reproductoras, involucra a segmentos espinales lumbosacrococcígeos específicos, a diferentes ramas de los nervios pélvico y pudendo y a musculatura estriada.

## **OBJETIVO GENERAL**

Determinar en rata a través de estudios anatómicos, electrofisiológicos y conductuales, algunos de los diferentes componentes de reflejos reproductores del área pélvica así como su expresión conductual.

## **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

1). Describir en la rata hembra la organización anatómica del nervio pudendo y sus ramas, su relación al plexo sacro y su inervación a estructuras pélvicas.

2). Caracterizar mediante análisis electrofisiológico, la actividad de las raíces dorsales espinales lumbosacras producidas por estimulación mecánica genital en ratas hembras anestesiadas con uretano.

3). Analizar electrofisiológicamente en rata hembra la naturaleza de la actividad refleja de musculatura estriada producida por estimulación genital, las vías aferentes primarias implicadas y los efectos viscerales y somáticos de su contracción.

4). Analizar los efectos de la sección bilateral selectiva de las ramas viscerocutánea y somatomotora del nervio pélvico sobre el desarrollo del parto en la rata.

# NERVIO PUDENDO Y PLEXO SACRO EN LA RATA HEMBRA

## INTRODUCCION

Una de las características más evidentes del área pélvica en mamíferos es la presencia de ganglios y plexos nerviosos. De aquí resulta la intrincada distribución de los nervios sobre esta región.

Uno de estos nervios es el pudendo, un importante componente del control espinal de las funciones excretoras y sexuales en rata y otros mamíferos.

Green (1961) describió en ratas al pudendo como un solo haz de fibras nerviosas paralelo a las arterias dorsales y profundas del clítoris.

Langworthy (1965) que estudió la inervación de los órganos pélvicos solo mencionó que estructuras inerva el pudendo (en rata hembra: orificio vaginal, clítoris, vagina, uretra y ano) pero no que era el nervio pudendo para él. Por otra parte, Purinton y col. (1973) en su descripción sobre las características gruesas y finas del plexo pélvico mencionan que el nervio pélvico inerva al clítoris (sin mencionar la inervación pudendal) y además, enfatizan y sobresimplifican la inervación de este plexo pélvico a las vísceras.

En lo que respecta al campo sensorial cutáneo del nervio pudendo, incrementa en tamaño (Komisaruk y col., 1972) y sensibilidad (Kow y Pfaff, 1973/74) durante el estro conductual de la rata o por el tratamiento con estrógenos (Adler y col., 1977), de tal forma que los componentes del nervio pudendo modulados por las hormonas pueden influenciar las entradas sensoriales a la respuesta sexual (Komisaruk y col., 1972; Kow y Pfaff, 1973/74).

Más tarde, Baljet y Drukker (1980) mencionan que el método de tinción de azul de metileno supravital usado por Lanworthy (1965) y Purinton y col. (1973) no es adecuado para una visión más completa de lo que es la inervación a las vísceras pélvicas. Ellos usan entonces el método de la acetilcolinesterasa para mostrar la inervación de los órganos pélvicos en rata hembra adulta y neonatal. Proponen que el nervio pélvico y el pudendo se originan del plexo sacro y son los componentes parasimpático y somático, respectivamente. Describen al plexo sacro como formado por una parte de la rama ventral de L4, L5 y L6 (o nervio bigémino) y que estas ramas también dan lugar al troncolumbosacro. De aquí, proponen el origen del nervio

podendo surgiendo de una parte del nervio bigeminal (ó L6) y de una parte del ramo ventral de S1. Mencionan que frecuentemente ramas del tronco lumbosacro contribuyen a la formación del pudendo.

Baljet y Drukker (1980) describen que el nervio pudendo está compuesto de dos haces separados con un mismo destino: clítoris, uretra distal, parte caudal de la vagina, glándulas prepuciales y parte caudal del recto. Esto, aseguran, es diferente en gato y conejo donde los dos haces paralelos tienen un destino diferente (Langley y Anderson, 1896). Llamam nervios vaginales a las fibras nerviosas derivadas de la mezcla del plexo hipogástrico y del nervio pudendo. Después de presentar 28 fotografías, solo agregan dos pequeños esquemas donde muestran los dos orígenes del nervio pélvico: formándose del nervio pudendo (que se observa proviene de L6 y S1), o directamente de S1. No hacen un solo esquema integral de la inervación periférica de los nervios estudiados.

Ese mismo año, Reiner y col. tratando de proporcionar una imagen clara de la neuroanatomía periférica asociada a la función reproductiva, en preparaciones frescas de rata hembra, coinciden con Baljet y Drukker (1980) en el origen del nervio pudendo, esto es L6-S1 después del plexo pudental (o sacro). Al plexo pudental lo indican formado del tronco lumbosacro (L3-L5) y del tronco pudental (L6-S1) el cual antes de entrar al plexo inerva al músculo cocígeo. Del plexo describen que surgen dos ramas: una lateral que va a la piel de cola y muslo y que llaman el nervio cutáneo femoral, y otra medial que inerva el clítoris, al colon y la uretra. Esto es, ambos estudios no coinciden totalmente en la distribución periférica del nervio pudendo.

Hulsebosch y Coggeshall (1982) que hicieron en rata macho un análisis con microscopía electrónica de los axones de los nervios pélvico, hipogástrico y pudendo, mencionan que el pudendo tiene un alto porcentaje de fibras aferentes amielínicas (65%) por lo cual no debe considerarse un nervio somático típico (Kuru, 1965). El segmento nervioso para el análisis lo tomaban del nervio pudendo "antes" de que entrara a la fosa isquiorectal, es decir, ya a nivel plexo sacro.

Por otra parte, McKenna y Nadelhaft (1986) en rata macho y hembra consideran nervio pudendo solamente a dos ramas que emergen del plexo sacro y que pasan por la fosa isquiorectal: una rama motora y una rama sensorial. La rama motora va al esfínter externo de la uretra, al músculo isquicavernoso, al esfínter anal y al músculo bulboespongioso. La rama sensorial va a inervar al clítoris y a la piel perigenital. Ambas ramas llevan inervación autonómica a los órganos pélvicos. Proponen que la rama sensorial

tiene su origen solamente del tronco L6-S1 y que la rama motora proviene de axones del tronco lumbosacro (L3-L5) y del tronco L6-S1. Es más, llegan a proponer el modelo del nervio pudendo en la rata como único en el sentido de exhibir una segregación anatómica no vista en otras especies (Fig. 9). Las neuronas sensoriales son más pequeñas y menos numerosas en rata hembra que en rata macho y las motoneuronas se distribuyen en dos núcleos (dorsomedial y dorsolateral) siendo más numerosas y más grandes en los núcleos de los machos que en los de las hembras (Molander y col., 1984; McKenna y Nadelhaft, 1986). Katagiri y col. (1986) por su parte, mencionan que en rata macho hay tres núcleos motores relacionados al nervio pudendo (dorsomedial, dorsolateral y ventral) y aparecen solo en el segmento espinal L6.

Baljet y Drukker (1980) ya habían mencionado que el nervio pudendo estaba compuesto de dos haces separados, sin embargo, McKenna y Nadelhaft (1986) afirman haber sido los primeros en demostrar claramente esta separación del nervio pudendo en dos ramas.

Fueron también Baljet y Drukker (1980) los primeros en mencionar la inervación del pudendo a las glándulas prepuciales. Las secreciones de estas glándulas son importantes como mensajeros químicos en las relaciones materno-infantiles y sexuales en roedores (Brouette-Lahlou y col., 1991a y b). Baljet y Drukker (1980) sugieren que esta inervación es mediada por la misma rama que va al clítoris, aunque en estudios de nuestro laboratorio (datos no publicados de Lucio y col.) se ha corroborado tal hallazgo por el método de la peroxidasa de rábano.

Es importante no subestimar las importantes aportaciones que hace el también incorrectamente llamado tronco lumbosacro, más bien tronco L3-L5, a la inervación periférica que hasta ahora se considera da exclusivamente el nervio pudendo, o la ramificación del tronco L6-S1 o el plexo sacro (o plexo pudendal para algunos). Aún así, ahora se acepta que el nervio pudendo en la rata macho y hembra inerva a la musculatura estriada, esto es, a los esfínteres externos de la uretra y del ano, a los músculos isquiocavernoso, bulboespongioso y coccígeo (Bradley y Teague, 1972; Reiner y col., 1980; Sachs, 1983; McKenna y Nadelhaft, 1986; Pacheco y col., 1989). Igualmente inerva al pene o clítoris y a la piel perigenital (Komisaruk y col., 1972; Cohen y col., 1985; Pacheco y col., 1989).

Así, aunque parecen haberse reconocido todas las estructuras que inerva el nervio pudendo, en realidad no todos los estudios coinciden en qué es el nervio pudendo y como va a inervar a las estructuras pélvicas. Esto parece deberse en parte a las técnicas usadas para describir su organización,



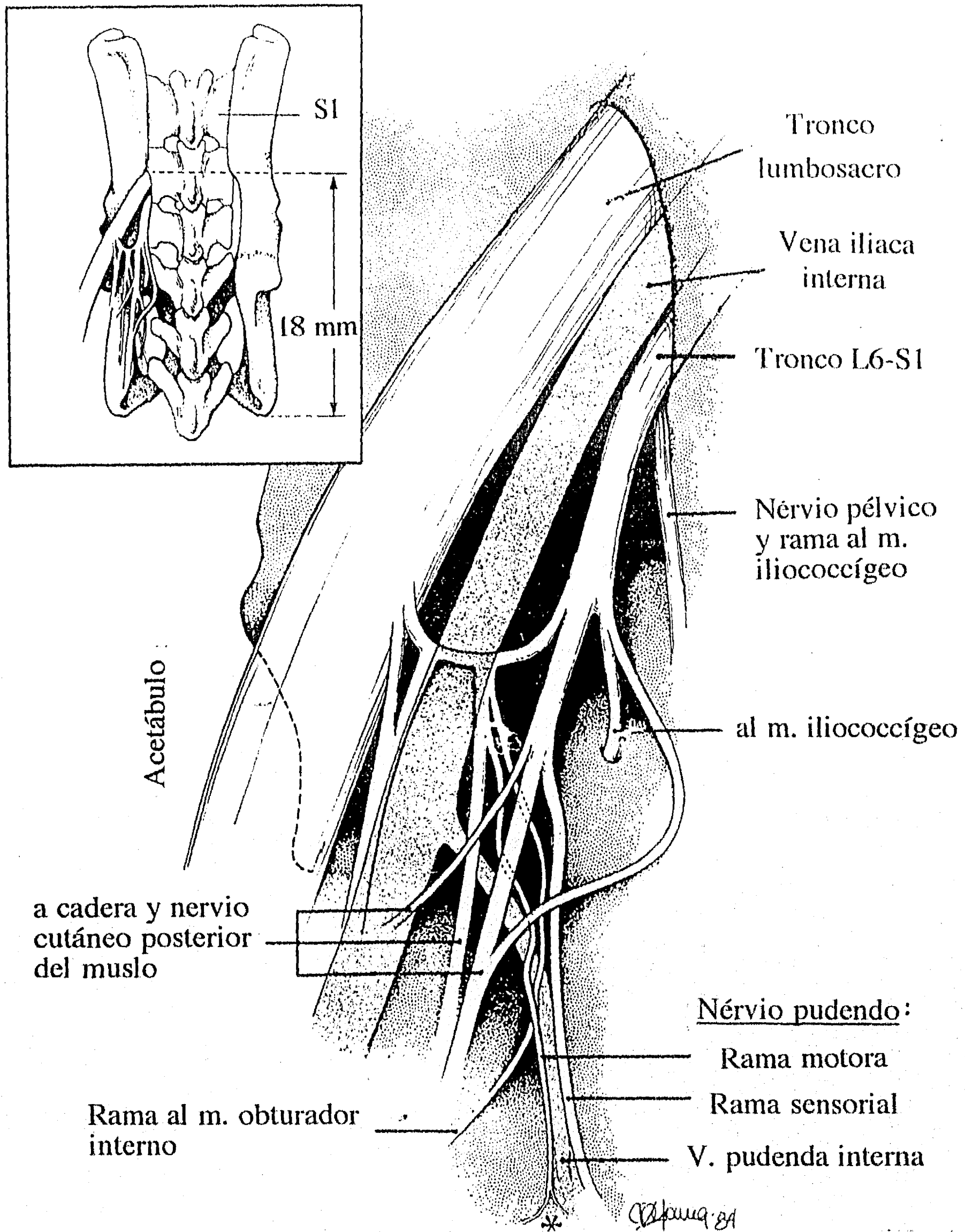


Figura 9. Organización del plexo sacro de la rata propuesto por Mckenna y Nadelhaft (1986).

pero sobre todo, a su gran cantidad de fibras amielínicas y a su relación estrecha con el plexo sacro. Y esto se vuelve particularmente importante en la interpretación de los resultados de los estudios de lesión.

Dada la reconocida participación del nervio pudendo en reflejos pélvicos de la rata hembra, su compleja relación anatómica con el tronco L3-L5 y la gran cantidad de investigaciones que se han hecho sobre él, este estudio trata de dar una descripción más precisa y clara de sus ramas, su distribución a estructuras pélvicas y no pélvicas y su relación al plexo sacro, evaluando la constitución de esta estructura compleja. Para cumplir tal propósito se utilizan métodos anatómicos y electrofisiológicos gruesos.

## OBJETIVO

Describir en la rata hembra la organización anatómica del nervio pudendo y sus ramas, su relación al plexo sacro y su inervación a estructuras pélvicas.

## MATERIAL Y METODO

Se utilizaron 20 ratas hembra vírgenes de la cepa Wistar (250-300 g), las cuales fueron alojadas en jaulas colectivas de acrílico de 47 x 33 x 20 cm. Se mantuvieron en condiciones estándar de bioterio con ciclo de luz-oscuridad 12 x 12 hrs., temperatura  $23^{\circ}\pm 2^{\circ}$  C y humedad relativa 50%. Se les proporcionó agua y alimento *ad libitum*.

## CIRUGIA

En experimentos agudos las ratas fueron anestesiadas con uretano (1.6 g/kg de peso, i.p.); cuando era necesario se administraron dosis adicionales. Con ayuda de un microscopio de disección Zeiss y en condiciones asépticas, se realizó sobre la piel del dorso una incisión longitudinal desde la región lumbar hasta la base de la cola. Se separaron y removieron los músculos dorsales para localizar el plexo sacro localizado bajo la vena ilíaca interna en la cara interna del isquion, directamente sobre el acetábulo y a nivel de la vértebra S3 (ver recuadros Figs. 9 y 10).

## ESTUDIO ANATOMICO GRUESO

En 10 ratas, una vez localizado el plexo sacro, se siguió cuidadosamente el curso de cada una de las ramas que lo conforman y se

determinó la inervación a las estructuras periféricas. Haciendo disecciones macroscópicas del área pélvica y perineal, se visualizaron las relaciones del nervio pudendo y de las ramas del plexo sacro con estructuras como las vísceras, músculos y glándulas. Para facilitar la identificación de los músculos estriados controlados por las ramas del plexo sacro, se utilizó estimulación eléctrica directa a las ramas del plexo.

## ESTUDIO ELECTROFISIOLÓGICO

En 9 ratas se realizó el análisis electrofisiológico y al final de éste, cuando se pudo, se realizó el anatómico. El plexo sacro y sus ramas fueron cubiertas con aceite mineral para su registro.

Se registró la actividad electroneurográfica en respuesta a la estimulación mecánica (presión, tracción y cepillado) a estructuras internas y externas. El registro electroneurográfico (ENG) se realizó con electrodos bipolares de plata, conectados a un preamplificador Grass 7P3, el cual estaba conectado a un osciloscopio Tektronix 5111A. La respuesta ENG a su vez, fue monitoreada por medio de un sistema de audio conectado al sistema de registro. Las acciones corporales fueron visualizadas a través del microscopio.

La estimulación eléctrica de cada rama se realizó usando electrodos bipolares conectados a una unidad de aislamiento Grass SIU la cual fue activada por un estimulador Grass S48. Se aplicaron pulsos de 0.1 mseg de duración y con .01 a 10 volts de intensidad.

Para describir las vías aferentes y eferentes en las ramas del plexo sacro se hicieron cortes selectivos, proximales o distales, de los troncos nerviosos y de sus ramas.

Los campos sensoriales cutáneos fueron inicialmente determinados por cepillado, presión y tracción de la piel. Una vez identificados, se describieron sus límites para cada rama del plexo. Ya que los efectos de los estímulos estudiados fueron cualitativos más que cuantitativos, no se relacionaron con el ciclo estral.

## RESULTADOS

### ORGANIZACION ANATOMICA DEL NERVIO PUDENDO Y DEL PLEXO SACRO

El plexo sacro se localizó sobre la escotadura ciática mayor, a la altura de la segunda y tercera vértebras sacras (ver recuadro Fig. 10). Está limitado anteriormente por la espina iliaca y posteriormente por la cara dorsal del isquión, y está en contacto directo con la vena iliaca interna.

El plexo sacro se forma por una anastomosis entre el tronco lumbosacro (L3-L5) y el nervio pudendo (proveniente del tronco L6-S1).

A partir de aquí, como se muestra en la Fig. 10, se identificaron varias ramas. De los 19 animales estudiados, 11 presentaron la organización que a continuación se describe. El resto de los animales presentaron otras dos variantes.

La primera rama, la más fina y próxima al nervio pudendo, se dirige hacia la fosa isquiorectal para inervar con fibras muy finas al músculo coccígeo. En su trayecto ventromedial viaja con la vena pudenda interna. Algunas fibras se separan y pegan a otra rama sensorial para dirigirse a la piel perigenital.

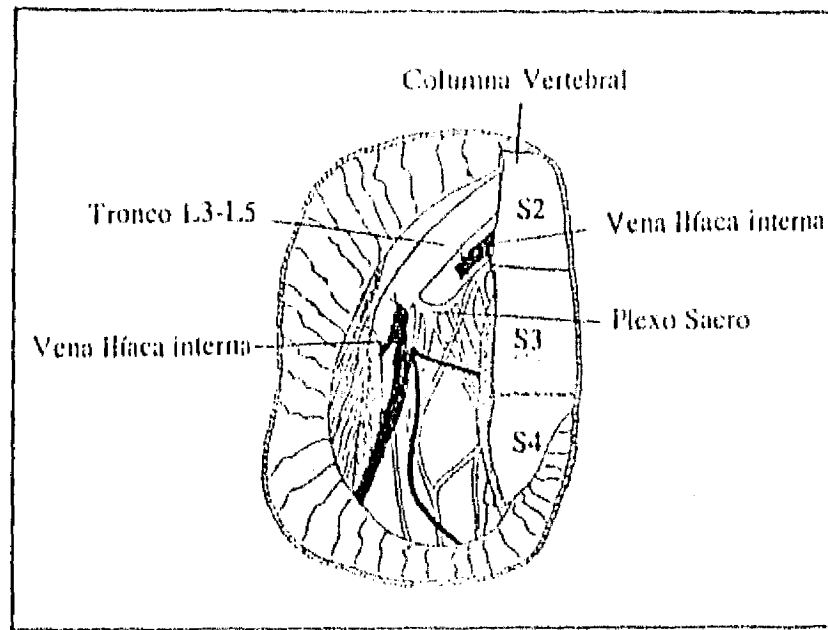
La segunda rama entra a la fosa isquiorectal, donde se le pega el componente sensorial de la primera rama. Se continúan dorsalmente e inervan no solo a piel perigenital, sino también a piel anal, inguinal y de la entrada vaginal.

La tercera rama, la más gruesa, conocida como nervio dorsal del clítoris, viaja en dirección medial profunda junto con la vena iliaca interna y se distribuye de forma amplia sobre el clítoris, de tal forma que resulta indistinguible del tejido clitoreal. Algunas fibras de esta rama se continúan para inervar a la glándula prepucial.

La cuarta rama, la más corta, inerva al músculo obturador interno. Se distribuye casi inmediatamente después de su origen sobre la parte dorsal de este músculo.

La quinta rama, conocida como 'la rama motora del nervio pudendo' (McKenna y Nadelhaft, 1986) y situada en la porción media del plexo, al salir de la fosa isquiorectal emite dos ramificaciones. Una que inerva al esfínter externo de la uretra y al isquicavernoso y otra que inerva el esfínter externo del ano y al bulboespongioso.

La sexta rama, más cercana al tronco L3-L5, se dirige a la piel perineal.



## PLEXO SACRO

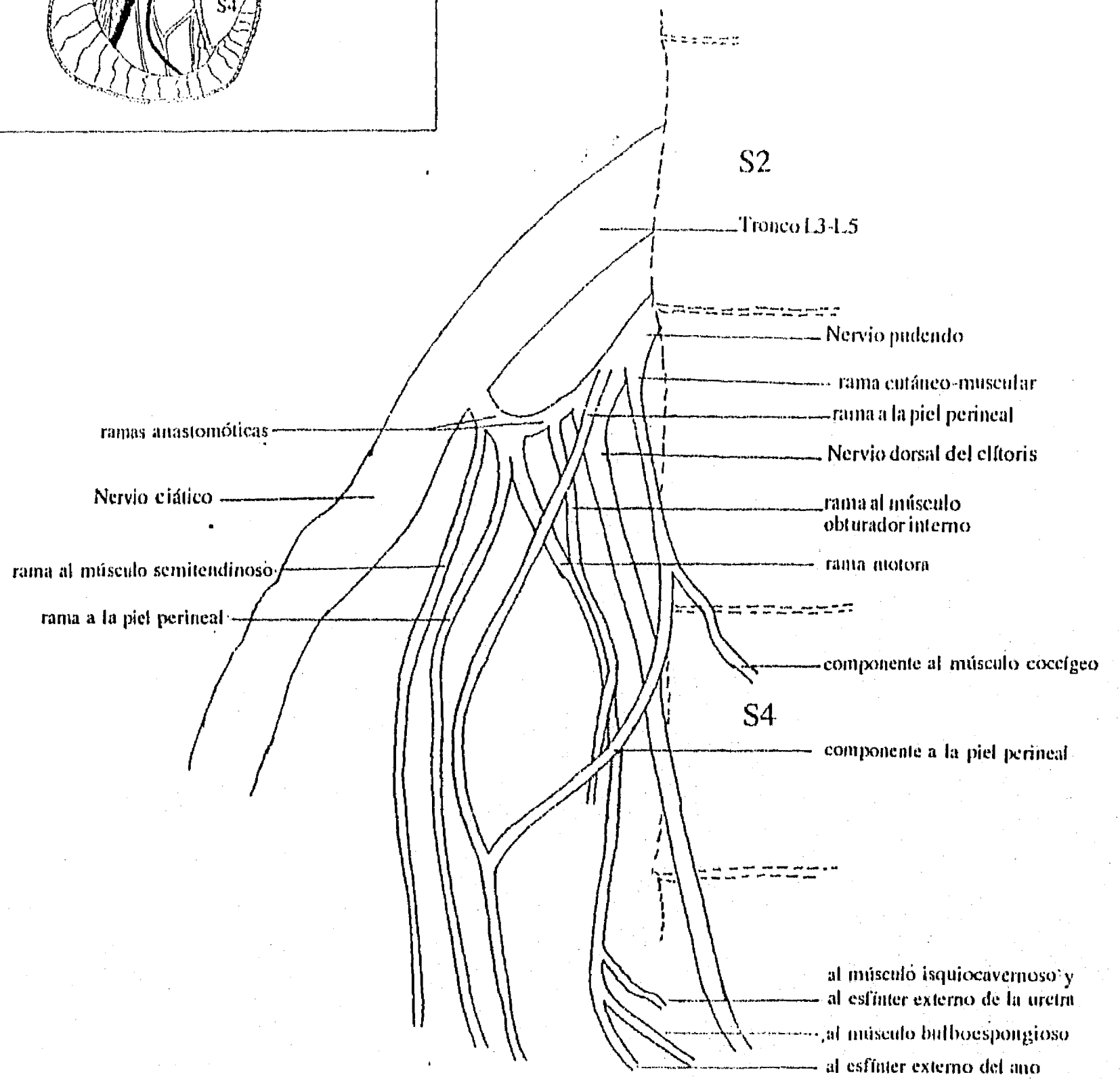


Figura 10. Organización del nervio pudendo y del plexo sacro en la rata.

Por último, la séptima rama, pegada al tronco L3-L5, se dirige en dirección dorsocaudal para inervar al músculo semitendinoso.

Se deben considerar dos finas ramas más, las anastomóticas. Una proviene del nervio pudendo y otra del tronco L3-L5. Ambas conforman el plexo sacro.

## ANALISIS ELECTROFISIOLÓGICO

Para efectuar el análisis electrofisiológico, además de realizar la disección cuidadosa de cada una de las ramas, siempre se disecó una porción considerable, tanto del tronco L3-L5 como de la parte correspondiente al nervio pudendo y el tronco L6-S1. Antes del registro o estimulación eléctrica, el tronco L6-S1 se seccionaba a nivel del origen del nervio pélvico (Fig. 11 A). Al tronco L3-L5 se le hacía una doble sección, dejando intacta la rama que se dirige al plexo ó anastomótica (Fig. 11 B). En cuatro experimentos se dejó intacta la parte distal a esta rama anastomótica, es decir, la parte correspondiente al nervio ciático.

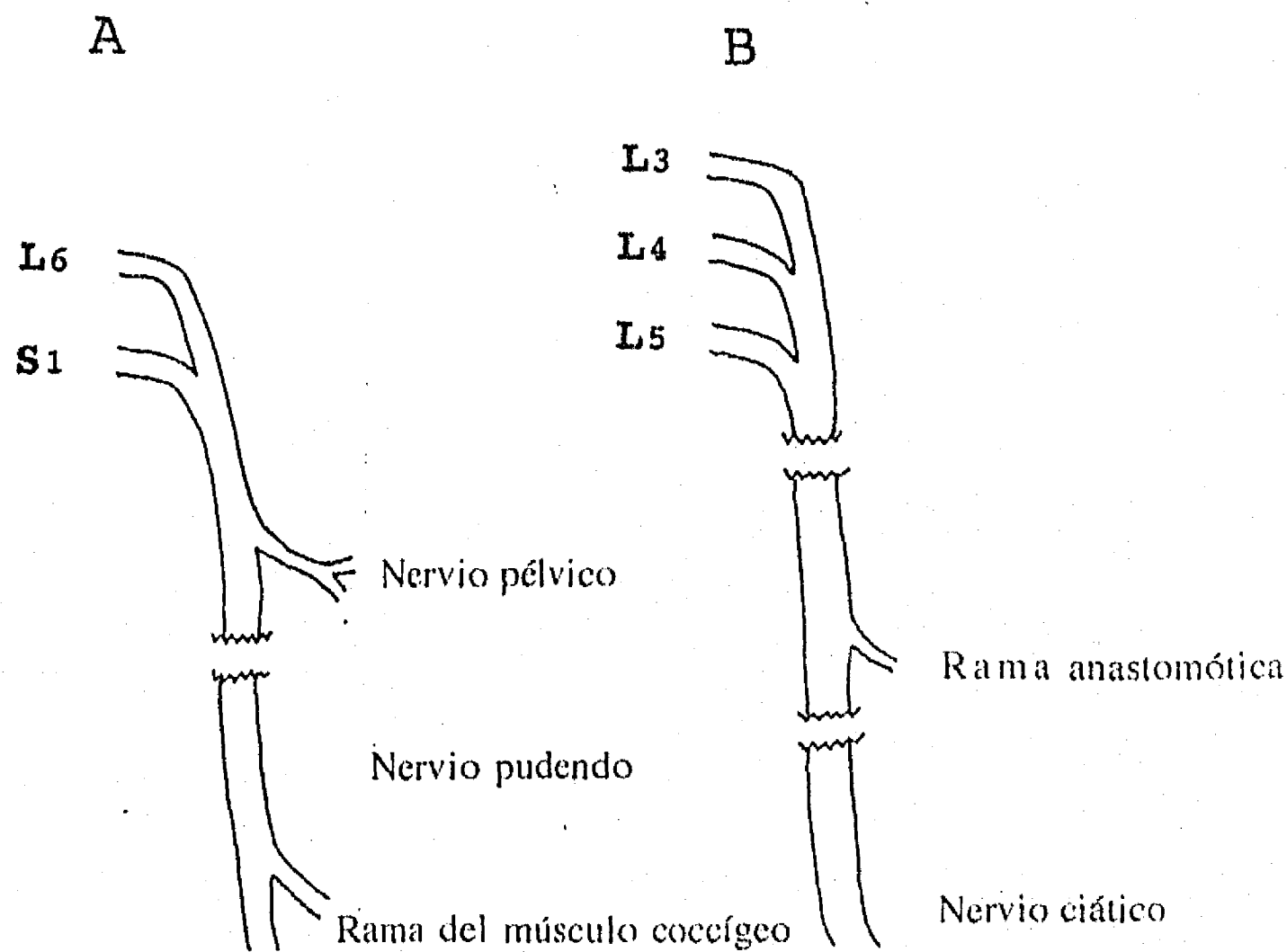


Figura 11. El esquema muestra el nivel de lesión en los troncos nerviosos L6-S1 y L3-L5. En A, se muestra el lugar de corte en el nervio pudendo posterior a la separación del nervio pélvico. En B, se muestra los lugares de corte del tronco lumbosacro y del nervio ciático posterior a la rama anastomótica.

## VIAS AFERENTES

La estimulación por cepillado sobre la piel perineal, anal, inguinal y del orificio vaginal produjo actividad eléctrica de las dos ramas cutáneas del plexo sacro. Esta actividad fue registrada solamente en el tronco L6-S1 para la segunda rama y en los troncos L3-L5 y L6-S1 para la sexta rama.

Como se aprecia en la figura 12, la segunda rama tiene un campo sensorial amplio confinado a la piel perineal, perianal, del orificio vaginal e inguinal. La sexta rama tiene un campo sensorial confinado a la piel inguinal y perineal. El campo sensorial de ambas ramas tiene una zona de traslape en la región inguinal y en la entrada de la vagina. Los campos sensoriales se pudieron distinguir de la piel perineal, perianal, del orificio vaginal e inguinal, desde la línea media hasta los pliegues inguinales.

La tracción y presión al clítoris produjo actividad en el nervio dorsal del clítoris. Esta actividad fue registrada en el tronco L6-S1 y no en el tronco L3-L5. A pesar de que se estimuló mecánicamente a la glándula prepucial, no se pudo registrar actividad en el nervio dorsal del clítoris.

En el presente estudio no se determinó actividad aferente de los músculos relacionados con el plexo sacro.

## VIAS EFERENTES

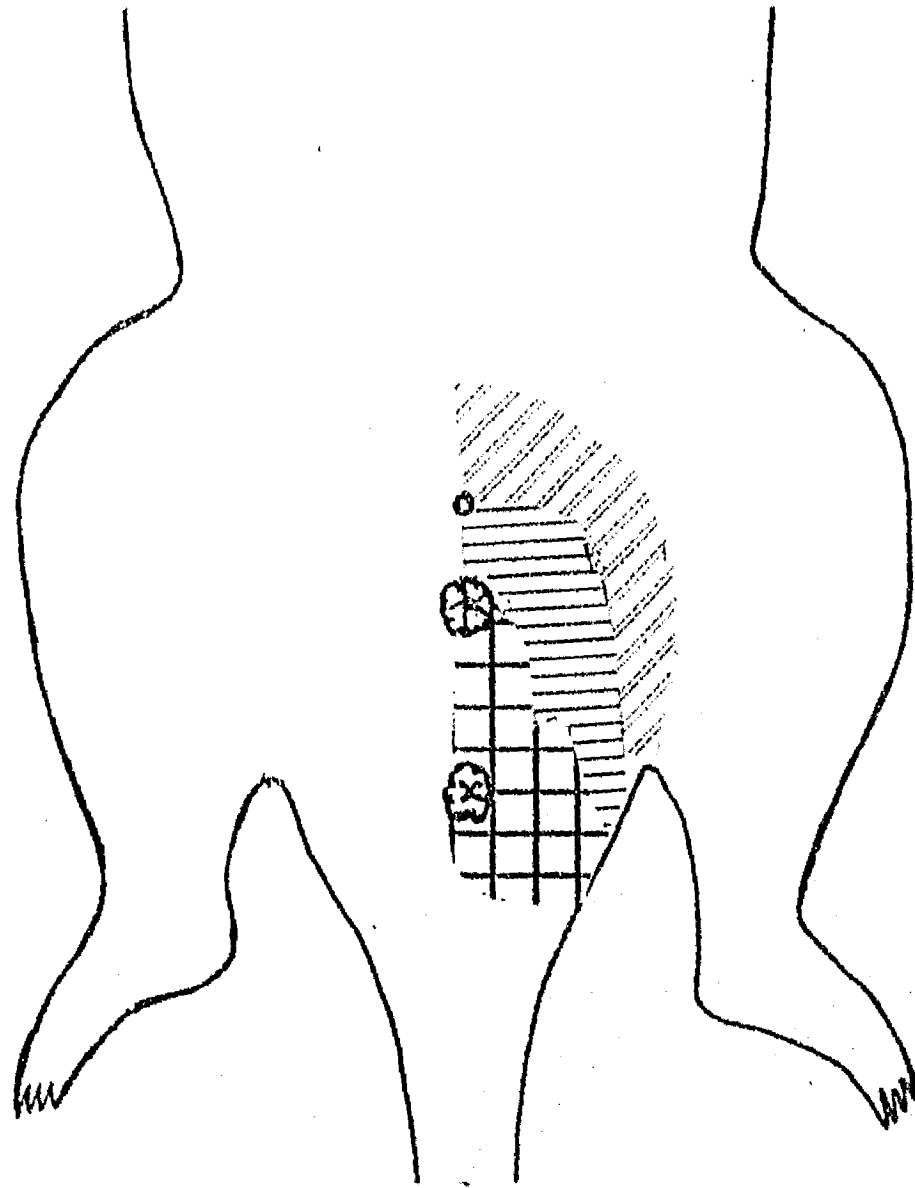
Aplicando estimulación eléctrica a las diferentes ramas del plexo sacro, al nervio pudendo inmediatamente después de su formación del tronco L6-S1, y a los troncos lumbosacro y L6-S1 se observaron las siguientes acciones.

Contracción del músculo coccígeo por estimulación de la primera rama.

La estimulación de la cuarta rama produjo contracción del músculo obturador interno. El aplicar la estimulación a la quinta rama produjo contracción de los músculos isquiocavernoso, bulboespongioso, esfínter externo de la uretra y esfínter externo del ano. La estimulación de la séptima rama produjo contracción del músculo semitendinoso.

Tal como se esperaba, la estimulación eléctrica de las ramas segunda, tercera y séptima, no produjeron actividad visible.

La estimulación del tronco L6-S1 en los animales a los que se dejó íntegra la parte distal a la rama anastomótica del tronco L3-L5 produjo contracción de los músculos coccígeo, obturador interno, isquicavernoso,



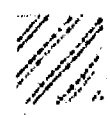
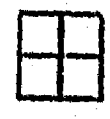
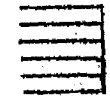
-  Zona inervada por el nervio pudendo
-  Zona inervada por el nervio pudendo y el tronco L3-L5
-  Zona de traslape de la inervación

Figura 12. Areas cutáneas del periné inervadas por el nervio pudendo y el tronco L3-L5.



bulboespongioso y los esfintéricos. Así mismo produjo un aplastamiento suave de la glándula prepucial y el movimiento de los dedos de la pata posterior ipsilateral. Al seccionar el tronco L3-L5, justo abajo de su anastomosis con el plexo sacro, el movimiento de los dedos de la pata dejó de observarse.

La estimulación del nervio pudendo produjo contracción de los músculos isquiocavernoso, coccígeo, esfínter externo del ano, esfínter externo de la uretra y obturador interno. Se observó también la extensión de los dedos de la pata, movimiento de la vaina clitoral y de la glándula, así como movimientos del orificio vaginal y de la pared vaginal. El movimiento del orificio vaginal es un desplazamiento ipsilateral al lado estimulado. Estas acciones, sin embargo, son más intensas cuando se estimula el nervio pudendo y el tronco lumbosacro conjuntamente.

Con la estimulación bilateral del nervio pudendo se produce el cierre del ano y la contracción del esfínter externo de la uretra. La estimulación unilateral del nervio pudendo pero no la del tronco L3-L5 produce movimiento de la cola ipsilateral al lado estimulado. Además, este tipo de estimulación bilateral produce rigidez de la cola.

La estimulación del tronco L3-L5 produjo contracción del músculo semitendinoso, de los de los esfínteres externos del ano y de la uretra y de los músculos perineales isquiocavernoso y bulboespongioso.

En hembra la identificación y disposición del músculo isquiocavernoso está bajo discusión ya que sus fibras son vestigiales y finas (McKenna y Nadelhaft, 1986). En este estudio, la estimulación bilateral del nervio pudendo y del tronco L3-L5 produjo una clara contracción del músculo isquiocavernoso. La contracción de este músculo, situado cerca de la línea media y hacia los lados de la vaina clitoral parece ser que es el que produce el movimiento de la vaina clitoral y de la glándula prepucial.

## **DISCUSION Y CONCLUSIONES**

La cuestión de cómo debe ser llamado un nervio parece ser trivial. Sin embargo, no es tan trivial si consideramos que el nervio pudendo es un importante componente de la inervación del área pélvica, y que múltiples estudios se refieren al nervio pudendo como una sola entidad única y simple, sin considerar sus múltiples ramas y sus diferentes orígenes. Una confusión seria es inevitable.

El esquema de la figura 13, elaborado principalmente con los resultados de este estudio, sirve para mostrar la complejidad del plexo sacro, identificar al nervio pudendo y para sostener la propuesta de que la terminología manejada hasta ahora para el nervio pudendo debe ser modificada.

Así, sería adecuado que en el futuro nos refiramos como nervio pudendo exclusivamente al nervio que proviene del tronco L6-S1, después de que éste dió origen al nervio pélvico, hasta antes de la separación de la rama al músculo coccígeo (ver también Fig. 10).

Después de esta porción, será conveniente cinco ramas del nervio pudendo: la que va al músculo coccígeo, el nervio dorsal del clítoris, la que va al músculo obturador, la que va a la piel perineal, y la anastomótica que, aunque muy fina, una a las otras ramas del nervio pudendo con las ramas provenientes del tronco L3-L5, constituyéndose el plexo sacro.

Así, el plexo sacro incluiría también a todas las ramas del nervio pudendo, excepto a la que va al músculo coccígeo, más a la hasta ahora llamada rama motora del nervio pudendo, a la otra rama que inerva a la piel perineal y, finalmente, a la que inerva al músculo semitendinoso.

Uno de los hallazgos más importantes de nuestro estudio es que en la rata hembra por el tronco L3-L5 va información sensorial proveniente del área perineal. Es decir, hay una inervación sensorial adicional a la proporcionada por el nervio pudendo ó tronco L6-S1 (McKenna y Nadelhaft, 1986): es la rama sensorial del plexo ó sexta rama que es muy delgada y fina y también da inervación a la piel perineal, perianal, inguinal y de la entrada de la vagina como la rama a piel del nervio pudendo (segunda rama) (Fig. 12). Así, por medio del registro eléctrico se encontró que los axones de la rama a piel perineal del plexo, van por ambos troncos, el L6-S1 y el L3-L5 a diferencia de la segunda rama cuya estimulación solo produjo actividad eléctrica en el tronco L6-S1.

Kow y Pfaff (1975) por su parte, han mostrado en rata hembra que la rama perineo-femoral del nervio pudendo (segunda rama), que inerva el periné, entra a la médula espinal a través de las raíces dorsales L5 a S1. Es probable que ellos también hubieran activado la otra rama sensorial proveniente del plexo sacro.

Corroboramos el hallazgo de McKenna y Nadelhaft (1986) de que por la llamada rama motora del nervio pudendo van axones provenientes de ambos troncos, el L3-L5 y el L6-S1. Una observación interesante relacionada a otra inervación motora del nervio pudendo, es que su estimulación eléctrica, inmediatamente después de su separación del tronco

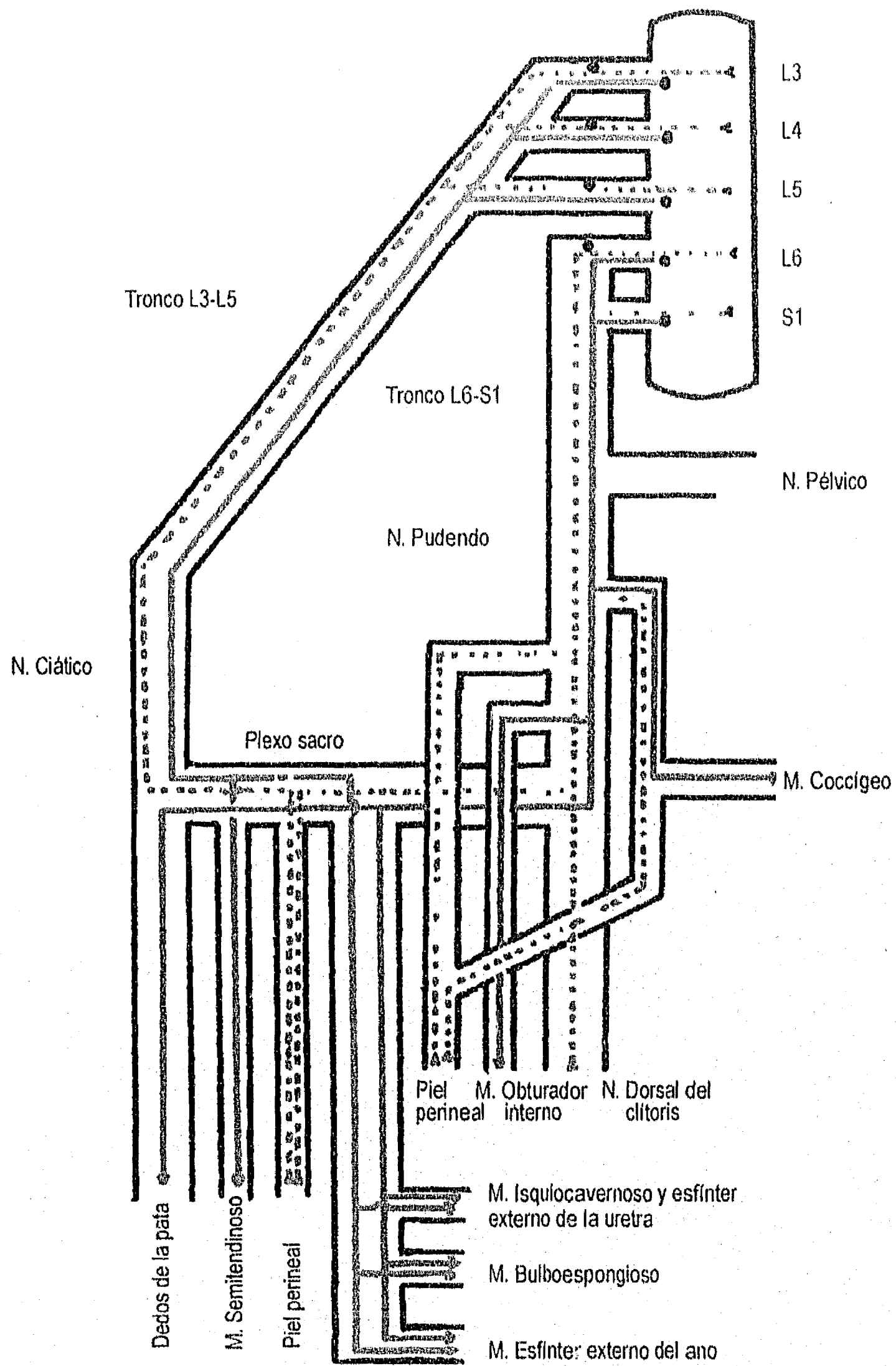


Figura 13. Esquema de las vías aferentes (-----) y eferentes (——) provenientes de los troncos L6-S1 (azul) y L3-L5 (rojo) que forman al nervio pudendo y al plexo sacro.

L6-S1 provoca el movimiento de los dedos de la pata ipsilateral a la estimulación.

Esto nos lleva al planteamiento de que en realidad el nervio pudendo origina cuatro componentes motores: al músculo coccígeo (segunda rama), al músculo obturador interno (cuarta rama), a los músculos esfintéricos y perineales (quinta rama), y finalmente, a los músculos de los dedos de la pata a través del nervio ciático.

Así, el origen espinal del nervio pudendo efectivamente debe mantenerse como el tronco L6-S1. Sin embargo, el origen de las fibras que forman parte del plexo sacro, entre ellas las ramas "sensorial y motora del nervio pudendo", debe establecerse proveniente, por lo menos, de los segmentos espinales L5, L6 y S1. La distinción tan limitada propuesta por McKenna y Nadelhaft (1986) no puede mantenerse.

Sería importante también una reevaluación de la nomenclatura que permitiera mejores interpretaciones de los datos tanto de los estudios en la misma rata como para comparaciones en otros modelos animales como la oveja (Kirk y col., 1988), el gato donde tantos estudios se han realizado (por ejemplo, Cueva-Rolón y col., 1994), y el humano, donde se conoce la importancia que tiene la modulación del nervio pudendo no solo en los procesos reproductivos como el parto (Wall y Delancey, 1991) sino en los graves problemas de incontinencia fecal y urinaria (Martínez-Gómez y Lucio, 1996).

# RESPUESTAS DE LAS RAICES DORSALES ESPINALES A LA ESTIMULACION GENITAL EN RATAS HEMBRAS ANESTESIADAS CON URETANO

## INTRODUCCION

Las entradas aferentes de los órganos reproductivos provocan varios reflejos viscero-visceral y viscero-somáticos. En algunos mamíferos, la ovulación ocurre después de la estimulación del coito (Kollar, 1952). La estimulación mecánica o eléctrica del cérvix, durante el estro en ratas causa una prolongación de la vida del cuerpo lúteo o pseudoembarazo (Haterius, 1933).

Se han realizado muchos estudios para describir anatómicamente la inervación sensorial de los órganos reproductivos de la rata hembra. Así, se ha podido establecer que los órganos genitales y la piel perigenital de este modelo animal están sensorialmente inervados por los nervios pudendo, genitofemoral, hipogástrico y pélvico (Langworthy, 1965; Purinton y col., 1973; Baljet y Drukker, 1982; Reiner, 1980; Hulsebosch y Coggeshall, 1982; Peters y col., 1987; McKenna y Nadelhaft, 1986; Katagiri y col., 1986; Nance y col., 1988).

Respuestas unitarias a la estimulación genital han sido reportadas en diversas áreas cerebrales como hipotálamo, sistema límbico, tálamo, cerebro medio y bulbo raquídeo (Rose, 1975; Kumazawa, 1986).

Sin embargo, a diferencia de otras especies como la gata (Henry, 1983), en la rata, modelo animal usado ampliamente, no se han realizado suficientes estudios neurofisiológicos que ayuden a determinar el control espinal mediado por los nervios del área pélvica sobre los reflejos producidos por estimulación genital y reproductora.

En rata se ha determinado que la estimulación de la piel perineal activa axones de los nervios pudendo (Komisaruk y col., 1972; Pfaff y col., 1972; Adler y col., 1977; Reiner y col., 1980; McKenna y Nadelhaft, 1986), genitofemoral (Reiner y col., 1980) y pélvico (Peters y col., 1987; Pacheco y col., 1989).

La estimulación vaginal y del cérvix uterino produce descargas aferentes del nervio pélvico y la del útero activa axones aferentes del nervio hipogástrico (Peters y col., 1987; Berkley y col., 1993a). Histológicamente se ha podido determinar que el nervio pélvico, como el pudendo, tiene células en los ganglios espinales dorsales de los segmentos L6-S1 (McKenna y Nadelhaft, 1986; Berkley y col., 1988). Estudios con sustancias trazadoras

han mostrado que fibras provenientes del cérvix uterino viajan por los nervios hipogástrico y pélvico (Steinman y col., 1982; Berkley y col., 1988). Finalmente, la actividad de aferentes de receptores de músculos estriados del área pélvica, importantes en las funciones reproductivas de la rata hembra, aún no se ha estudiado.

Diversos estudios han mostrado que la estimulación de áreas cutáneas durante la cópula produce lordosis (Pfaff y col., 1994). La estimulación vaginal induce una variedad de efectos fisiológicos y conductuales que incluyen la activación lútea (Carlson y DeFeo, 1965), potenciación de la receptividad sexual (Rodríguez Sierra y col., 1975), facilitación de la lordosis (Komisaruk y Diakow, 1973), supresión del dolor (Komisaruk y Wallman, 1977) e inhibición de reflejos craneales (Komisaruk y Larsson, 1971) y musculares para la expulsión del feto (Higuchi y col., 1987). Sin embargo, los mecanismos espinales involucrados en todos estos eventos reproductivos, aún no han sido estudiados con suficiente profundidad. Posiblemente, la compleja organización anatómica de la inervación a las estructuras genitales tan íntimamente relacionada con los plexos y ganglios nerviosos ha contribuido a la falta de precisión de dichos estudios.

Así, son aún pocos los mecanismos neurales que se conocen en rata y otras especies de hembras de mamíferos sobre el control espinal de las acciones genitales. Son escasos los estudios experimentales que utilicen técnicas electrofisiológicas para analizar esta problemática, y sobre todo, pocos los que tratan de simular en animales anestesiados, reflejos relacionados con la actividad refleja de áreas genitales (McKenna y col., 1991a, Berkley y col., 1993b; Pfaff y col., 1994).

Como puede verse, a pesar de que hay datos sustanciales acerca de las fibras aferentes que inervan órganos reproductivos de la rata hembra y de que hay estudios que muestran que los axones aferentes de los nervios que inervan la vagina y la parte caudal del útero son capaces de acarrear información detallada de estimulación mecánica y química de estas estructuras (Berkley y cols., 1988), poca información hay sobre la actividad disparada a nivel de las raíces dorsales de la médula espinal (Kow y Pfaff, 1975).

Para poder determinar las características de los reflejos espinales que involucran las estructuras reproductoras, es necesario tener información sobre la manera en que la información genital arriba a la médula espinal.

## OBJETIVO

Caracterizar mediante análisis electrofisiológico, la actividad de las raíces dorsales espinales lumbosacras producida por estimulación mecánica genital en ratas hembras anestesiadas con uretano

## MATERIAL Y METODO

### SUJETOS

Ratas hembras adultas con un peso de 250-300 g fueron utilizadas en este estudio. El estado de su ciclo estral no se consideró, sin embargo, los animales utilizados se mantuvieron en un cuarto con ciclo invertido de luz-obscuridad de 12:00-12:00; la luz se encendía a las 10:00 hrs.

### ANESTESIA Y DISECCION

El análisis electrofisiológico fue realizado bajo anestesia profunda con uretano (1.6 g/kg de peso, en solución acuosa al 20%, intraperitoneal). Se administraron dosis complementarias necesarias para mantener profunda la anestesia.

Después de la anestesia, todas las preparaciones comenzaron con la fijación del animal sobre un aparato estereotáxico para médula espinal. Se usaron tres puntos de fijación; la cresta iliaca de ambos huesos ilíacos y la apófisis dorsal T9-T10. Esto impidió la vibración y el movimiento de la preparación y permitió el acceso a áreas genitales. Después se realizó laminectomía desde T12 hasta S3. Los segmentos L5-S2 fueron identificados y las raíces dorsales correspondientes fueron cortadas lo más cercanamente posible a la médula espinal y se prepararon para los registros. Para reducir la actividad proveniente de las aferentes somáticas de las piernas, cortamos el nervio ciático a nivel gluteal. Durante el registro, todas las raíces dorsales fueron sumergidas en aceite mineral a 36-37.5°C.

Al final de cada experimento la rata fue eliminada con una sobredosis de uretano. Después de esto, la identidad de las raíces dorsales fue

corroborada identificando la vértebra T13 unida a la última costilla. La raíz espinal que entra entre las vértebras T13 y L1 fue identificada como raíz L1.

## REGISTRO Y TECNICA DE ESTIMULACIÓN

La raíz dorsal fue colocada sobre un electrodo bipolar de plata clorurado y se aplicaron los diferentes tipos de estimulación (ver más adelante). Alguna veces, antes de que la siguiente raíz dorsal fuera explorada, los filamentos de la raíz dorsal fueron divididas repetidamente con una pinza de punta muy fina hasta que la actividad multiunitaria fue claramente registrada.

Las respuesta fueron amplificadas por un audio amplificador y un preamplificador GRASS 7P3 de banda amplia. Las señales fueron filtradas a 50 y 250 Khz y se visualizó en un osciloscopio de memoria TEKTRONIX 564 y fotografiados. Dado que las señales estuvieron compuestas de potenciales de diferente amplitud, nuestros análisis se basaron solo en la calidad: presencia o ausencia de actividad audible o visible.

Estimulación. Doce horas antes de los experimentos se retiró el alimento a los animales. Esto permitió una evacuación casi total de la región distal del intestino grueso y cólon, de tal manera que no se presentó defecación durante el experimento.

Los tipos de estimulación que fueron aplicado sistemáticamente consistieron en el cepillado, golpeteo y presión con un hisopo, tracción con pinzas y estimulación con fibras de Von Frey. Se estimularon la piel inguinal, perianal y perivaginal así como la vaina clitoral.

Estimulación al tracto vaginal también fue incluida. Un globo pequeño (látex de un condón profiláctico) unido a un catéter delgado fue insertado dentro del orificio vaginal y empujado caudalmente a través del tracto vaginal. El globo y el catéter estuvieron conectados a una jeringa llena con aire. Este dispositivo fue usado como un estimulador para distender áreas del canal vaginal, incluyendo el cérvix. Cuando se distendió al máximo, el globo alcanzó 12 mm de diámetro. Los volúmenes de aire producen varios diámetros de distension, así, los diámetros aquí reportados representan las presiones aplicadas a las paredes cervical o vaginal de la rata.

Se usó también un émbolo de vidrio de 5 mm de diámetro insertado en el canal vaginal para proporcionar estimulación mecánica en las paredes cervical o vaginal.



## RESULTADOS

### RAIZ DORSAL L5

La raíz L5 responde a la estimulación de la piel inguinal en su porción cefálica. Con todas las modalidades de estimulación utilizadas, las respuestas fueron claras pero predominaban al aplicar cepillado y golpeteo. La tracción de esta parte de la piel, la presión continua y las fibras de Von Frey dieron descargas que en poca intensidad sobresalían de la actividad base; en la mayoría de las ocasiones fueron audibles pero difíciles de visualizar. Respuestas poco visibles pero audibles se obtuvieron al realizar la tracción de la vaina clitoral y durante el golpeteo y presión del área perianal. Respuestas "on"- "of" no pudieron caracterizarse con claridad en esta raíz. La estimulación de la piel perivaginal no dió respuesta. La piel perianal sólo respondió al golpeteo y a la presión.

La estimulación del tracto vaginal mediante el émbolo de vidrio o con la distensión del globo solo produjo respuesta audible.

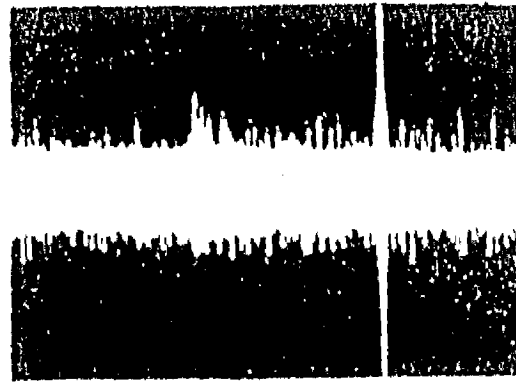
### RAIZ DORSAL L6

Esta raíz lumbar presentó respuestas muy definidas. La piel de la región inguinal, perivaginal y perianal produce respuestas a todas las modalidades de estimulación. La estimulación de la vaina clitoral da también respuesta a todas las modalidades de estimulación, excepto con las fibras de Von Frey. En la figura 14 se muestra por ejemplo, que la presión a la vaina clitoral produce en esta raíz respuestas "on" y "off", siendo esta última de mayor magnitud. La tracción de esta estructura produce respuestas "on" y "off" de gran magnitud, siendo la "on" de adaptación rápida. La "off" presenta mayor duración que la obtenida al cese de la estimulación a la presión. La tracción de la vaina clitoral origina descarga tónica que dura mientras la tracción se mantiene. El golpeteo da respuestas muy claras que siguen la frecuencia de dicho golpeteo.

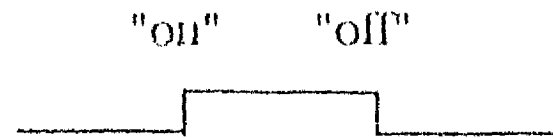
La estimulación del tracto vaginal mediante las dos modalidades utilizadas, con el émbolo de vidrio y mediante la distensión con un globo, produjo en esta raíz lumbar respuestas muy aparentes. Tratando de caracterizar mejor dichas respuestas, los registros se tomaron de un conjunto de axones disecados por separación. En la figura 15 se ejemplifica que el émbolo de vidrio, al ser introducido al canal vaginal no produce actividad, sin

# RAIZ DORSAL L6

Vaina clitoral



Presión



Tracción



Golpeteo

2 seg

Figura 14. Registro de la raíz dorsal L6 en respuesta a la estimulación mecánica diferencial aplicada a la vaina clitoral. Nótese que la estimulación por golpeteo fue el estímulo que produjo una mayor respuesta.

## RAIZ DORSAL L6

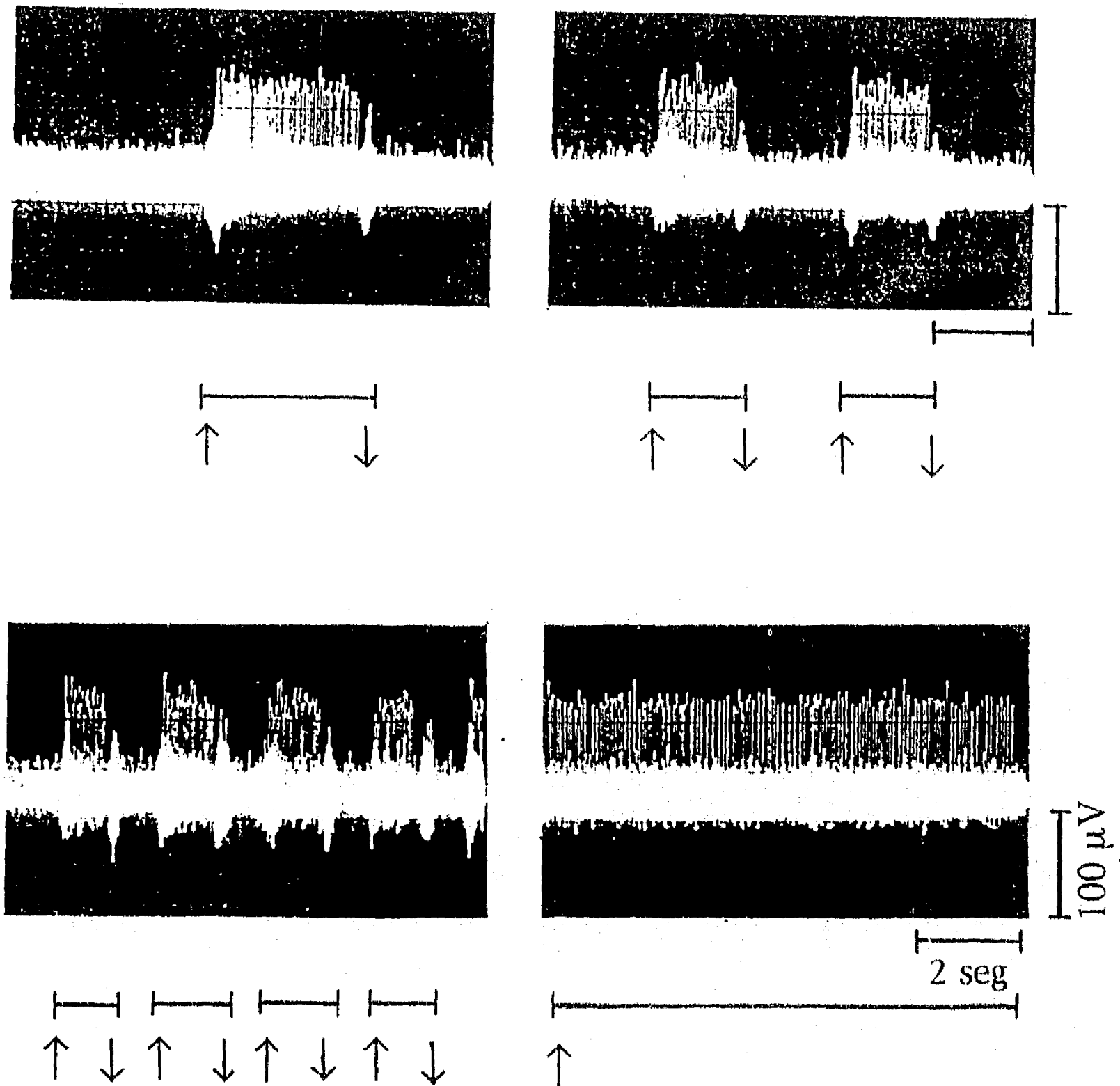


Figura 15. Respuestas de la raíz dorsal L6 a la estimulación mecánica repetitiva con un émbolo al cervix. Las respuestas se obtienen mientras se aplica presión al cervix y se correlacionan con la duración del estímulo.

embargo, cuando dicho émbolo toca al cérvix uterino, de inmediato se obtiene actividad "on" y "off" que en la figura se observan de menor amplitud. Al tocarse el cérvix con la punta del émbolo, también se desencadena una actividad tónica "on", de mayor amplitud en la figura de 20 x seg aproximadamente, y que cesa al retirar el émbolo del cérvix. El émbolo se mantiene en la vagina. Al volver a tocar el cérvix, vuelven a aparecer los dos tipos de respuestas. La respuesta "off" aparece después de un periodo posterior al cese de la actividad tónica "on". En la figura, también se ejemplifica que la respuesta tónica "on" no se adapta a pesar de que el estímulo dura 20 segundos, lo único que se presenta es una reducción a 10 x seg de la frecuencia.

En la figura 16 se ejemplifican los registros obtenidos durante la estimulación del tracto vaginal mediante la distensión producida con el globo. El globo produce respuesta una vez que llega a su máxima distensión que fue a los 12 mm de diámetro. Se puede observar que dicha distensión, al realizarse en la parte inicial de la vagina, cerca del orificio vaginal, no produce actividad visible, en cambio la distensión de la parte media de la vagina y del cérvix, producen una gran actividad de axones, cuya descarga tónica "on" es de gran duración. La frecuencia de descarga es mayor al estimular el cérvix. Este aumento puede ser debido a un reclutamiento de mayor número de axones activados. En la figura se puede observar que axones que responden a menor amplitud también son reclutados.

Tratando de mimetizar lo que puede suceder durante la cópula, en otra serie de registros se desplazó el balón una vez inflado hasta el nivel del cérvix. En la figura 17 se ejemplifica el tipo de respuestas obtenidas. Se puede observar que durante el llenado gradual del globo la respuesta aparece hasta la distensión máxima. Al llegar a ésta, se inicia una actividad de gran amplitud y de una frecuencia de 10 x seg. aproximadamente. El desplazamiento del globo en dirección hacia el orificio vaginal a una velocidad aproximada de 10-15 mm x seg, produce actividad de amplitud alta y de frecuencia variable que se interrumpe cuando al globo pasa por ciertas áreas del tracto vaginal.

La vagina mide aproximadamente entre 2.5 a 3 cms de longitud. Se puede observar que hay otro tipo de actividad axonal de menor amplitud y de mayor frecuencia, que oscila dependiendo del sitio por donde pasa el globo en la vagina. Esta actividad da la impresión que aumenta de amplitud en los sitios en los cuales donde la otra actividad de mayor amplitud desaparece, tal es el caso de la porción cercana al orificio vaginal. Al sacarse

## RAIZ DORSAL L6

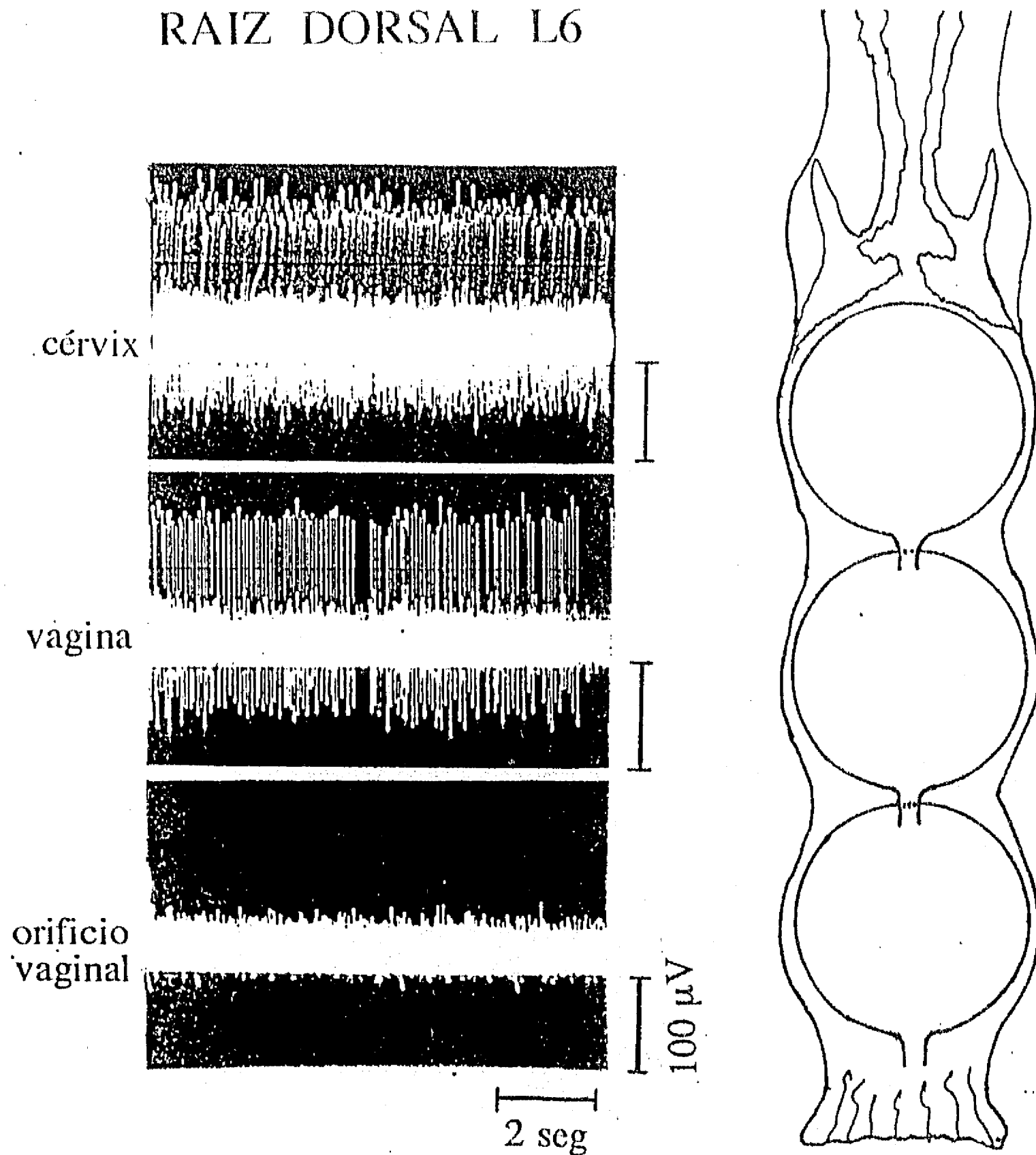


Figura 16. Respuestas de la raíz dorsal L6 por la estimulación del tracto vaginal mediante su distensión diferencial con un globo. La estimulación de la región cervical y vaginal produjo respuestas complejas que no se observaron al estimular el orificio vaginal. A la derecha se esquematiza al globo distendido dentro de las diferentes áreas del canal vaginal.

## RAIZ DORSAL L6

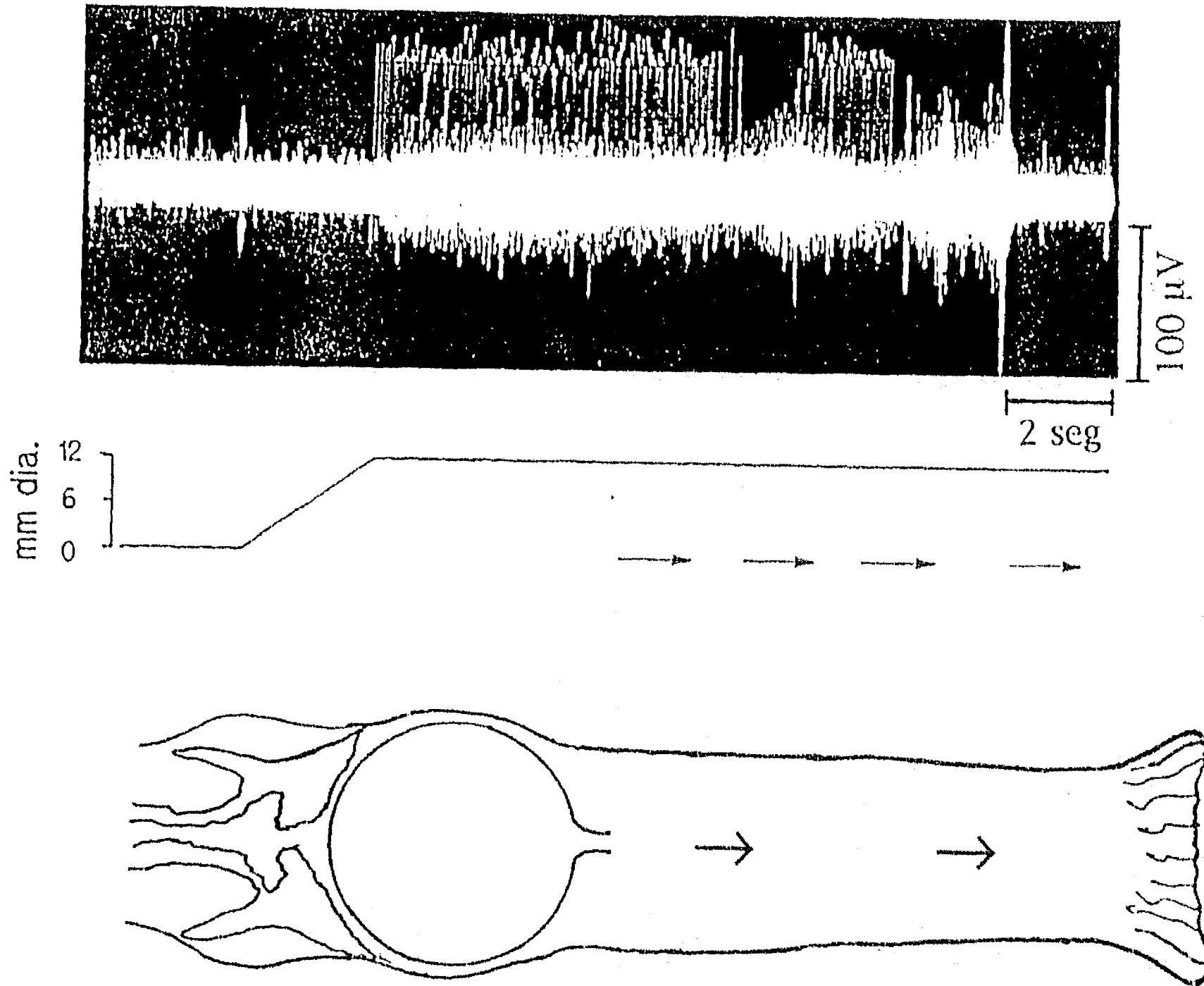


Figura 17. Registro de la raíz dorsal L6 en respuesta a la estimulación mecánica del tracto vaginal por el desplazamiento de un globo distendido. En la parte inferior de la figura se esquematiza la posición del globo distendido durante su trayectoria por el tracto vaginal. La respuesta de la raíz dorsal se modifica en relación con la posición estimulada por el tracto vaginal.

el globo del orificio vaginal, se observa una descarga de gran amplitud que se correlaciona con una gran actividad muscular contráctil, lo cual puede tratarse de un artefacto de movimiento, más que de actividad axonal real.

#### RAIZ DORSAL S1

Esta raíz se comporta de manera similar a la raíz L6. La estimulación de las áreas cutáneas inguinal, perivaginal y perianal produce respuestas típicas de la estimulación de la piel. El cepillado, golpeteo, presión, tracción y con las fibras de Von Frey produjo actividad clara. La piel que rodea a la vaina clitoral también dió actividad, que a excepción de las fibras de Von Frey, se produjo con las demás modalidades de estimulación. La figura 14 que corresponde a la raíz L6, podría tomarse como ejemplo para esta misma raíz S1.

Con respecto a la estimulación del tracto vaginal, el émbolo de vidrio activó axones de esta raíz sólo al estimular el cérvix uterino. La distensión del globo a nivel del cérvix provocó en el registro de toda la raíz una actividad masiva, claramente visible sobre su actividad basal. En la figura 18, se ejemplifica un registro obtenido durante las diferentes fases de distensión del globo, en el área vaginal correspondiente al cérvix uterino. Conforme el globo se distiende, la actividad aumenta. La distensión del globo se correlacionó con el volumen de aire inyectado al balón. El desplazamiento del globo distendido desde el cérvix en dirección al orificio vaginal produjo una actividad que se muestra en la figura 19. Dado que el registro corresponde a toda la raíz S1 montada en los electrodos, la actividad es masiva, sin embargo, las variaciones en amplitud de dicha actividad son claramente correlacionables con el área estimulada de la vagina. Como se vió en los registros obtenidos de un conjunto de axones disecados de L6, la mayor actividad en S1 también corresponde a la región del cérvix y a la porción cercana al orificio vaginal.

#### RAIZ DORSAL S2

La raíz S2 no da actividad a la estimulación de la piel inguinal ni a la vaina clitoral. La piel perivaginal se activa solo al golpeteo y a su tracción. La piel perianal en cambio responde a todas las modalidades de

## RAIZ DORSAL S1

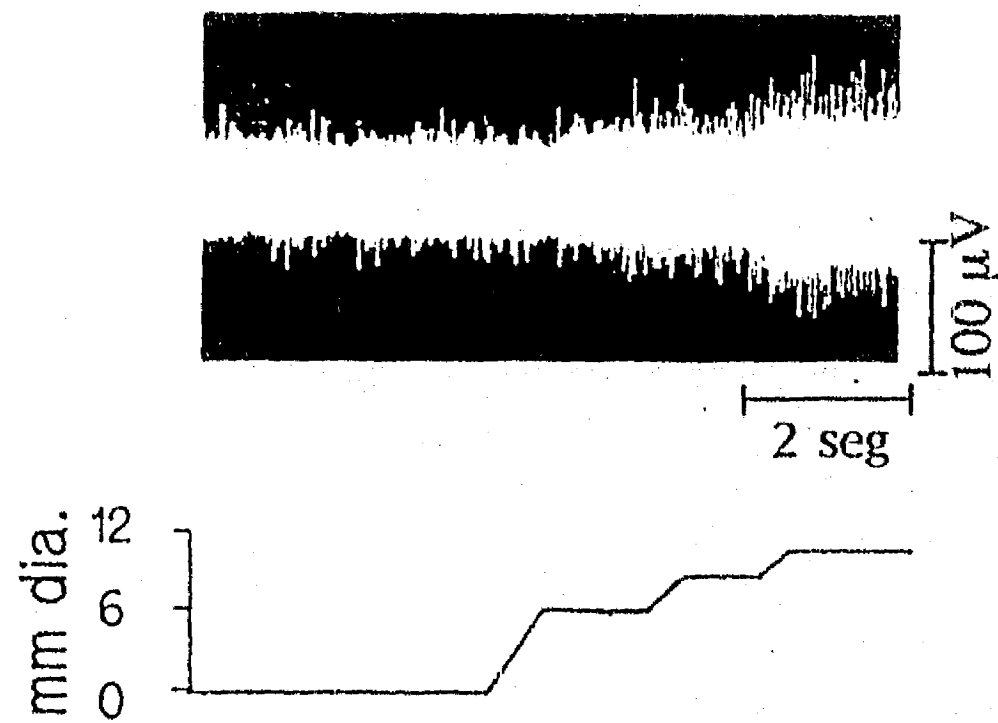


Figura 18. Registro de la raíz dorsal S1 en respuesta a la estimulación mecánica del cérvix por la distensión gradual de un globo. Nótese que el incremento de la respuesta a la estimulación cervical se correlaciona con el grado de distensión del globo que se esquematiza en el trazo inferior.



# RAIZ DORSAL S1

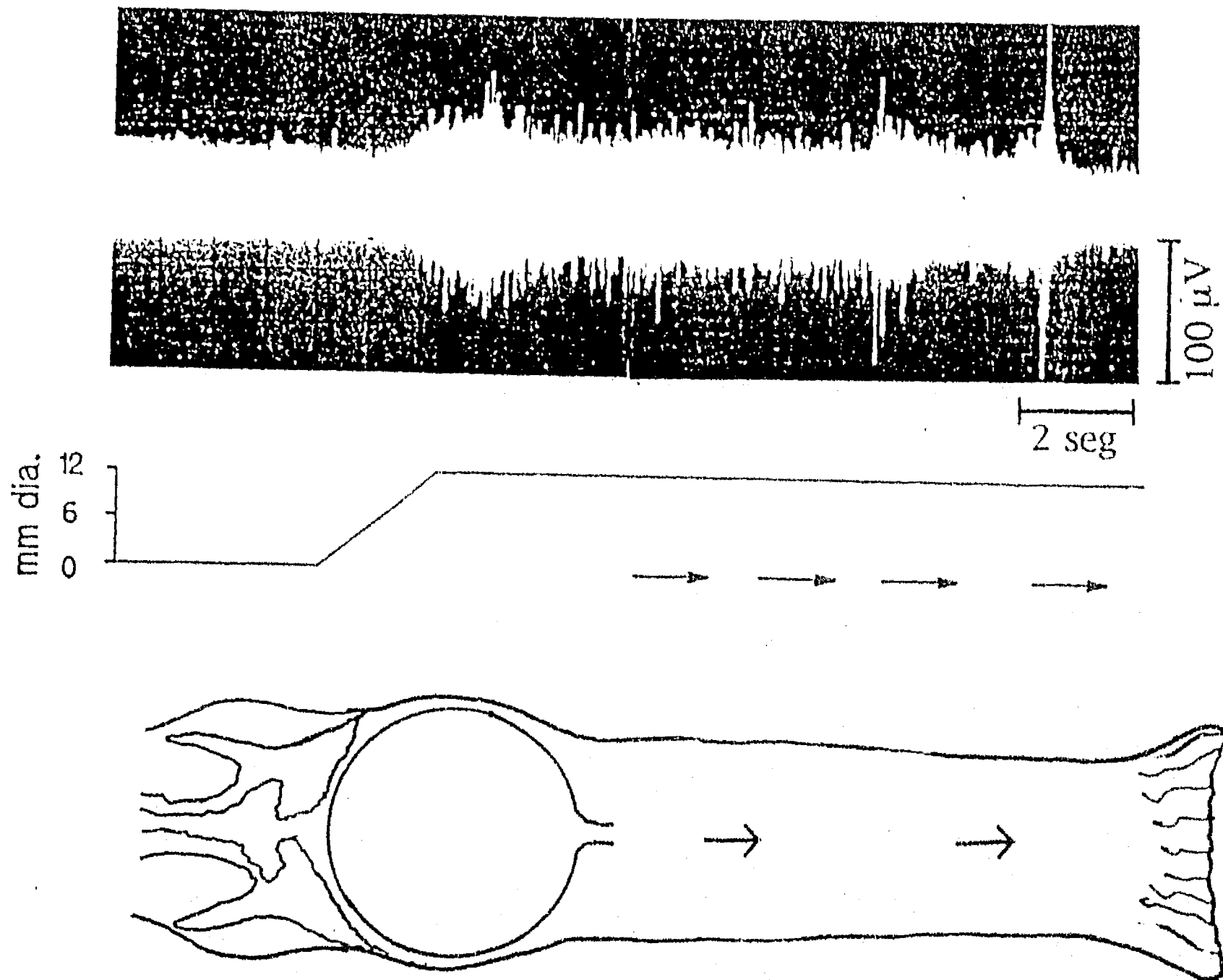


Figura 19. Registro de la raíz dorsal S1 en respuesta a la estimulación mecánica del tracto vaginal por el desplazamiento de un globo distendido. En la parte inferior de la figura se observa un esquema que señala la dirección del globo distendido durante su paso por el tracto vaginal.

estimulación utilizadas en este estudio. Sus características son similares a las obtenidas por estimulación cutánea.

En la figura 20 se muestra la actividad que se obtuvo en esta raíz al distender el globo a todo su volumen en la cercanía al orificio vaginal. El émbolo de vidrio introducido al canal vaginal produjo actividad cuando se tocó el cérvix con presión alta. Estos dos tipos de estimulación se correlacionaron con contracciones musculares de la musculatura pélvica, cola y miembros posteriores del animal.

En la tabla I se hace una recopilación de los datos obtenidos, en donde se cuantifica como positivo si hubo registro audible y/o visible a la estimulación aplicada, y como negativo si hubo ausencia de dicha actividad.

CAMPO RECEPTIVO CUTANEO																
ESTIMULOS	Inguinal				vaina clitoral				perivaginal				perianal			
	L5	L6	S1	S2	L5	L6	S1	S2	L5	L6	S1	S2	L5	L6	S1	S2
Cepillado	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+
Golpeteo	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Presión	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+
Tracción	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+
Pelos Von Frey	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+

	AREA DEL TRACTO VAGINAL											
	Orificio				Tracto				Cérvix			
	L5	L6	S1	S2	L5	L6	S1	S2	L5	L6	S1	S2
Embolo	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+
Globo	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+

Tabla I. Cuadro que señala la raíz dorsal donde se encontro (+) o no (-) actividad eléctrica producida por los diferentes tipos de estimulación mecánica a la piel (cuadro superior) o al tracto vaginocervical (cuadro inferior).

RAIZ DORSAL S2

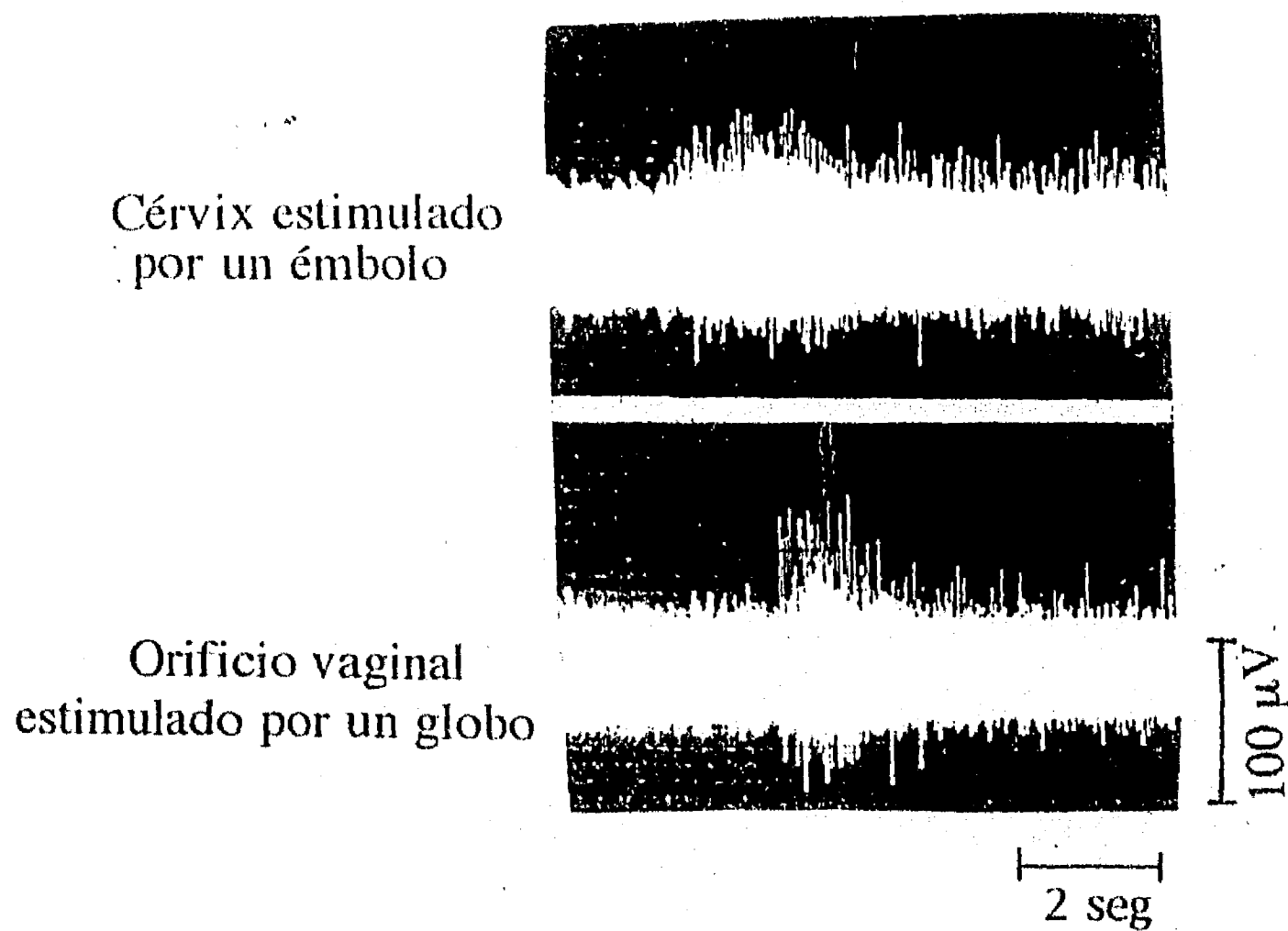


Figura 20. Efecto de la estimulación mecánica al cérvix y al orificio vaginal por la presión con un émbolo de vidrio. El registro muestra diferencias en la actividad ante la estimulación de estas estructuras.

## DISCUSION Y CONCLUSIONES

Las áreas estimuladas por el macho durante la cópula constituyen la principal fuente sensorial para los reflejos copulatorios de la rata hembra. Por ejemplo, los estímulos visual, auditivo y olfatorio no son requeridos para la lordosis (Kow y Pfaff, 1976). Más aún, anestesiar la vagina (Bertman y Westbrook, 1966) o impedir la penetración por haberla cosido (Hard y Larsson, 1968) demuestra que la estimulación vaginal no es necesaria para iniciar la lordosis. Sin embargo, la estimulación bilateral de los flancos, la grupa, la base de la cola y el periné es relevante para ello (Pfaff y col., 1977).

En ratas hembras anestesiadas con uretano, la estimulación de la vaina clitoral o de la piel perineal induce la contracción refleja de los músculos ilio- y pubococcígeo, lo cual produce movimientos de la pared de la vagina y orificio vaginal y un incremento de la presión intravaginal (Pacheco y col., 1989). La estimulación cervical induce una variedad de efectos también relacionados con la cópula (Carlson y DeFeo, 1965; Komisaruk y Larsson, 1971; Komisaruk y Diakow, 1973; Komisaruk y Wallman, 1977; Rodríguez Sierra y col., 1985; Higuchi y col., 1987; Pfaff y col., 1994).

Con los presentes resultados se esboza un mapa de las características de las fibras aferentes de las raíces dorsales relacionadas con la piel perigenital, vagina y cérvix. Proporciona información básica útil para futuros estudios electrofisiológicos.

Los campos receptivos de la vagina, periné y vaina clitoral están confinados a las raíces dorsales L6-S1. La piel inguinal estimula las raíces dorsales L5-L6. La estimulación cervical con el émbolo activa las raíces dorsales L5-S2, mientras que la presión cervical inducida por la distensión del globo evoca actividad en las raíces dorsales L6-S1. El émbolo es un poderoso estímulo que seguramente activa receptores de estructuras adyacentes al cérvix, útero, vagina, colon, vejiga y uretra; a través de movimientos también activa receptores de la base de la cola. La distensión del globo produce una estimulación más localizada, lo que explica la discreta respuesta en la raíz dorsal. La actividad de la raíz dorsal S2, que es difícil de evitar durante la estimulación vaginal o perigenital, es evocada tanto por movimiento ligero como por la estimulación cutánea de la base de la cola.

Estudios anatómicos utilizando trazadores en la rata (Berkley y col., 1988) muestran que las fibras del cérvix viajan en ambos nervios; hipogástrico y pélvico. las fibras aferentes del nervio hipogástrico entran a la

médula espinal a través de las raíces dorsales T13-L3 (Berkley, 1993b) o T11-L3 (31) y las aferentes del nervio pélvico entran a través de L5-S1 (29) o L6-S1(28). Dado que los presentes resultados fueron confinados a los segmentos espinales L5-S2, la información aquí proporcionada de la estimulación cervical sólo puede ser relacionada al nervio pélvico. Los nervios pélvico y pudendo se originan del tronco L6-S1 (Kollar, 1952; Carlson y DeFeo, 1965; Reiner y col., 1980; McKenna y Nadelhaft, 1986; ). Los estudios electrofisiológicos han mostrado que la piel perineal está inervada por los nervios pudendo (Pfaff y col., 1994; y pélvico (Peters y col., 1987; Pacheco y col., 1989;), vía la rama viscerocutánea (Pacheco y col., 1989), y que la estimulación cervical y vaginal activa aferentes del nervio pélvico (Berkley y col., 1993).

Berkley y col. (1993b) proponen la existencia de un extenso sistema de neuronas a través de la médula espinal de la rata concentrado en los segmentos toracolumbares y lumbosacros en relación a la entrada del tracto reproductivo. Este sistema contaría con un considerable procesamiento intersegmental intraespinal.

Entonces, nuestros resultados confirman que la mayoría de la actividad aferente originada en la porción caudal del sistema genital de la rata hembra viaja a la médula espinal vía las raíces dorsales L6-S1. Se demuestra así mismo que la estimulación a lo largo de todo el tracto vaginocervical produce una entrada diferencial de actividad aferente a nivel de las raíces dorsales estudiadas.

# **REFLEJOS VISCERALES Y POSTURALES PRODUCIDOS POR ESTIMULACION GENITAL EN RATAS HEMBRAS ANESTESIADAS CON URETANO\***

## **INTRODUCCION**

Mientras la musculatura pélvica indudablemente juega un papel considerable en los procesos copulatorio y de parto, hay poca información experimental referente a la participación en estos procesos y los reflejos genitales relacionados. Los músculos estriados iliococcígeo y pubococcígeo de la rata, los cuales están inervados por motoneuronas localizadas en varios núcleos de la lámina IX en la zona de transición lumbosacra de la médula espinal (Lucio y col., 1990; Schroeder, 1980), son activados reflejamente por mecanoestimulación de la vaina clitoral, perineo o vagina inferior (Pacheco y col., 1989). La mecanoestimulación cervical suave bloquea esta activación refleja (Pacheco y col., 1989). La estimulación eléctrica de la rama "motora" del nervio pélvico, la cual inerva a estos músculos, incrementa la presión vaginal (Pacheco y col., 1989). Aunque estos músculos tienen un origen e inserción esqueléticas (Brink y Pfaff., 1980; Green, 1961; Hebel y Stromberg, 1976) están también unidos a la superficie intraabdominal de la pared vaginal a través de tejido conectivo (Pacheco y col., 1989). Esta característica anatómica podría considerarse para los cambios en la presión vaginal que son producidos por la contracción de estos músculos esqueléticos.

La estimulación mecánica de la vagina superior y cérvix en ratas periparturientas, anestesiadas con uretano produce el "reflejo de expulsión del feto" por el incremento de la presión intraabdominal a través de contracción refleja de musculatura abdominal inespecífica y el diafragma (Higuchi y col., 1987). Así, parece que la estimulación cervical produce en los músculos abdominales un efecto (activador) diferente del obtenido en los músculos iliococcígeo-pubococcígeo (bloqueador de la activación refleja) (Pacheco y col., 1989). Los músculos psoas mayor e iliaco son músculos abdominales que podrían participar en los reflejos genitales.

## OBJETIVO

Analizar la naturaleza de la actividad refleja de musculatura estriada producida por estimulación genital, las vías aferentes primarias implicadas y los efectos viscerales y somáticos de su contracción.

## MATERIAL Y METODO

Se utilizaron ratas Sprague-Dawley (250-300 g), anestesiadas con uretano (1.6 g/kg en solución acuosa al 20% por peso i.p). El estudio utilizó 20 hembras vírgenes intactas. Durante los experimentos, dosis adicionales de uretano fueron administradas, como se fue necesitando y al final del experimento los animales fueron eutanizados con una sobredosis de uretano.i.v. Los animales fueron mantenidos en posición supina en la duración del experimento. Después de una incisión en la pared abdominal ventral, en la línea media, las vísceras fueron cuidadosamente desplazadas de los músculos iliococcígeo-pubococcígeo y psoas mayor-iliaco. Todas las vísceras y tejido expuesto fueron mantenidos húmedos con solución salina tibia. Pares de alambres de acero inoxidable (0.1 mm de diámetro) fueron insertados dentro de los músculos y preparados para registros electromiográficos gruesos (EMG) o estimulación eléctrica. Las señales EMG fueron amplificadas por un preamplificador AC de banda amplia GRASS 7P3 y proyectado sobre un osciloscopio de rayos catódicos TEKTRONIK 564 y fotografiados. Dado que el EMG estuvo compuesto de potenciales de diferente amplitud (ver Fig. 21), nuestros análisis estuvieron basados sólo en la presencia o ausencia de actividad. Los músculos fueron estimulados eléctricamente con pulsos cuadrados de 0.1 ms de 0.5-100Hz e intensidades variables (superiores de 30V) que fueron moduladas por la respuesta de contracción. Los pulsos fueron dados a través de una unidad de aislamiento GRASS SIU-1 activada por un estimulador GRASS S48. Se tomó cuidado de evitar el desplazamiento de los electrodos.

Se realizaron disecciones en tres ratas para corroborar el origen, curso e inserción de los músculos iliococcígeo-pubococcígeo y psoas mayor (Brink y Pfaff, 1980; Greene, 1961; Hebel y Stromberg, 1976). Un análisis microscópico detallado de la uretra membranosa y tejido circundante fue realizado en dos ratas usando un microscopio de disección Zeiss. Fue corroborado que los músculos ileococcígeo-pubococcígeo tienen su origen en

el hueso inominado de la pelvis y su inserción en las vértebras caudales Ca<sub>1</sub>-Ca<sub>6</sub> (ver Fig. 28). Cerca de la superficie ventromedial del hueso púbico, fibras de ambos músculos se extienden fuera de la cavidad pélvica para insertarse lo largo de las diapófisis de la cola proximal a través de inserciones carnosas o por medio de pequeñas fibras de fascia (Brink y Pfaff, 1980). También se observó que antes y cerca de su inserción caudal, los dos músculos están rodeados por abundante tejido conectivo que está unido a la superficie peritoneal de la pared vaginal. Las fibras que comprenden el borde medial de los músculos pc están también unidos a través de tejido conectivo a la superficie peritoneal de la uretra membranosa.

Los músculos psoas mayor-ilíaco son dos de los cuatro músculos estriados que forman la pared abdominal dorsal. En acuerdo con observaciones previas (Greene, 1961; Hebel y Stromberg, 1976) el origen del músculo psoas mayor está sobre los cuerpos y superficie ventral de las apófisis transversas de las vértebras L2-L6. El origen del músculo ilíaco está sobre las apófisis transversas de la vértebras L5-L6 y parte de la superficie vertebral del ilion. La inserción de estos músculos está sobre el troncánter menor del fémur a través de un tendón largo (ver fig. 28)

## RESULTADOS

### Efectos viscerales y somáticos de la estimulación eléctrica de los músculos

La estimulación eléctrica directa de los músculos iliococcígeo o pubococcígeo produjeron movimiento ipsilateral del orificio y pared de la vagina. Contracciones de estos músculos movieron la cola a la línea media cuando ésta fue colocada contralateral al lado estimulado. No se produjo movimiento de la cola por estimulación eléctrica de los músculos iliococcígeo o pubococcígeo cuando la posición inicial de la cola estuvo en la línea media. La estimulación eléctrica de los músculos iliococcígeo o pubococcígeo produjeron embites pélvicos siguiendo a la frecuencia de estimulación. El vigor de los movimientos pélvicos incrementó en relación directa a la frecuencia de los pulsos. La estimulación de los músculos pubococcígeo también produjeron movimiento de la uretra membranosa.

La estimulación eléctrica unilateral de los músculos psoas mayor o ilíaco produjeron movimiento de las vértebras lumbares y extensión del miembro posterior ipsilateral. Este efecto fue más fácilmente observado cuando la pelvis estuvo sostenida en una posición fija. En todas las observaciones anteriores, las ratas estuvieron en posición supina.



La mecanoestimulación de la piel perineal, vaina clitoral o vagina inferior produjo actividad EMG refleja en los músculos iliococcígeo y pubococcígeo. Se presentaron postdescargas (ej. la actividad EMG que persiste después del cese de la estimulación sensorial) en respuesta la estimulación del perine o vaina clitoral, pero no de la vagina distal (Fig. 21) y estuvo relacionada a la duración del estímulo (Fig. 22).

Mientras el estímulo anterior no tuvo efecto observable sobre la EMG de los músculos psoas mayor e iliaco cuando el émbolo intravaginal tocó el cérvix, estos músculos llegaron a ser fuertemente activados (Fig. 23). Este estímulo no induce postdescargas. Sin embargo, cuando la estimulación cervical fue repetida varias veces en serie (estimulación "on" 2 seg, "off" 2 seg) una descarga post-estimulación fue inducida en los músculos psoas mayor e iliaco (Fig. 24). En ninguno de estos cuatro músculos en el cual el EMG fue registrado, se observó alguna actividad EMG "espontánea"

#### Nervios que median los reflejos de los músculos iliococcígeo-pubococcígeo y psoas mayor-iliaco

Para conocer el papel de la inervación de los genitales externos (Kow y Pfaff, 1973, 1975; Kow y col., 1980) en la contracción refleja de los músculos iliococcígeo-pubococcígeo y psoas mayor-iliaco, se realizaron secciones bilaterales de las ramas viscerocutánea del nervio pélvico (Brink y Pfaff, 1980; Pacheco y col., 1989), pudendo o genitofemoral (Fig. 25).

La Fig. 26, la cual es representativa de tres animales, muestra que la estimulación cervical activó al músculo iliaco y bloqueó la activación del músculo pubococcígeo que fue producido por la estimulación clitoral. La sección bilateral combinada de los nervios pudendo y genitofemoral eliminó la activación del músculo pubococcígeo que fue producida por estimulación clitoral, pero no afecta la activación del músculo iliaco producida por estimulación cervical. Estos efectos estuvieron limitados al tiempo de la aplicación del estímulo. La sección bilateral de uno u otro nervio, pudendo o genitofemoral (pero no ambos) no bloquea la activación del músculo pubococcígeo que fue producida por estimulación clitoral (no mostrado).

Como se muestra en la Fig. 27, la sección bilateral de la rama viscerocutánea del nervio pélvico eliminó la respuesta del músculo iliaco que fue producida por estimulación cervical, mientras la neurectomía unilateral

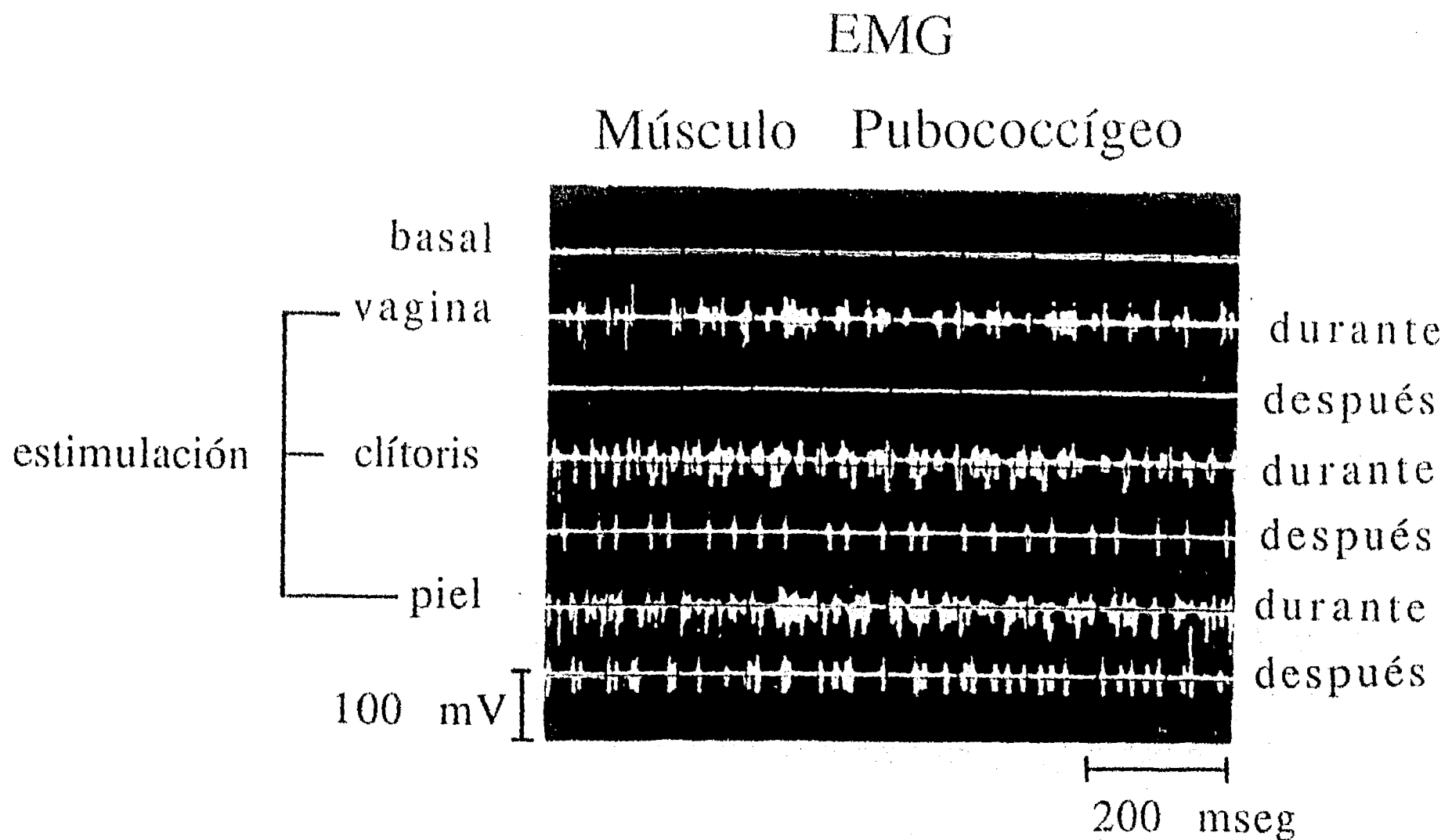


Figura 21. Electromiograma (EMG) del músculo pubococcígeo (pc) durante la estimulación genital. No hubo actividad EMG espontánea en el músculo pubococcígeo. Un segundo de estimulación con el émbolo a la vagina distal, produjo actividad EMG que cesó inmediatamente después de que el émbolo fue retirado (en todos los casos el trazo "durante" fue continuo con el trazo "después"). Un segundo de tracción aplicado a la vaina clitoral o a la piel perineal produjo una respuesta EMG que persistió después del cese de la estimulación (esto es, postdescarga).

## EMG Músculo Pubococcígeo

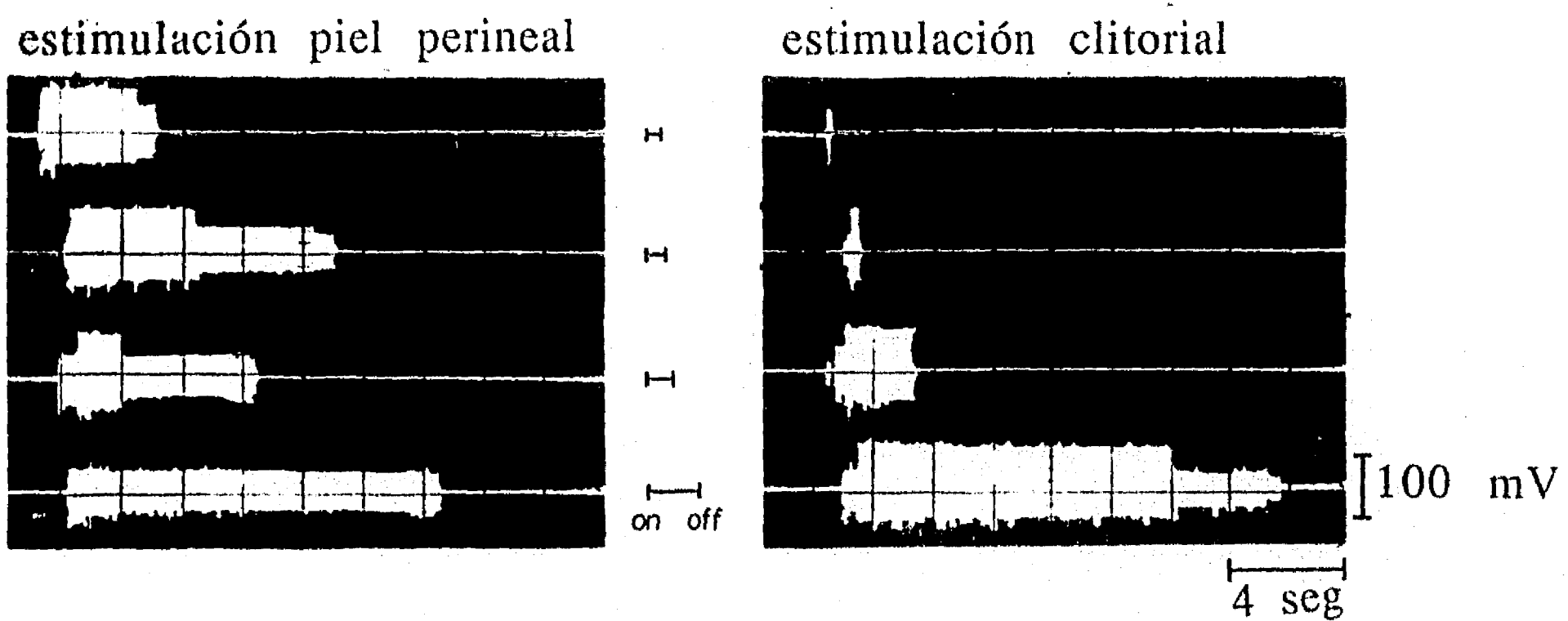


Figura 22. La tracción aplicada a la piel perineal o vaina clitoral produjo actividad EMG del músculo pubococcígeo que persistió como una postdescarga post-estimulación. La duración de la postdescarga estuvo relacionada positivamente a la duración de la estimulación. La duración del estímulo está indicada por las barras abajo de los registros.

## EMG Músculo Ilíaco

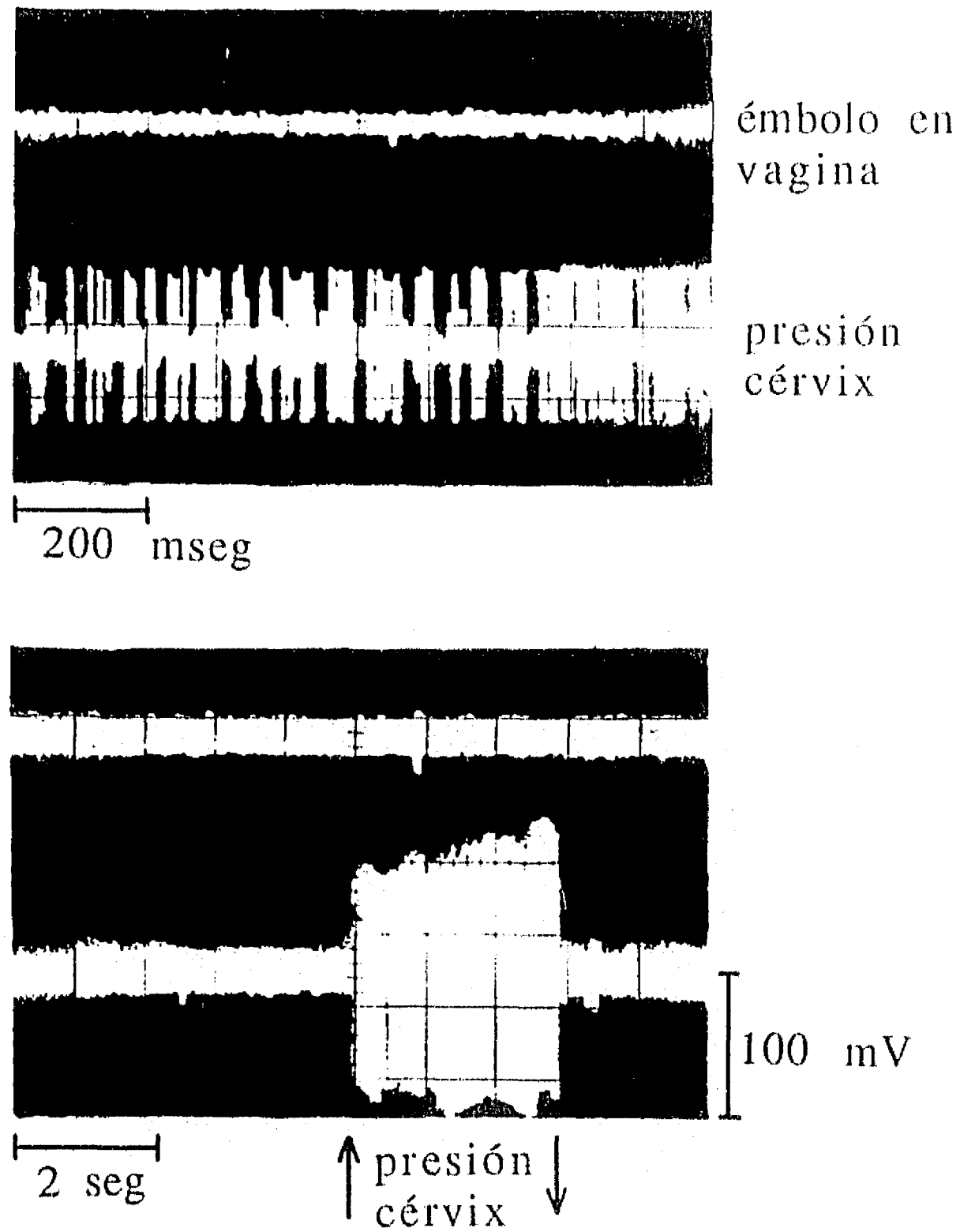


Figura 23. EMG del músculo ilíaco durante la estimulación vaginal y cervical. Aunque la estimulación mecánica con el émbolo a la vagina distal no afecta la actividad EMG del músculo iliococcígeo, una respuesta EMG fue observada cuando el émbolo tocó el cérvix. Registro superior e inferior de cada panel: antes y durante el toque cervical, respectivamente. En el registro inferior, note la ausencia de postdescarga.

## Músculo Psoas Mayor

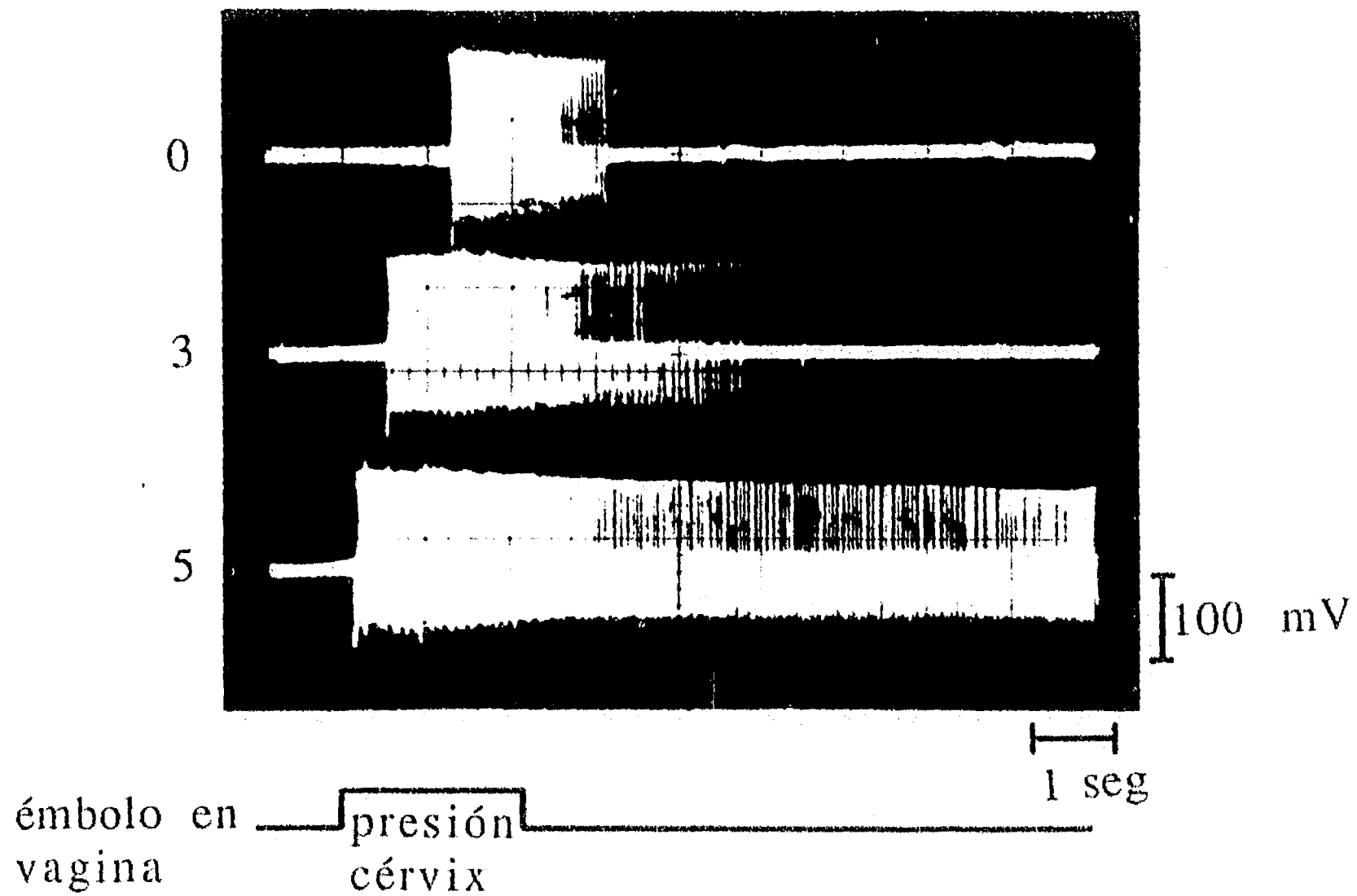


Figura 24. La estimulación cervical con el émbolo produjo una activación EMG fuerte del músculo psoas mayor. La primera estimulación cervical (en 0) produjo actividad EMG del músculo psoas mayor sin una postdescarga. Cuando la estimulación cervical fue repetida varias veces en sucesión (estimulación "on" 2 seg, "off" 2 seg), se observó una descarga post-estimulación. La duración de la postdescarga estuvo positivamente relacionada al número de veces (3 ó 5) que el cérvix fue estimulado.

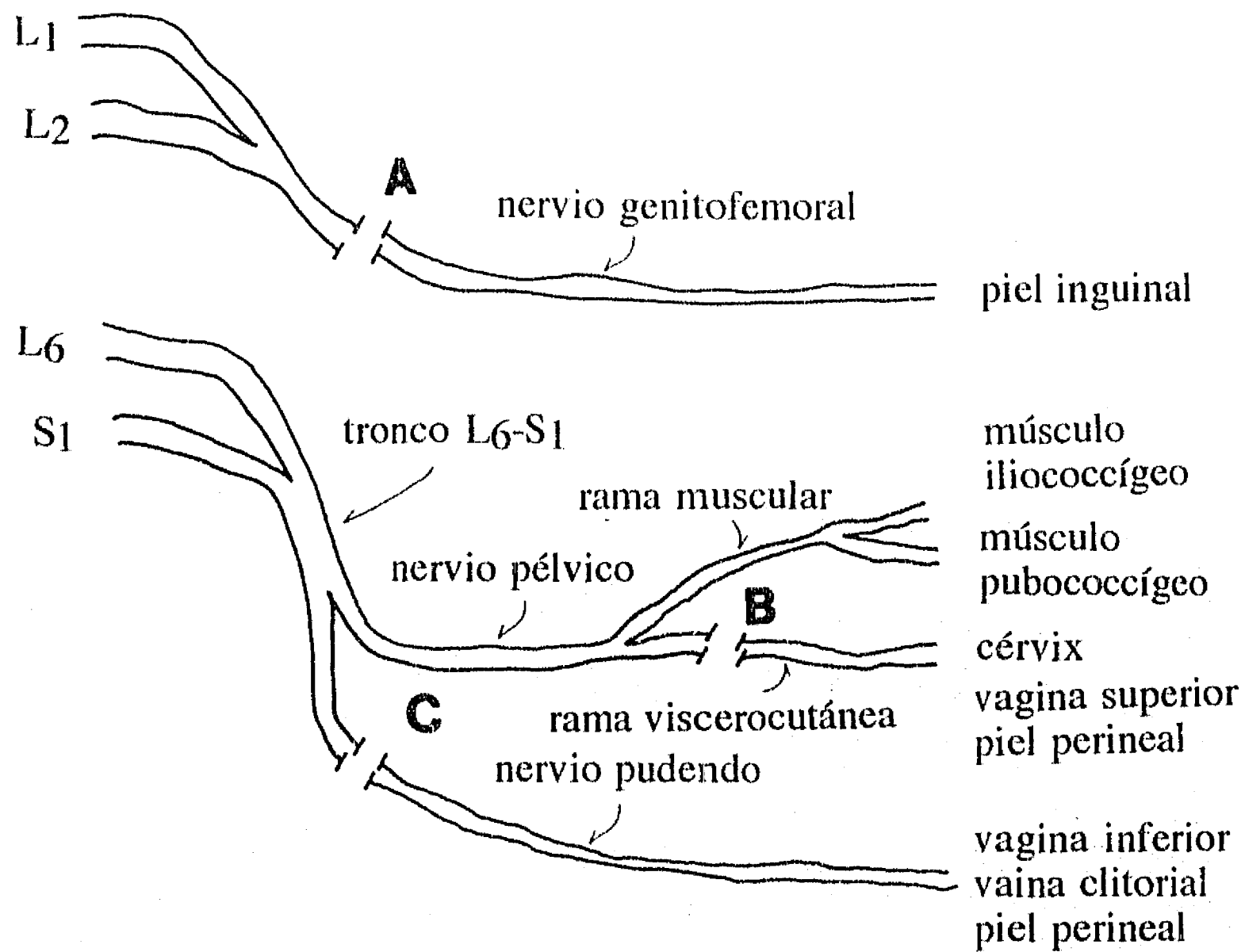
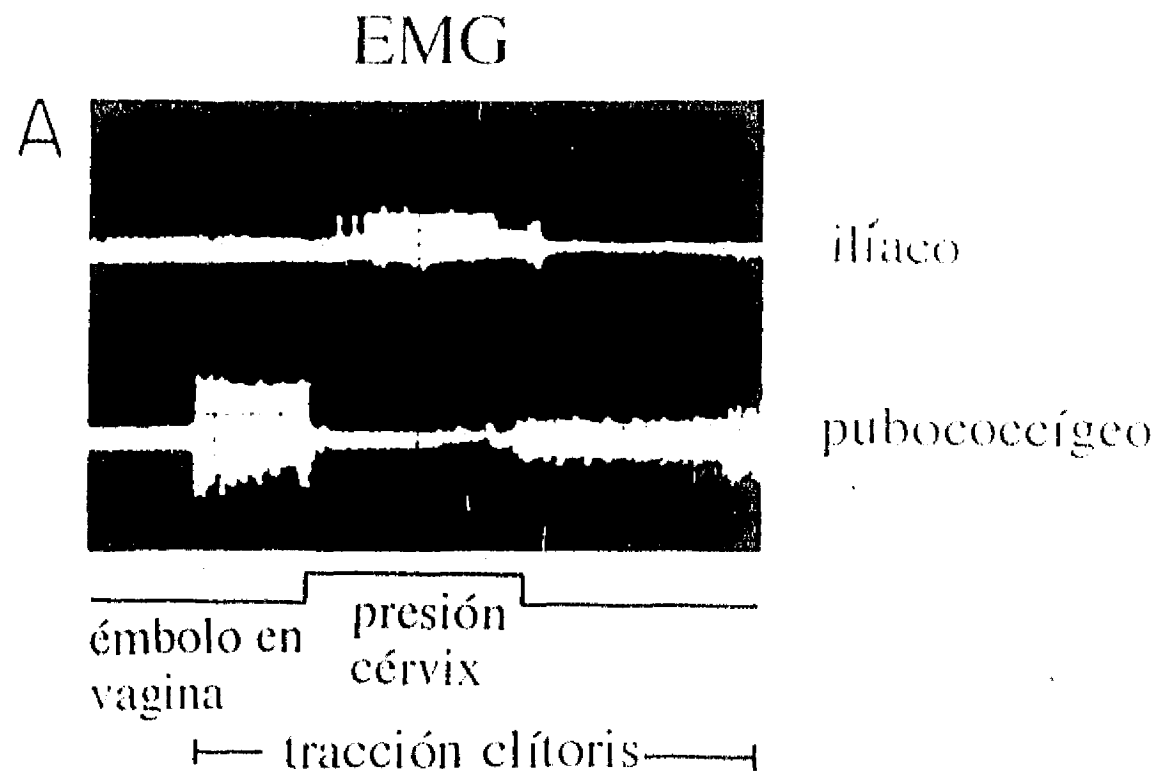


Figura 25. Diagrama esquemático de los nervios y ramas que fueron seccionados en el presente estudio. A: el nervio genitofemoral fue seccionado caudal a la bifurcación aortal. B: la rama viscerocutánea del nervio pélvico fue seccionada a nivel del lado medial de la vena ilíaca interna. C: el nervio pudendo fue seccionado 5 mm caudal a la bifurcación del tronco L6-S1. La relación aferente de los 3 nervios son listadas.



Después de sección bilateral de los nervios pudendo + genitofemoral

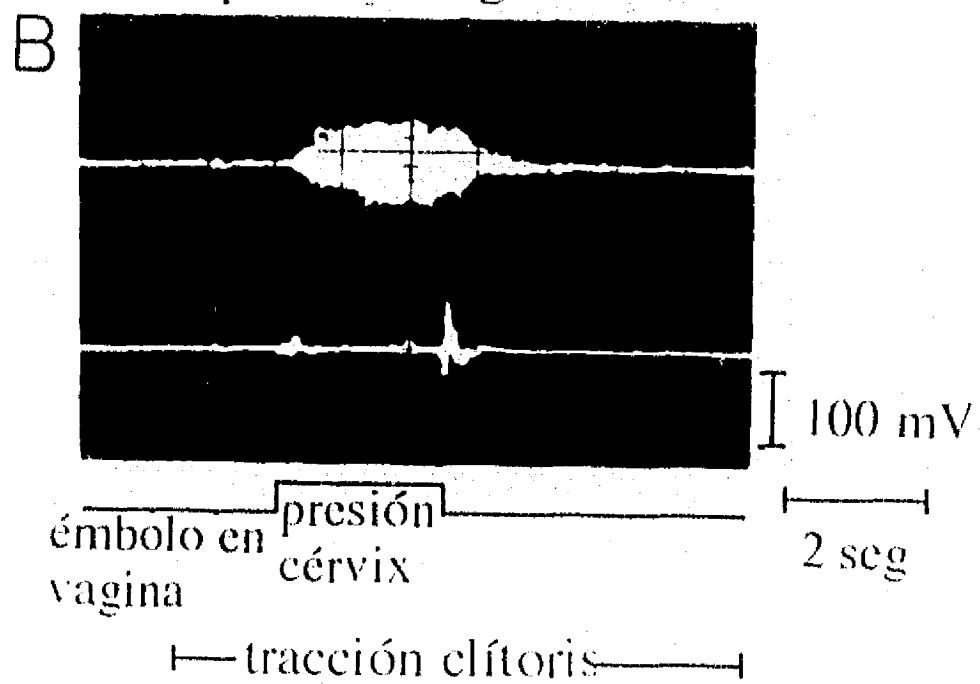


Figura 26. La sección bilateral de los nervios pudendo y genitofemoral bloqueó diferencialmente la contracción refleja del músculo pubococcygeo inducida por estimulación clitoral pero no bloqueó la contracción del músculo ilíaco inducida por estimulación cervical.

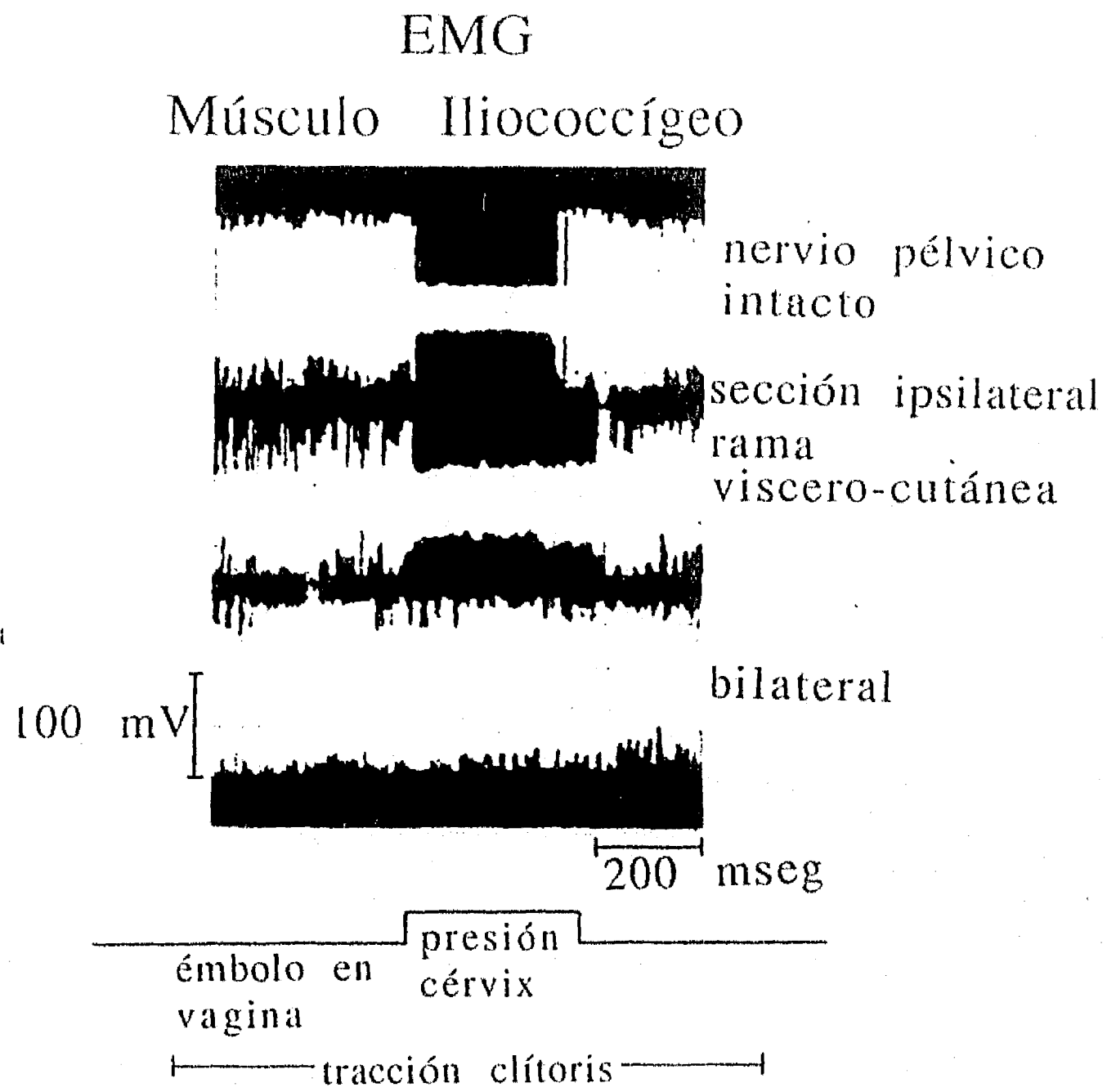


Figura 27. La sección bilateral de la rama viscerocutánea del nervio pélvico abolió completamente el efecto inhibitorio de la estimulación cervical sobre la contracción del músculo iliococcígeo inducido por tracción clitoral. La sección unilateral ejerció solamente un efecto parcial.



solo produjo un efecto parcial. La sección bilateral tambien eliminó el efecto bloqueador de la estimulación cervical sobre las respuestas de los músculos iliococcígeo y pubococcígeo. Estos efectos fueron observados en cada uno de los cuatro animales.

## DISCUSION Y CONCLUSIONES

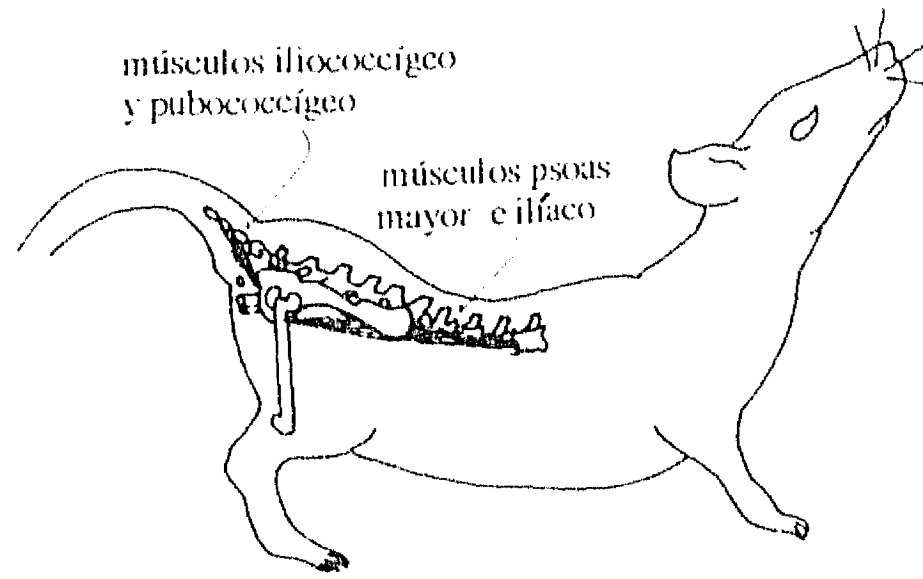
La figura 28 resume las posibles vías reflejas involucradas en el presente estudio y esquematiza el origen e inserción de los cuatro músculos estudiados.

El presente hallazgo demuestra diferencias entre el EMG de músculos del piso pélvico (inhibición) y el miembro posterior (activación) en respuesta al mismo estímulo cervical. Hemos mostrado que la estimulación cervical, la cual también produce contracción de otros músculos abdominales y del diafragma (Higuchi y col., 1986, 1987), produce contracciones reflejas de los músculos psoas mayor e iliaco "posturales" pero elimina las contracciones reflejas de los músculos iliococcígeo y pubococcígeo producidas por estimulación perineal.

Por lo tanto, la estimulación cervical probablemente produce efectos excitatorios sobre motoneuronas que inervan a los músculos psoas mayor, iliaco y otros músculos abdominales y del diafragma e inhibe aquellas motoneuronas involucradas en la activación refleja de los músculos iliococcígeo y pubococcígeo.

Estimulación cervico-vaginal repetida produjo sensibilización de las posdescargas reflejas de los músculos psoas mayor e iliaco (Fig. 24). Este efecto concuerda con el estudio de Berkley y col. (Berkley y col, 1990) que claramente muestra la sensibilización de aferentes del nervio pélvico con aplicaciones repetidas de presión cervical.

Los presentes hallazgos sugieren que las respuestas reflejas de los músculos psoas mayor e iliaco a la estimulación cervical están involucradas en la postura de lordosis de la hembra. La estimulación cervical produce extensión de la pata trasera e inmovilidad (Komisaruk y col., 1971, 1973). Nuestros resultados indican que la extensión de la pata trasera es debida en parte a la contracción refleja de los músculos psoas mayor e iliaco inducidas por estimulación cervical. Por lo tanto, parece probable que la prolongación y exageración de la respuesta de la postura lordótica (Pfaff y col., 1977; 1988; Rodriguez Sierra y col., 1975) observada en las ratas



### RESUMEN DE LAS VIAS REFLEJAS

CAMPO SENSORIAL	NERVIO AFERENTE	EFFECTOR (MUSCULO)	RESPUESTA MOTORA
cérvix	pélvico	psoas mayor ilíaco	-dorsiflexión lordótica -extensión de la pata trasera -movimientos de "pujar hacia abajo"
cérvix	pélvico	iliococígeo pubococígeo	inhibición del "cuello de botella"
- vagina inferior - piel perineal - vaina clitoral	pudendo genitofemoral*	iliococígeo pubococígeo	-movimiento de la cola -movimiento pélvico -movimiento vaginal -movimiento uretral

\* La tracción de la vaina clitoral puede activar aferentes del nervio genitofemoral a través de movimiento indirecto de la piel del abdomen caudal.

Figura 28. Resumen de las vías reflejas y representación de la relación de los cuatro músculos estudiados.

hembras siguiendo a las intromisiones y eyaculaciones (Diakow, 1970, 1975; Komisaruk y col, 1973) o deposición del tapón seminal (Matthews y Adler, 1977, 1978; Wallach y Hart, 1983), está mediada en parte a través de respuestas de los músculos psoas mayor-iliaco a la estimulación cervical. Estos efectos también podrían facilitar la retirada del pene de la vagina después de la eyaculación, ayudando a evitar la salida del tapón copulatorio (Blandau, 1945; Matthews y Adler, 1978; Wallach y Hart, 1983). La sección del nervio pélvico, el cual a través de la inervación cervical está involucrado en la respuesta del psoas mayor e iliaco, también acortan la duración de la lordosis e inmovilidad (Diakow, 1970).

Se ha sugerido que en ratas periparturientas, la distensión vaginal producida por el feto facilita el nacimiento por el incremento de la presión intraabdominal a través de la contracción de los músculos abdominales y del diafragma (Higuchi, 1987). Es posible que la respuesta del psoas mayor e iliaco esté también involucrada en el proceso de parto. Estos músculos, cuyo origen está sobre los cuerpos y apófisis transversas de las vértebras L2-L6 (ver Fig. 28), participan en los movimientos "hacia abajo" observados durante la expulsión producida por la rigidez de la extensión de la pierna posterior y jalando hacia abajo las vértebras lumbares. Los hallazgos que la neurectomía bilateral del nervio pélvico, pero no la unilateral, prolonga el proceso de parto (Higuchi y col., 1986, 1987) y que un procedimiento quirúrgico similar bloquea las contracciones reflejas del psoas mayor e iliaco inducidas por la estimulación cervical (presente estudio), apoya la idea que los músculos psoas mayor e iliaco normalmente participan en el parto.

La neurectomía bilateral de la rama viscerocutánea del nervio pélvico elimina el efecto bloqueador de la estimulación cervical sobre las contracciones reflejas de los músculos iliococcígeo-pubococcígeo. Las contracciones de estos músculos pueden evitar el paso del feto a través del canal de nacimiento dado que su contracción incrementa la presión intravaginal (Pacheco y col., 1989), creando así un "cuello de botella". El efecto "cuello de botella" puede ser evitado por la inhibición ejercida sobre estos músculos por la cabeza del feto estimulando el cérvix. Este efecto inhibitorio normal dilataría el canal vaginal. Es probable que la sección del nervio pélvico también impida el parto, porque evita que se presente este efecto inhibitorio inducido por estimulación cervical sobre los músculos iliococcígeo y pubococcígeo (ver siguiente capítulo).

La envoltura de tejido conectivo en ambos músculos iliococcígeo-pubococcígeo y la superficie peritoneal de la pared vaginal

provee un arreglo estructural que podría contar en el incremento de la presión intravaginal que se presenta durante la contracción de los músculos iliococcígeo-pubococcígeo (Pacheco y col., 1989). En este estudio, el tejido conectivo del músculo pubococcígeo fue también observado que se proyecta en la superficie peritoneal de la uretra membranosa. Recientemente fue mostrado en ratas hembras que la estimulación mecánica rítmica suave de la uretra produce el "reflejo del coito" el cual consiste de ráfagas rítmicas de actividad en la rama motora del nervio pudendo y el nervio cavernoso y movimientos rítmicos de la vagina, dirigiendo al incremento en la presión vaginal (Chung, 1988). Es posible que la tracción de la vaina clitoral podría estimular también al bulbo uretral, produciendo contracción refleja muscular iliococcígeo-pubococcígeo. Se especula que como una consecuencia de la unión de tejido conectivo entre estos músculos esqueléticos y la vagina y uretra, receptores sensoriales en estos músculos y/o tejido conectivo puedan ser estimulados indirectamente por la distensión vaginal y/o uretral o alternativamente, las contracciones de estos músculos puedan ejercer tracción sobre el bulbo uretral. Actividad aferente consecuente, y/o contracción refleja, de estos músculos esqueléticos podrían contribuir en los reflejos copulatorio y/o de micción.

\* Trabajo publicado en *Physiol. Behav.*, 1992.

# **PARTICIPACION DIFERENCIAL DE LAS RAMAS DEL NERVIO PELVICO EN EL PROCESO DE PARTO DE LA RATA**

## **INTRODUCCION**

El parto es el proceso fisiológico por el cual el útero gestante expulsa feto (s) y placenta (s), finalizando la gestación (Haféz, 1987). Diversos estudios en rata, oveja y humano (Liggins y col., 1977; Milewich y col., 1977; Fuchs y col., 1983; Higuchi y col., 1986) han mostrado que se trata de un proceso complejo con la participación de hormonas maternas y fetales, además de numerosos factores físicos, mecánicos y neurales. En algunas especies como la oveja, la hora de inicio de parto está determinada por el feto a través de la activación del eje hipófisis-adrenal (Liggins, 1969).

El inicio de parto se reconoce en la madre por la presencia de contracciones uterinas periódicas, las cuales favorecen la dilatación cervical que a su vez induce el reflejo de Ferguson (1941). En rata, al inicio las contracciones son de baja amplitud y tienen intervalos de larga duración; de 1 a 5 hrs antes de la expulsión de la primer cría, las contracciones se hacen más intensas y frecuentes (Nagasawa y Yanai, 1972) y se presenta el sangrado vaginal. Posteriormente se presenta la expulsión de la primer cría, misma que es favorecida por la liberación de la oxitocina, que en este momento incrementa en el plasma, así como por los reflejos musculares (Burden y col., 1982). Normalmente, la hembra ayuda a la salida de la cría jalándola con el hocico. Una vez que nace, la hembra engulle la membrana que la envolvía. Lo mismo hace con la placenta expulsada poco después de la salida de la cría (Fleming, 1986).

Con respecto a la regulación endocrina, se ha observado en rata que dos días antes del parto se produce una caída en la concentración plasmática de progesterona y se incrementa la concentración de prolactina, prostaglandinas y estrógenos, importantes éstos últimos en la producción de receptores a oxitocina (Higuchi, 1995); sólo después de la expulsión de la primer cría se observa incremento en la concentración plasmática de oxitocina (Alexandrova y Soloff, 1980, Higuchi y col., 1985).

La progesterona induce la relajación del miometrio y su disminución permite que actúen los estrógenos y la oxitocina que inducen las contracciones uterinas. Las prostaglandinas degradan el cuerpo lúteo y también provocan actividad uterina (Flint y Heape, 1984). Con estos cambios

endocrinos se presentan otros de igual importancia que han sido estudiados principalmente en oveja y que incluyen la actividad del eje fetal adreno-hipofisiario así como el incremento en la secreción de corticosteroides fetales y de relaxina, la cual ayuda a la relajación de la sínfisis púbica (Porter, 1981).

De estas hormonas, se ha considerado que el principal factor en el inicio de las contracciones uterinas es la oxitocina (Caldeyro-Barcia y Sereno, 1961), y que su secreción es inducida por reflejos originados por la distensión del canal de nacimiento, lo que se ha llamado "reflejo de Ferguson" (Ferguson, 1941). Sin embargo, a pesar de su importancia, en la rata y en la mayoría de las especies estudiadas, no se observa incremento de esta hormona antes de la expulsión de la primera cría (Leake y col., 1981; Higuchi y col., 1985).

Si bien se han estudiado mucho las conductas asociadas al trabajo de parto y sus mecanismos endocrinos (ver revisiones Nagasawa y Yanai, 1972; Liggins y Thornburn, 1994; Thornburn y Liggins, 1994), los mecanismos neurales y musculares que la subyacen no han sido completamente entendidos. De hecho, muy pocos han puesto atención a la regulación de la musculatura estriada. Con respecto a la inervación de las regiones involucradas se ha mencionado que en el canal de nacimiento está dada en rata hembra por los nervios hipogástrico y pélvico; el primero inerva al útero y al cérvix y el segundo al cérvix y a la vagina (Nance y col., 1988; Berkley, 1988, 1990). Así, se ha estudiado más la participación del nervio pélvico en el parto como parte de los reflejos neuroendócrinos.

Kollar (1952) mostró en rata que la sección bilateral del nervio pélvico volvía la mucosa intravaginal analgésica y anestésica, y además, que destruía su capacidad para embarazarse, a menos que progesterona exógena fuera administrada. Sugirió que la falla se debía a la falta de activación y mantenimiento de un cuerpo lúteo funcional.

Cross (1958) mostró que el parto podía llevarse a cabo aún en coneja anestesiada, si se le administraba oxitocina. Sin embargo, enfatizó la importancia de las contracciones abdominales para un parto normal.

Más adelante, Carlson y DeFeo (1965) corroboraron los estudios de Kollar y administraron reserpina, estimulador de la secreción de prolactina, con lo que hicieron que el embarazo en rata llegara a su término, sin embargo, el parto no se realizó.

Spies y Nieswender (1971) en ratas neurectomizadas del pélvico, encontraron que los niveles séricos de prolactina a las 8-24 hrs postcoito disminuían comparados con los de las intactas. Postularon al nervio

pélvico como un componente neural periférico necesario para el inicio de la función lútea. Activaron entonces el cuerpo lúteo con prolactina exógena y se mantuvo la gestación (Spies y col., 1971), aunque el parto no se presentó.

En ese mismo año, Peeters y Houvenaghel (1971) sugirieron que durante el parto, la vía aferente a través de la cual el estímulo fetal era transferido a la médula espinal eran los nervios pélvicos: con la sección de estos nervios eliminaban la expulsión de leche provocada por la distensión de un globo situado en la vagina de cabras lactantes. Observaron también una marcada reducción de los movimientos de estiramiento de la cabra durante el parto normalmente inducidos por la estimulación vaginal.

Más adelante, tratando de esclarecer el papel funcional del nervio pélvico en el parto, Burden y col. (1980) mostraron en rata que la neurectomía unilateral del pélvico no tiene efecto sobre el proceso del parto, y sugirieron que el nervio pélvico controla el proceso del parto por un efecto sistémico de todo o nada. Posteriormente se midió en ratas neurectomizadas del pélvico los niveles séricos de oxitocina al momento del parto y no se encontraron alterados aún cuando la neurectomía bloqueaba el parto (Burden y col., 1982). Con ello se mostró que la alteración no se debía a la falta del reflejo de Ferguson. En apoyo a esto, Higuchi y col. (1986) administraron oxitocina a ratas neurectomizadas bilateralmente del pélvico y tampoco lograron que el parto se llevara a cabo.

Además de los efectos hormonales que puedan contribuir para hacer eficiente el parto, son necesarios movimientos musculares abdominales disparados reflejamente por la distensión vaginocervical. Este hecho es ampliamente conocido en mujeres. En conejas, Cross (1958) enfatizó la importancia de las contracciones de músculos abdominales para un parto normal, ya que la supresión de éstos alargó el tiempo de expulsión de los gazapos.

Higuchi y su grupo (1987) mostraron en rata que ciertos músculos abdominales no especificados se contraían durante el parto por la estimulación vaginocervical dada por el feto y cuya información viajaba por el nervio pélvico. En ratas periparturientas anestesiadas con uretano, la distensión vaginal producía contracciones de músculos abdominales y del diafragma, y éstas llevaban a un aumento en la presión intraabdominal. Le llamaron a esta contracción muscular refleja el "reflejo de expulsión del feto", y sugirieron que se relaciona con los movimientos de pujar durante el parto. Compararon este reflejo en ratas embarazadas normales y en ratas embarazadas con sección de los nervios pélvico. En estas últimas se observó

una prolongación del parto y una marcada distocia que propusieron se debía a la falta del reflejo de expulsión del feto. Así, Higuchi indica que el reflejo de expulsión del feto es normalmente inducido por el feto al distender al cérvix o de la pared vaginal, y que puede ser observado como movimientos de pujo; sugiere que este reflejo es en rata, probablemente, el principal factor que supera la resistencia de la salida pélvica para expeler el feto de la cavidad vaginal superior.

En los estudios en rata de Kollar (1952), Carlson y DeFeo (1965) así como de Spies y col. (1971) se consideró al nervio pélvico como exclusivamente parasimpático (Purinton y col., 1973) e incluso Carlson y DeFeo (1965) explicaron su actividad como opuesta a la del simpático. En 1982, Hulsebosch y Cogeshall describieron en rata macho que el nervio pélvico contenía tantas fibras simpáticas como parasimpáticas.

Más recientemente en nuestro laboratorio, describimos que el nervio pélvico está conformado por dos ramas: la viscerocutánea, que llega al ganglio pélvico e inerva piel perineal y vísceras pélvicas, y la somatomotora, que inerva a los músculos iliococcígeo y pubococcígeo. Mostramos que la estimulación mecánica del clítoris, piel perigenital y orificio vaginal, activa fibras sensoriales del nervio pudendo y provoca la contracción refleja de los músculos iliococcígeo y pubococcígeo (Pacheco y col., 1989). Posteriormente, como describí en el capítulo anterior de esta tesis, mostramos que la estimulación vaginocervical activa fibras de la rama viscerocutánea del nervio pélvico desencadenando por un lado, la contracción de los músculos abdominales psoas mayor e ilíaco, y por otro, bloqueando la actividad EMG refleja de los músculos iliococcígeo y pubococcígeo producida por la estimulación perigenital. La estimulación eléctrica directa del iliococcígeo y pubococcígeo produce movimientos del orificio y pared vaginal, así como aumento de la presión intravaginal. La estimulación eléctrica del psoas mayor provoca la extensión de la pierna y facilita la dorsiflexión de la región lumbosacra de la columna vertebral. Nosotros sugerimos así que todos estos reflejos podrían participar en la cópula y el parto.

Como se puede apreciar en la Fig. 29, dos son las vías reflejas con las cuales el nervio pélvico podría participar en el desarrollo del parto.

La estimulación mecánica del clítoris, piel perineal y orificio vaginal activa fibras sensoriales que viajan por el nervio pudendo a la médula espinal; ahí activan a motoneuronas cuyos axones viajan por la rama



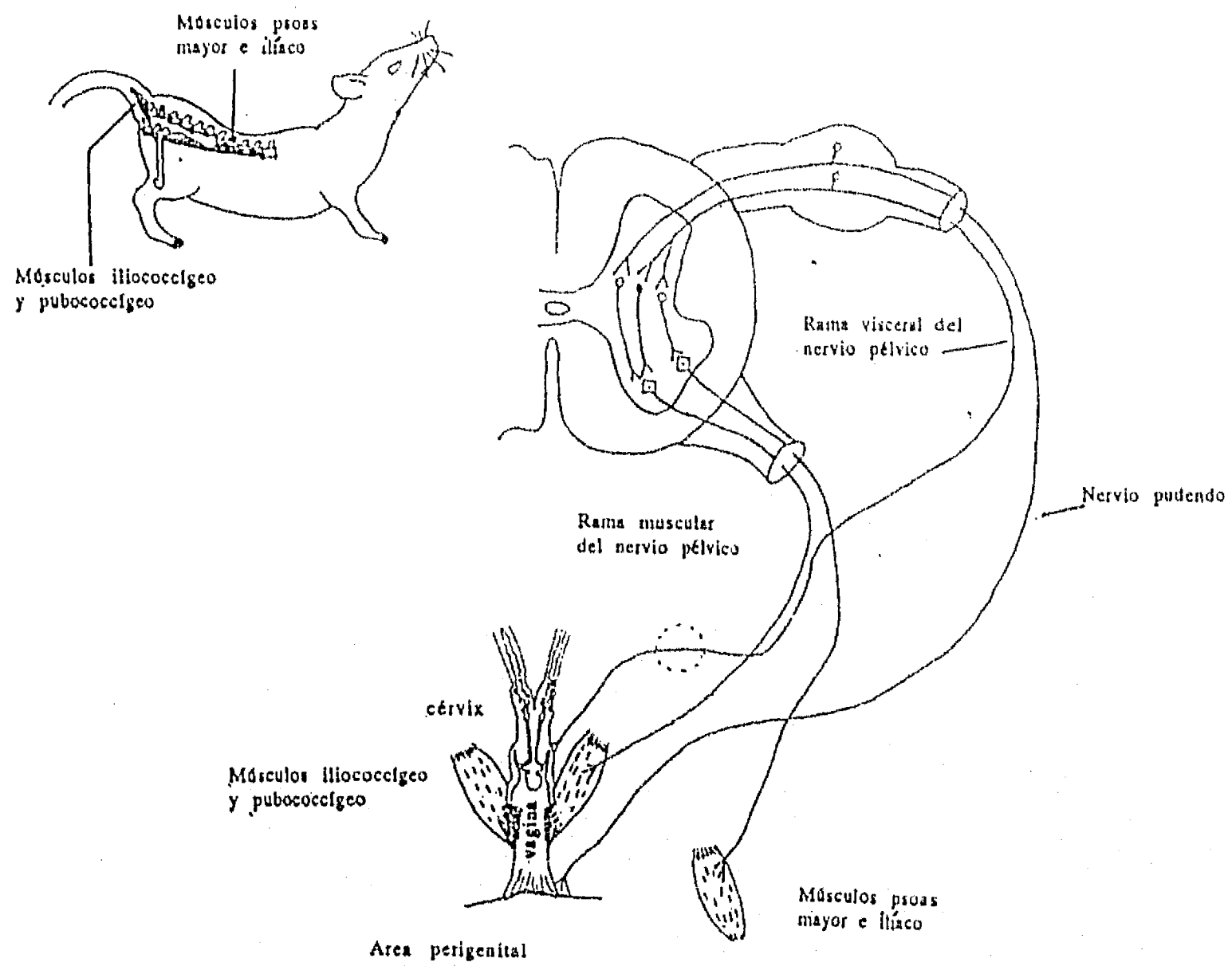


Figura 29. El esquema muestra la posible participación durante el parto de los reflejos musculares producidos por estimulación vaginocervical. Se señalan las ramas del nervio pélvico así como el nervio pudendo como parte de las vías que median estos reflejos.

somatomotora del nervio pélvico para inervar a los músculos iliococcígeo y pubococcígeo, situados a los lados de la vagina, y cuya contracción provoca cambios en la forma de ésta, así como movimientos del orificio vaginal, provocando un aumento en la presión intravaginal, lo cual sugiere un angostamiento de ella en una estructura como de "cuello de botella" (Pacheco y col., 1989).

Por otro lado, la estimulación mecánica del cérvix y vagina anterior, activa fibras sensoriales que van por la rama viscerocutánea del nervio pélvico al sistema nervioso central, provocando tres efectos generales: 1) disparo de los ya conocidos reflejos neuroendócrinos; 2) activación de motoneuronas cuyos axones inervan a los músculos abdominales -como el psoas mayor y el iliaco-, induciendo su contracción, y 3) un efecto inhibitorio sobre la actividad de las motoneuronas que inervan a los músculos iliococcígeo y pubococcígeo, bloqueando la contracción de estos músculos provocada por estimulación perigenital.

La estimulación cervical en rata produce entonces dos efectos musculares diferentes: activa músculos abdominales (Higuchi, 1987) e inhibe músculos como el iliococcígeo y el pubococcígeo que se contraen por estimulación perigenital (Pacheco y col., 1989). Tales acciones, probablemente disparadas por los fetos a su paso por el tracto reproductor, podrían alternarse y complementar las acciones hormonales. El nervio pélvico media así estas acciones: la rama viscerocutánea, a través de sus axones aferentes, interviene en el reflejo neuroendocrino de liberación hormonal y en la facilitación e inhibición de actividad neuromuscular; la rama somatomotora modula la contracción y relajación de los músculos iliococcígeo y pubococcígeo.

Así, el presente trabajo se realizó para evaluar la posible participación diferencial en el parto de las dos ramas del nervio pélvico y para acumular evidencia de la participación de la musculatura estriada y de los nervios pélvico y pudendo en el proceso del parto.

somatomotora del nervio pélvico para inervar a los músculos iliococcígeo y pubococcígeo, situados a los lados de la vagina, y cuya contracción provoca cambios en la forma de ésta, así como movimientos del orificio vaginal, provocando un aumento en la presión intravaginal, lo cual sugiere un angostamiento de ella en una estructura como de "cuello de botella" (Pacheco y col., 1989).

Por otro lado, la estimulación mecánica del cérvix y vagina anterior, activa fibras sensoriales que van por la rama viscerocutánea del nervio pélvico al sistema nervioso central, provocando tres efectos generales: 1) disparo de los ya conocidos reflejos neuroendócrinos; 2) activación de motoneuronas cuyos axones inervan a los músculos abdominales -como el psoas mayor y el ilíaco-, induciendo su contracción, y 3) un efecto inhibitorio sobre la actividad de las motoneuronas que inervan a los músculos iliococcígeo y pubococígeo, bloqueando la contracción de estos músculos provocada por estimulación perigenital.

La estimulación cervical en rata produce entonces dos efectos musculares diferentes: activa músculos abdominales (Higuchi, 1987) e inhibe músculos como el iliococcígeo y el pubococcígeo que se contraen por estimulación perigenital (Pacheco y col., 1989). Tales acciones, probablemente disparadas por los fetos a su paso por el tracto reproductor, podrían alternarse y complementar las acciones hormonales. El nervio pélvico media así estas acciones: la rama viscerocutánea, a través de sus axones aferentes, interviene en el reflejo neuroendocrino de liberación hormonal y en la facilitación e inhibición de actividad neuromuscular; la rama somatomotora modula la contracción y relajación de los músculos iliococcígeo y pubococcígeo.

Así, el presente trabajo se realizó para evaluar la posible participación diferencial en el parto de las dos ramas del nervio pélvico y para acumular evidencia de la participación de la musculatura estriada y de los nervios pélvico y pudendo en el proceso del parto.

## OBJETIVO

Analizar los efectos de la sección bilateral selectiva de las ramas viscerocutánea y somatomotora del nervio pélvico sobre el desarrollo del parto en la rata.

## MATERIAL Y METODO

### ANIMALES

Se utilizaron ratas vírgenes de la cepa Wistar (250-300 gr) que fueron mantenidas en condiciones estándar de bioterio: ciclo luz-obscuridad 12:00-12:00 (10:00 PM "on"), temperatura de  $22^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , con agua y alimento *ad libitum*. Las hembras se colocaron en grupos de 5 animales en cajas de acrílico de 40 x 30 x 20 cm con cama de aserrín.

### APAREAMIENTO

Las fases del ciclo estral fueron monitoreadas diariamente en las hembras por medio de citología vaginal exfoliativa. Cuando la hembra estaba en estro era colocada con un macho sexualmente experto durante 24 hrs y se consideró éste como el día uno de la gestación. Posteriormente se colocaron individualmente en cajas de acrílico de 30 x 20 x 20 cm. En el día 7 de gestación las hembras fueron trasladadas a un cuarto de observaciones con ciclo luz-oscuridad de 9:00 AM "on", 9:00 PM "off" y se asignaron aleatoriamente a los siguientes grupos experimentales.

### GRUPOS

Grupo control.- Se utilizaron seis ratas a las cuales no se les realizó ninguna manipulación experimental.

Grupo somatomotora.- Se usaron 18 ratas a las que se les realizó sección bilateral de la rama somatomotora del nervio pélvico.

Grupo testigo somatomotora.- A seis hembras se les realizó una cirugía simulada de la rama somatomotora.

Grupo viscerocutánea.- Se utilizaron 14 ratas a las que se les seccionó bilateralmente la rama viscerocutánea del nervio pélvico. Considerando que con esta sección del nervio se cortó la inervación del músculo detrusor de la vejiga cuya contracción permite la expulsión refleja de la orina, a partir del

día de cirugía fue necesario exprimir manualmente la vejiga para sacar la orina.

Grupo testigo viscerocutánea.- Se utilizaron seis ratas a las que se les realizó cirugía simulada de la rama viscerocutánea.

En todos los grupos se observó el desarrollo de la gestación y del parto en el día esperado (21-22 de gestación).

## CIRUGIA

La cirugía se realizó en el día 14 de gestación y para ella se anestesió a los animales con pentobarbital sódico (33 mg/kg i.p.). Puestos en posición supina, se realizó una incisión en la línea media abdominal y las vísceras fueron desplazadas. Tanto las vísceras como el útero se cubrieron con gasa humedecida en solución salina.

Para la identificación del nervio pélvico se utilizó la descripción de Carlson y De Feo (1965) y para localizar las ramas del mismo nervio se utilizó la descripción de Pacheco y col. (1989). Una vez localizado el nervio y justo después de su bifurcación se realizó la sección bilateral de la rama somatomotora o de la rama viscerocutánea, seccionando aproximadamente un cm de nervio. En los animales testigos se realizó la misma manipulación pero no se seccionaron las ramas del nervio.

Para determinar si la cirugía tenía efecto en la mortalidad o reabsorción de los fetos (comparando con las crías expulsadas durante el parto), con sumo cuidado y evitando tocar el útero, se contó el número de fetos presentes en los cuernos uterinos.

Un día después del parto se sacrificó a la hembra y se verificó que la sección de los nervios fuera completa.

## REGISTRO DEL PARTO

En el día 20 de gestación las ratas fueron cambiadas a cajas de acrílico de 40 x 40 x 40 cm, con cama de aserrín y tiras de papel, material que utilizaron para la construcción del nido (Fig. 30).

En el día 22 de gestación, se realizó un registro focal de las hembras y se observó que entre las primeras 4-7 hrs de la fase de luz se iniciaron las contracciones abdominales, éstas se fueron presentando cada vez con intervalos menores. Posteriormente se presentó sangrado vaginal y minutos después la expulsión de la primer cría. A partir del sangrado vaginal se comenzó a registrar la conducta de la hembra y las expulsiones de crías y

**FALTA PAGINA**

No.

**78**

placentas mediante un registro de intervalo de un minuto, algunas veces se grabó al mismo tiempo con una cámara de video. El registro terminaba una vez que la hembra juntaba a las crías para amamantarlas.

Los parámetros que se determinaron fueron:

- Duración de la gestación: Tiempo comprendido entre el día de apareamiento y el día del parto.
- Duración total del trabajo de parto: Tiempo comprendido entre la expulsión de la primera y la última cría.
- Frecuencia de nacimientos: Número de nacimientos por minuto.
- Distribución temporal de nacimientos: Porcentaje de crías expulsadas en periodos de 10 minutos.
- Distocia: Problemas en el trabajo de parto.
- Tendencia de expulsión de crías: Porcentaje de crías expulsadas de 1, 2, o 3 en periodos de 5 minutos del tiempo total de parto.
- Número de crías reabsorbidas: Diferencia entre el número de crías contadas en el útero durante la cirugía y el número de crías expulsadas durante el parto.
- Porcentaje de crías vivas o muertas: Se consideró como el 100% el número de crías expulsadas.

## ANALISIS ESTADISTICO

Los datos se capturaron en la hoja de cálculo Quatro Pro (Borland Internacional Inc. v. 3.0). Para realizar la estadística descriptiva (media, error estándar, desviación estándar, etc.) e inferencial se utilizó el programa Instat y SPSS/PC+tm (Graph Pad Instat tm v. 2.0; SPSS Inc. v. 5.0.1) y las gráficas de los resultados utilizamos el programa Sigma Plot for Windows (Jandel Corporation v. 1.02). Se realizó un modelo de regresión no lineal mediante el uso de mínimos cuadrados que muestra la distribución temporal de los nacimientos, así como un coeficiente de correlación de Pearson entre la duración del parto y el número de crías expulsadas. La estadística inferencial para el tiempo total de parto se realizó mediante la prueba de t de Student y para analizar las diferencias entre los porcentajes de crías en la distribución temporal de nacimientos se realizó una comparación de proporciones para muestras grandes.

## RESULTADOS

En la tabla II se resumen los parámetros determinados en los cinco grupos experimentales.

No hubo reabsorción de crías por el estrés de la cirugía puesto que el número de crías observadas durante la cirugía fue el número de crías al momento del parto (expulsadas o en útero), que se presentó alrededor del día 22 de gestación.

En el caso del grupo viscerocutánea, 10 de las 14 hembras gestantes se sacrificaron en el día 24 de gestación sin lograr la expulsión de las crías; sin embargo, el trabajo de parto se inició en el día 22, ya que se observó sangrado vaginal así como contracciones abdominales, lordosis y en algunas ocasiones se observó un feto que asomaba en la vagina. Después de varias horas con contracciones, las hembras presentaron marcada piloerección y estaban anoréxicas. En las otras cuatro hembras, en el día 23 de gestación, dos de ellas lograron expulsar tres crías y las otras dos, cuatro crías, todas ellas muertas. Después de varias horas y en vista de que no se presentaron más expulsiones, se sacrificaron a las hembras. En ninguno de los otros grupos se presentó un problema de distocia.

Dado que no hubo diferencias significativas entre el grupo control y los grupos testigos, para analizar los siguientes parámetros se juntaron los datos de los grupos testigos con los del grupo control.

En cuanto a la duración de gestación no se observan diferencias importantes entre los grupo control, testigo y somatomotora (22 días aprox.). En el grupo con sección de la rama viscerocutánea parece que se alarga notablemente (más de 23 días), sin embargo, en realidad, como ya lo mencioné arriba, aumenta la duración del trabajo de parto.



## PARAMETROS DETERMINADOS DURANTE EL PROCESO DE PARTO

Grupo	No. de fetos observados en la cirugía	No. de crías expulsadas	% de crías vivas	Número promedio de crías	% de partos difíciles (distocia)	Duración del parto (min)	Duración de la gestación (días)
CTRL n= 6	73	73	100	12.17±0.17	0	61.67±2.76	22
SMx n= 18	205	205	100	11.39±0.71	0	50.84±4.0	22.2
VCx n= 14	155	14	0	11.07±0.14	100	359.75±138 .17	+ de 23.5
T SM n= 6	72	72	100	12.0±0.26	0	62.83±7.30	22
T VC n= 6	71	71	100	11.83±1.42	0	60.83±5.01	22

Tabla II. Se resumen los principales efectos de las lesiones selectivas a las ramas del nervio pélvico sobre el proceso de parto. Se incluyen los efectos observados en el grupo control y en los grupos testigo. Ctrl= control; SMx= somatomotora; VCx= viscerocutánea; T SM= testigo somatomotora y T VC= testigo viscerocutánea.

Así, la duración total del parto no varía significativamente (61-63 min), entre el grupo control y los testigos, pero sí al comparar los grupos somatomotora y viscerocutánea con respecto al control (62 min), observándose una disminución en el primer grupo (50 min) y un incremento en el segundo (varias horas). Al realizar una prueba de t de student para comparar la duración del parto entre el grupo control y el somatomotora se mostró que sí es significativo (Fig. 31). Ya no se realizó la comparación con el grupo viscerocutánea por el hecho de que en la mayoría de las hembras no se presentó la expulsión de las crías.

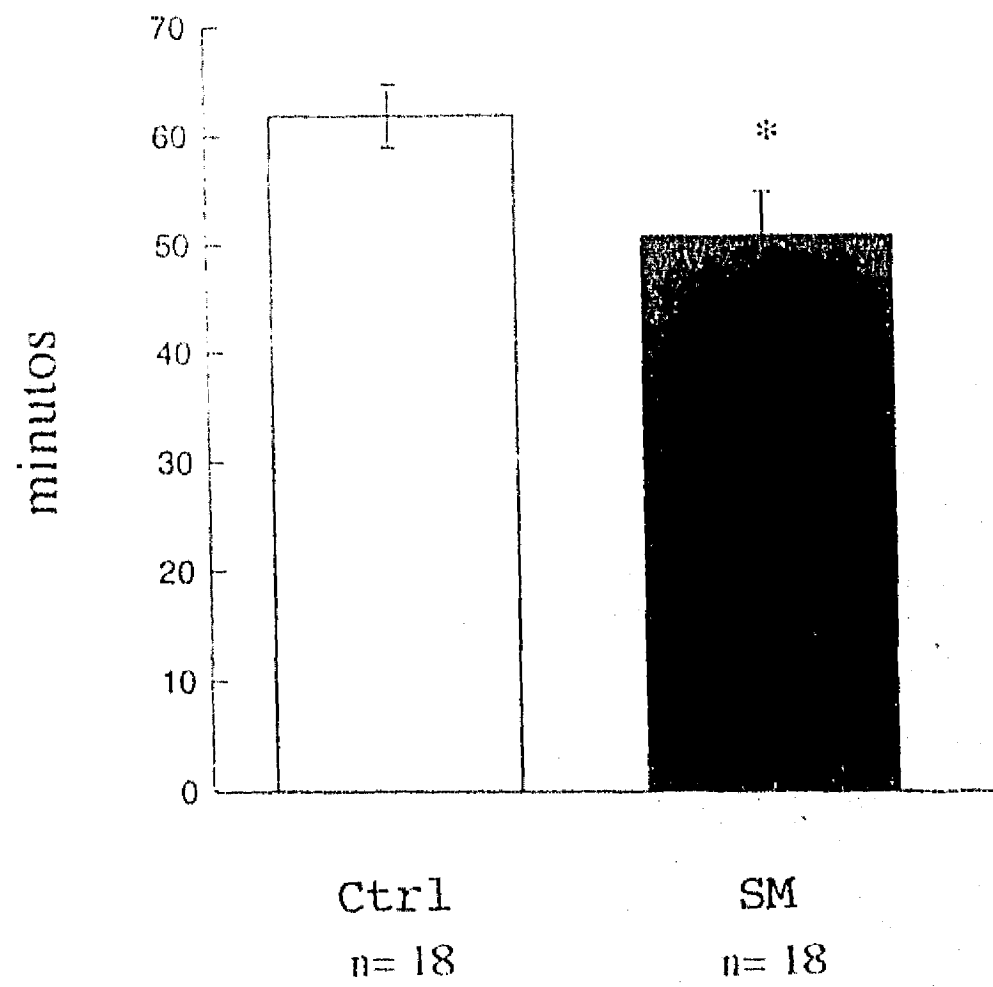
Con respecto a la distribución temporal de los nacimientos, como se muestra en la figura 32 A, y por la comparación de proporciones para muestras grandes, durante los primeros cuarenta minutos, el porcentaje de crías expulsadas es significativamente mayor en el grupo somatomotora (73%) que en el grupo control (63%) y su comportamiento se aproxima al modelo de regresión no lineal de sigmoide invertida que se muestra en la figura 32 B. El punto de intersección de las dos curvas se lleva a cabo en el minuto 37, en los datos posteriores a este punto no existe diferencia significativa.

Al analizar los primeros 40 min del parto, en los que si se observaron diferencias significativas, se encontró que al dividir este tiempo en intervalos de 5 min, el porcentaje de crías expulsadas con intervalos mayores (una cría en 5 min) es similar en los grupos control y somatomotora, pero el porcentaje de las crías expulsadas en intervalos menores (dos crías en 5 min) es mayor en el grupo somatomotora sólo en los primeros 15 minutos del parto (Fig. 33).

Es muy importante hacer notar aquí que a pesar de que se realizó una asignación aleatoria de los animales a los grupos, el número promedio de crías observadas durante la cirugía es mayor en las hembras control/testigo (12.17/11.92) que en las hembras del grupo viscerocutánea (11.07) y del grupo somatomotora (11.39).

En la figura 34 se muestra que al realizar un coeficiente de correlación de Pearson entre la duración del parto y el número de crías expulsadas, el coeficiente de correlación ( $r= 0.2$ ) en el grupo control es negativo, esto es claro ya que la mayoría de las hembras tuvieron 12 crías y la duración del parto fue variable, sin embargo, en el grupo somatomotora la

### Tiempo total de parto



\* = p < 0.05

Figura 31. Se muestra la duración total de parto en los animales control y con sección de la rama somatomotora. El tiempo total de parto para el grupo con sección de la rama somatomotora disminuyó significativamente.

## Distribución temporal de nacimientos

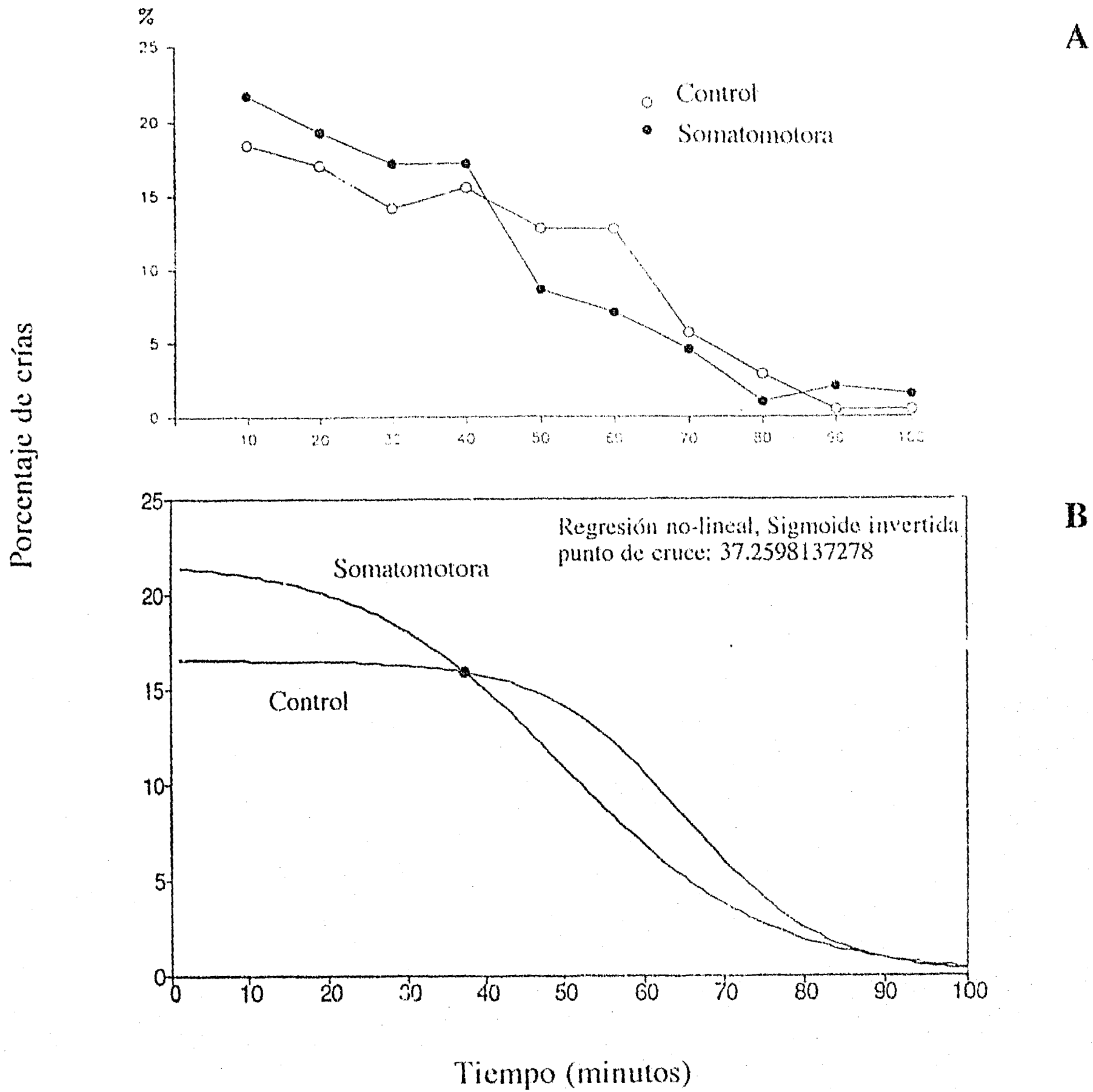


Figura 32. Las gráficas muestran el comportamiento de la distribución temporal de nacimientos para los grupos control y con sección de la rama somatomotora. En A, se muestra el porcentaje de crías expulsadas en los animales control y con sección de la rama somatomotora. Se observa que el porcentaje de expulsiones fue mayor significativamente ( $*p < 0.05$ ) en el grupo somatomotor durante los primeros cuarenta minutos. En B, se muestra el modelo de comportamiento Sigmoide invertida, para la distribución temporal de nacimientos aproximado por mínimos cuadrados y permite observar la diferencia en la tendencia a la expulsión de las crías.

## Distribución temporal de nacimientos

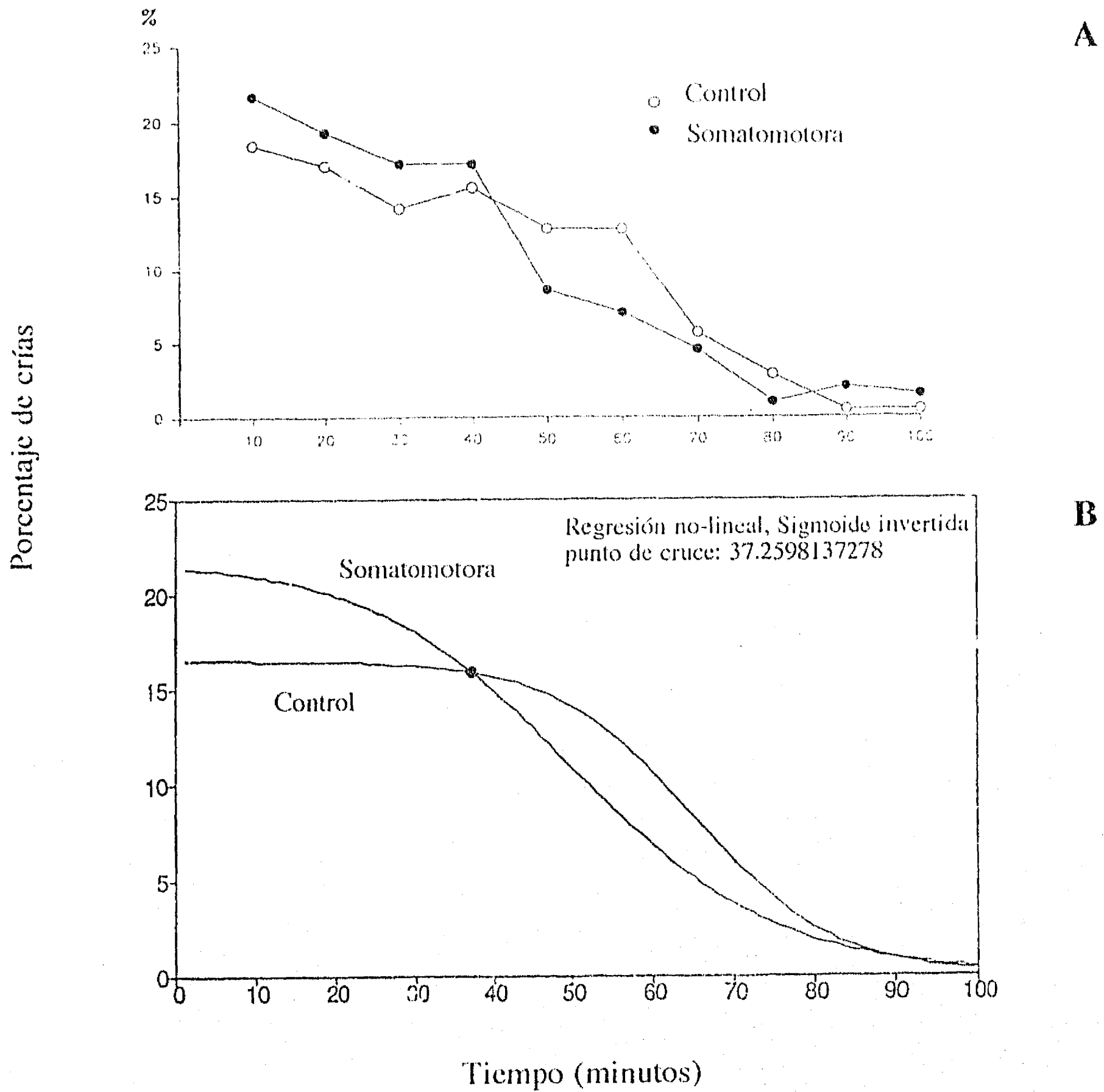


Figura 32. Las gráficas muestran el comportamiento de la distribución temporal de nacimientos para los grupos control y con sección de la rama somatomotora. En A, se muestra el porcentaje de crías expulsadas en los animales control y con sección de la rama somatomotora. Se observa que el porcentaje de expulsiones fue mayor significativamente ( $*p < 0.05$ ) en el grupo somatomotor durante los primeros cuarenta minutos. En B, se muestra el modelo de comportamiento Sigmoide invertida, para la distribución temporal de nacimientos aproximado por mínimos cuadrados y permite observar la diferencia en la tendencia a la expulsión de las crías.

Porcentaje de crías expulsadas en partos simples (A) o dobles (B) en periodos de 5 min durante los primeros 40 min del parto.

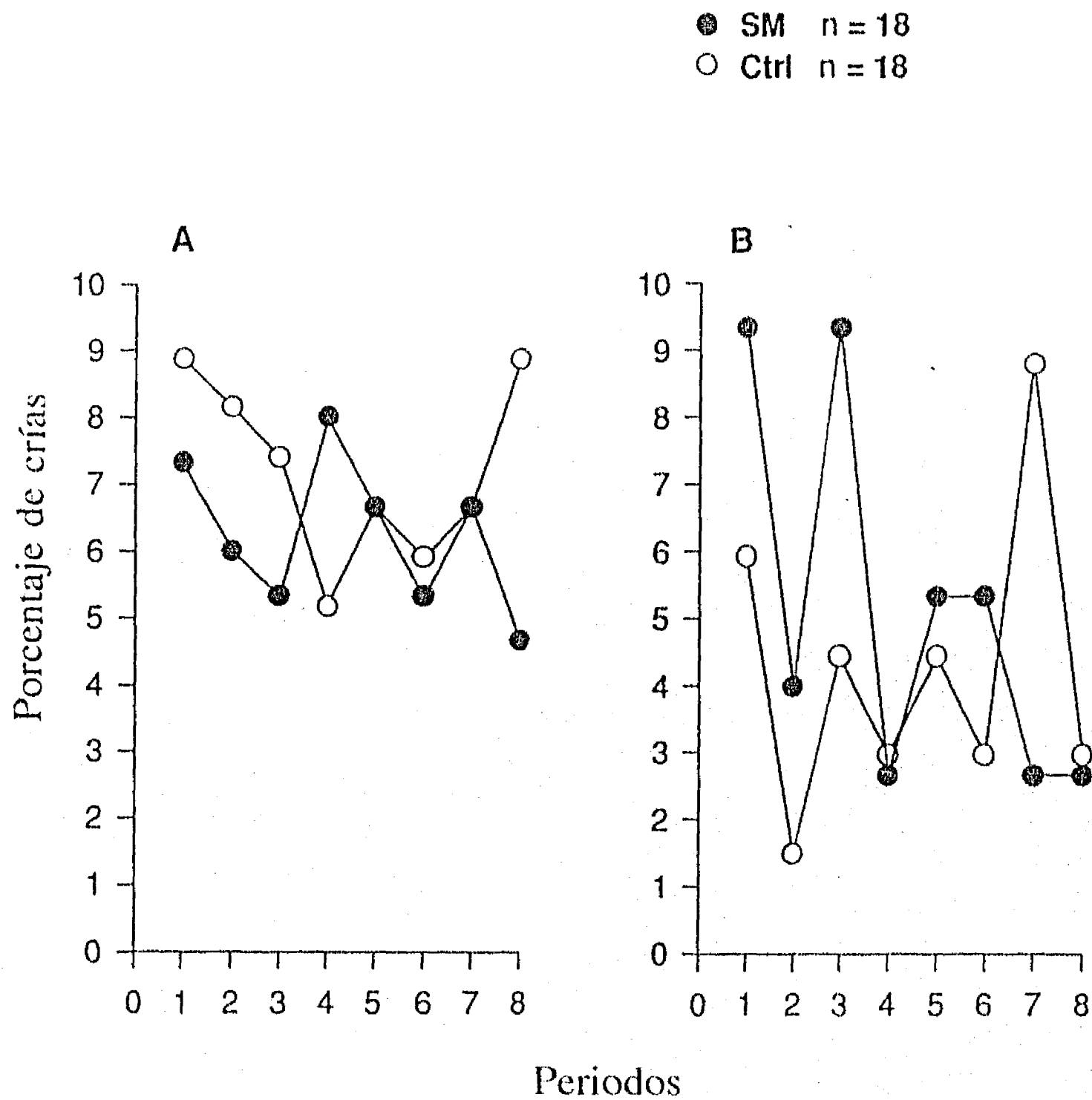


Figura 33. La gráfica muestra el porcentaje de crías expulsadas en partos simples y dobles en periodos de 5 min. Se puede observar un mayor porcentaje de expulsión de crías (partos dobles) en los animales con sección de la rama somatomotora sólo durante los primeros 15 min del parto. En A, se grafica el porcentaje de crías expulsadas en partos simples. En B, se grafica el porcentaje de expulsiones dobles.

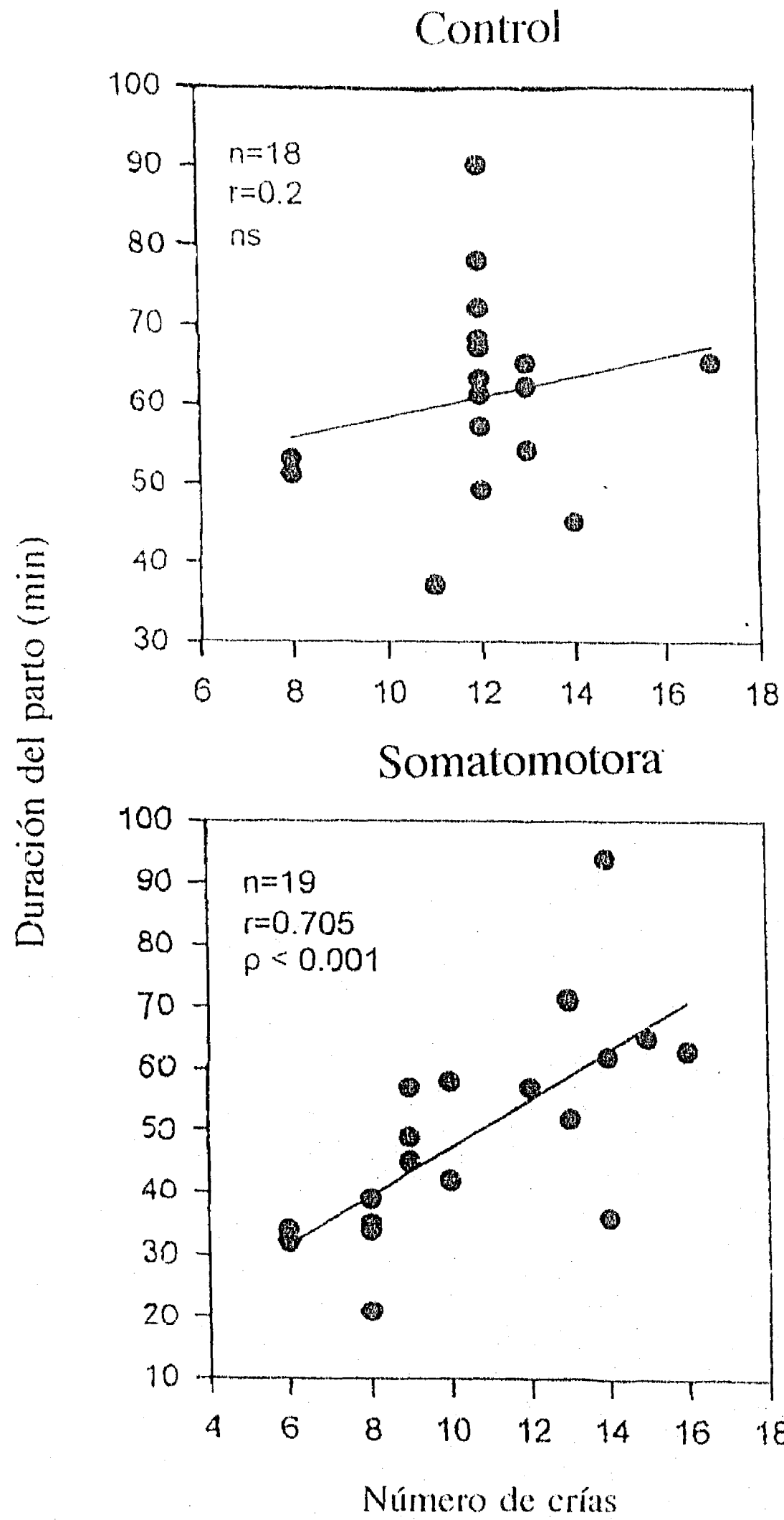


Figura 34. El coeficiente de correlación de Pearson, muestra claramente que no existe relación entre la duración del parto y el número de crías expulsadas en el grupo control, pero sí en el grupo de la rama somatomotora.

correlación fue positiva ( $r= 0.7$ ). Se observan dos grupos de hembras, unas que tuvieron entre 6-10 crías con una duración de parto de 39 min en promedio y otras que tuvieron entre 12-16 crías, con una duración promedio de parto de 59 min.

## DISCUSION Y CONCLUSIONES

El presente trabajo se enfocó al análisis de la actividad muscular mediada por el nervio pélvico. Para ello utilizó la estrategia de diferenciar la actividad refleja mediada por las dos ramas del nervio pélvico. Por ello, un factor clave para el planteamiento de este trabajo, es la demostración hecha en nuestro laboratorio de que el nervio pélvico, considerado por mucho tiempo un nervio autonómico, es en realidad un nervio mixto y formado por dos ramas, una autonómica y sensorial que se dirige al ganglio pélvico mayor, la rama viscerocutánea, y otra que es motora que se dirige a los músculos ilio-pubococcígeo, la rama somatomotora (Pacheco y col., 1989).

Los datos obtenidos en este estudio mediante lesiones selectivas hechas a la rama viscerocutánea y somatomotora del nervio pélvico en ratas gestantes, demuestran la participación diferencial de estas ramas durante el parto: la sección bilateral de la rama viscerocutánea bloqueó por completo el parto, es decir, media un efecto facilitatorio; sección de la rama somatomotora disminuyó la duración del parto y aumentó la expulsión de crías en los primeros minutos, esto es, media un efecto inhibitorio.

Nuestros hallazgos con respecto a la lesión de la rama viscerocutánea, son similares a los resultados obtenidos en otros estudios con la lesión del nervio pélvico completo (p.ej. Kollar, 1952; Carlson y DeFeo, 1965; Spies y Niswender, 1971, etc). Es imposible reconocer en qué medida la desorganización de los reflejos neuroendócrinos y/o de la falta de contracciones de los músculos abdominales contribuyen a los hallazgos que se obtienen con la sección de la rama viscerocutánea.

En cambio, los resultados del grupo somatomotora difieren de otro estudio realizado por Burden y col. (1990) en base a nuestra propuesta (Pacheco y col., 1989). Ellos hicieron un estudio similar al realizado en esta tesis. Sin embargo, consideraron que ambas ramas mediarían un efecto facilitador sobre el parto y que, por tanto, con ambas neurectomías habría un bloqueo de este proceso. Midieron la duración del embarazo más que la del parto y otras características relacionadas a las crías (número de liberadas, de nacidas vivas y muertas y de fetos retenidos). Es posible que estos autores no



midieran los parámetros indicados para detectar el efecto facilitador de la sección de la rama somatomotora como la duración del parto en sí o la frecuencia de la expulsión de las crías.

En rata macho hemos mostrado en nuestro laboratorio que la sección de la rama somatomotora, aunque no repercute en la expresión de la conducta copulatoria si tiene un efecto marcado en la latencia de fecundación (Manzo y col., 1993).

Un aspecto importante a considerar es la falta de un entendimiento integral de los mecanismos del parto, es decir, no sabemos en que medida los mecanismos endocrinos, neurales y mecánicos lo regulan. Holloway y col. (1980) han hecho una descripción conductual minuciosa de la hembra durante el parto pero no establecen correlación alguna a los mecanismos subyacentes. Es posible que en el inicio del parto sean unos los mecanismos predominantes y al final otros. Si esto es cierto, entonces el efecto de las manipulaciones a varios tiempos serían diferentes. Es quizá por ello que los efectos de la lesión de la rama somatomotora se observan solo al principio, una vez que se rompe una especie de barrera para que salga la primera cría.

Dado que en el grupo de la rama somatomotora se observó un sesgo al tener hembras con un número de crías reducido, existe la posibilidad de que las diferencias observadas en la duración total del parto sean un artefacto, sin embargo, pareciera que en los animales con la sección de la rama somatomotora se hiciera patente un factor que marcara la dependencia entre crías expulsadas y duración del parto ya que en los animales control no se observa tal dependencia (Fig. 34): Para poder determinar con precisión el efecto de la lesión de la rama somatomotora sobre este proceso, es necesario realizar más estudios con hembras gestantes que tengan un número similar de crías.

Otro factor importante a considerar en este estudio es el lamido genital. Aunque se ha mostrado en rata la importancia del lamido anogenital para la aparición de la conducta maternal (Wiesner y Sheard, 1933; Karli, 1956) en el parto solo se le ha considerado parte del aseo de sangre (Holloway y col., 1980) sin valorar su participación como desencadenador de actividad refleja. Esta autoestimulación, como la señala en el esquema de la figura 29, en hembras intactas activa al nervio pudendo y en consecuencia provoca la contracción de los músculos iliococcígeo y pubococcígeo, angostando el canal vaginal. Es posible que la cantidad de lamido proporcionado después de la expulsión de cada cría produzca una mayor o

midieran los parámetros indicados para detectar el efecto facilitador de la sección de la rama somatomotora como la duración del parto en sí o la frecuencia de la expulsión de las crías.

En rata macho hemos mostrado en nuestro laboratorio que la sección de la rama somatomotora, aunque no repercute en la expresión de la conducta copulatoria si tiene un efecto marcado en la latencia de fecundación (Manzo y col., 1993).

Un aspecto importante a considerar es la falta de un entendimiento integral de los mecanismos del parto, es decir, no sabemos en que medida los mecanismos endocrinos, neurales y mecánicos lo regulan. Holloway y col. (1980) han hecho una descripción conductual minuciosa de la hembra durante el parto pero no establecen correlación alguna a los mecanismos subyacentes. Es posible que en el inicio del parto sean unos los mecanismos predominantes y al final otros. Si esto es cierto, entonces el efecto de las manipulaciones a varios tiempos serían diferentes. Es quizá por ello que los efectos de la lesión de la rama somatomotora se observan solo al principio, una vez que se rompe una especie de barrera para que salga la primera cría.

Dado que en el grupo de la rama somatomotora se observó un sesgo al tener hembras con un número de crías reducido, existe la posibilidad de que las diferencias observadas en la duración total del parto sean un artefacto, sin embargo, pareciera que en los animales con la sección de la rama somatomotora se hiciera patente un factor que marcara la dependencia entre crías expulsadas y duración del parto ya que en los animales control no se observa tal dependencia (Fig. 34): Para poder determinar con precisión el efecto de la lesión de la rama somatomotora sobre este proceso, es necesario realizar más estudios con hembras gestantes que tengan un número similar de crías.

Otro factor importante a considerar en este estudio es el lamido genital. Aunque se ha mostrado en rata la importancia del lamido anogenital para la aparición de la conducta maternal (Wiesner y Sheard, 1933; Karli, 1956) en el parto solo se le ha considerado parte del aseo de sangre (Holloway y col., 1980) sin valorar su participación como desencadenador de actividad refleja. Esta autoestimulación, como la señalo en el esquema de la figura 29, en hembras intactas activa al nervio pudendo y en consecuencia provoca la contracción de los músculos iliococcígeo y pubococcígeo, angostando el canal vaginal. Es posible que la cantidad de lamido proporcionado después de la expulsión de cada cría produzca una mayor o

menor contracción en los músculos iliococcígeo y pubococcígeo y que ésta sea determinante en el período de expulsión de la siguiente cría. De esta forma a mayor contracción será necesaria mayor estimulación cervical para inhibirla y permitir la salida de la siguiente cría o placenta, alargándose así la duración total del parto. Al no existir la eferencia a tales músculos, como en los animales del grupo de la somatomotora, la autoestimulación perigenital no tendría efecto alguno y por tanto no habría 'retardo' para la expulsión de la siguiente cría, dando como resultado un tiempo total de parto menor al de las hembras controles (Fig. 31) que estaría directamente relacionado al número de crías y placentas expulsadas.

Debido a que la dinámica del trabajo de parto es dependiente de las contracciones uterinas así como de las contracciones de músculos estriados abdominales, para la comprensión total del proceso es necesario diseccionar parte por parte la activación refleja de estos músculos y realizar un registro focal continuo, de tal manera que nos permita determinar la periodicidad exacta (minutos y segundos) de la expulsión de las crías y placentas. Podría ser necesario también hacer un análisis más detallado de otros aspectos conductuales del parto como la lordosis. Finalmente, podría ser que este reflejo mediado por los nervios pélvico y con la actividad de los músculos iliococcígeo y pubococcígeo sea más relevante para la cópula que para el parto.

## BIBLIOGRAFIA

- Adler, N.T., Davis, P.G. y Komisaruk, B.R. (1977). Variation in the size and sensitivity of a genital sensory field in relation to the estrous cycle in rats. *Horm. Behav.*, 9: 334-344.
- Alexandrova, M. y Soloff, M. (1980). Oxytocin receptors and parturition. 2. Concentration of receptors for oxytocin and estrogen in the gravid and non-gravid uterus at term. *Endocr.*, 106: 736-738.
- Baljet, B. y Drukker, J. (1980). The extrinsic innervation of the pelvic organs in the female rat. *Acta Anat.*, 107: 241-267.
- Berkley, K.J., Robbins, A. y Sato, Y. (1988). Afferent fibers supplying the uterus in the rat. *J. Neurophysiol.*, 29: 142-163.
- Berkley, K.J., Hotta, H., Robbins, A., y Sato, Y. (1990). Functional properties of afferent fibers supplying reproductive and other pelvic organs in pelvic nerve of female rat. *J. Neurophysiol.*, 63: 256-272.
- Berkley, K.J., Guilbaud, G., Benoist, J.M. y Gautron, M. (1993). Responses of neurons in and near the thalamic ventrobasal complex of the rat to stimulation of uterus, cervix, vagina, colon, and skin. *J. Neurophysiol.*, 69(2): 557-568.
- Berkley, K.J., Robbins, A., y Sato, Y. (1993a). Functional differences between afferent fibers in the hypogastric and pelvic nerves innervating female reproductive organs in the rat. *J. Neurophysiol.*, 69: 533-544.
- Berkley, K.J., Hubscher, C.H. y Wall, P. (1993b). Neuronal responses to stimulation of the cervix, uterus, colon and skin in the rat spinal cord. *J. Neurophysiol.*, 69(2): 545-556.
- Bertman, G. y Westbrook, W.H. (1966). Peripheral factors in the regulation of sexual contact by female rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 61: 244-250.
- Blandau, R.J. (1945). On the factors involved in sperm transport through the cervix uteri of the albino rat. *Am. J. Anat.*, 77: 253-272.
- Bradley, W.E. y Teague, C.T. (1972). Electrophysiology of pelvic and pudendal nerves in the cat. *Exp. Neurol.*, 35: 378-393.
- Breedlove, S.M. y Arnold, A.P. (1980). Hormone accumulation in a sexually dimorphic motor nucleus of the rat spinal cord. *Science.*, 210: 564-566.
- Breedlove, S.M. y Arnold, A.P. (1981). Sexually dimorphic motor nucleus in the rat lumbar spinal cord: response to adult hormone manipulation, absence in androgen insensitive rats. *Brain Res.*, 225: 297-307.

- Brink, E.E. y Pfaff, D.W. (1980). Vertebral muscles of the back and tail of the albino rats (*Rattus norvegicus albinus*). *Brain Behav. Evol.*, 17: 1-47.
- Brouette-Lahlou, Y., Vernet-Maury, E. y Chanel, J. (1991a). Is rat-dam licking behavior regulated by pups' preputial gland secretion? *Anim. Learn. Behav.*, 19: 177-184.
- Brouette-Lahlou, I., Amouroux, R., Chastrette, F., Cosnier, J., Stoffelsma, J. y Vernet-Maury, E. (1991b). Duodecyl propionate, attractant from rat pup preputial gland: Characterization and identification. *J. Chem. Ecol.*, 17: 1343-1354.
- Burden, H.W., Louis, T.M., Lawrence, I.E. (1980). Lack of effect of unilateral pelvic neurectomy on parturition and leuteolysis in the rat. *IRCS Med Sci.*, 8: 166-167.
- Burden, H.W., Gorewith, R.C., Louis, T.M., Muse, P.D. y Lawrence, L.E. (1982). Plasma oxytocin and estradiol in pelvic neurectomized rats with blocked parturition. *Endokrinologie. Band 79., Heft 3:* 379-384.
- Burden, H.W., Price, G.T., Renegar, R.H. y Hodson, C.A. (1990). Effects of peripheral nerve lesions during pregnancy on parturition in rats. *Anat. Embryol.*, 182: 499-501.
- Caldeyro-Barcia, R. y Sereno, J.A. (1961). The response of the human uterus to oxytocin throughout pregnancy. En: Caldeyro-Barcia, R. y Heller, H. (Eds.). *Oxytocin. Proc. Int. Symp. Montevideo, Pergamon, New York*, pp. 177-182.
- Carlson, R.R. y De Feo, V.J. (1965). Role of the pelvic nerve vs. the abdominal sympathetic nerves in the reproductive function of the female rat. *Endocr.*, 77: 1014-1022.
- Chung, S.K., McVary, K.T. y McKenna, K.E. (1988). Sexual reflexes in male and female rats. *Neurosc Lett.*, 94: 343-348.
- Cihak, V.R., Gutmann, E. y Hanzlikova, V. (1967). Morphologische, physiologische merkmale, entwicklung und homologie des m. "levator" ani der ratte. *Anat. Anz.*, 120: 492-506.
- Cohen, M.S., Schwartz-Giblin, S. y Pfaff, D.W. (1985). Pudendal nerve-evoked response in axial muscle. *Exp. Brain. Res.*, 61: 175-185.
- Cross, B.A. (1958). On the mechanism of labour in the rabbit. *J. Endocr.*, 16: 261-276.
- Cueva-Rolón, R., Muñoz-Martínez, E.J., Delgado-Lezama, R. y Raya, J.G. (1994). The cat pudendal nerve: afferent fibers responding to mechanical stimulation of the perineal skin, the vagina or the uterine cervix. *Brain Res.*, 655: 1-5.
- De Groat, W.C., Nadelhaft, I., Milne, R.J., Booth, A.M., Morgan, C. y Thor, K. (1981). Organization of the sacral parasympathetic reflex pathways to the urinary bladder and large intestine. *J. Auton. Nerv. System.*, 3: 135-160.

- Diakow, C. (1970). Effects of genital desensitization on the mating pattern of female rats as determined by motion picture analysis. *Am. Zool.*, 10: 486.
- Diakow, C. (1975). Motion picture analysis of rat mating behavior. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 88: 704-712.
- Dubrovsky, B., Martínez-Gómez, M. y Pacheco, P. (1985). Spinal control of pelvic floor muscles. *Exp. Neurol.*, 88: 277-287.
- Ferguson, J.K.W. (1941). A study of the motility of the intact uterus at term. *Surg. Gynecol. Obstet.*, 73: 359-366.
- Fleming, A. (1986). Psychobiology of rat maternal behavior: how and where hormones act to promote maternal behavior at parturition. En: Komisaruk, B.R., Siegel, H.I., Cheng, M. y Feder, H.H. *Reproduction a behavioral and neuroendocrine perspective. ANN. N.Y. ACAD. SCI. Vol 474.* pp. 216-225.
- Flint, A.P.F. y Heape, R.B. (1984). Pregnancy. En: Austin, C.R. y Short, R.V. *Reproduction in mammals. Book 3. Cambridge University Press. Great Briatin.* pp. 153-194.
- Forger, N.G., Fishman, R.B. y Breedlove, S.M. (1992). Differential effects of testosterone metabolites upon the size of sexually dimorphic motoneurons in adulthood. *Horm. Behav.*, 26: 204-213.
- Fuchs, F. (1983). Oxytocin and the initiation of human parturition. III. Plasma concentration of oxytocin and 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F<sub>2a</sub> in spontaneous and oxytocin-induced labor at term. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 147: 497.
- Gilpin, S.A., Gosling, J.A., Smith, A.R.B. y Warrel, D.W. (1989). The pathogenesis of genitourinary prolapse and stress incontinence of urine. A histological and histochemical study. *Br. J. Obstet. Gynaecol.*, 96: 15-23.
- Graber, B. (1982). The circumvaginal musculature -a literature review. En: Graber, B. "Circumvaginal musculature and sexual function". Karger. New York. pp. 1-7.
- Grant, G. (1985). Primary afferent projections to the spinal cord. En: Paxinos, G. (Ed.). *The rat nervous system. Hindbrain and spinal cord Vol. 2. Academic Press Inc.* pp. 303-310.
- Greene, E.G. (1961). *Anatomy of the Rat.* Hafner Publishing Co. New York.
- Hafez, E.S.E. (1987). *Reproduction in farm animals.* Lea y Febiger. USA. pp. 107-129, 229-250.
- Hard, E. y Larsson, K. (1968). Effects of mounts without intromission upon sexual behavior in male rats. *Anim. Behav.*, 16: 538-540.

Haterius, H.O. (1933). Partial sympathectomy and induction of pseudopregnancy. *Am. J. Physiol.*, 103: 97-103.

Hayes, K.J. (1965). The so-called "levator-ani" of the rat. *Acta Endocrinol.*, 48: 337-347.

Hebel, R. y Stromberg, M.W. (1976). *Anatomy of the laboratory rat*. Williams and Wilkins, Baltimore, MD.

Henry, J.L. (1983). Low threshold mechanical stimulation of the vagina depresses dorsal horn unit activity in the spinal cat. *Neurosc. Lett.*, 38: 257-262.

Higuchi, T., Honda, K., Negoro, H. y Wakabayashi, K. (1985). Release of oxytocin during suckling and parturition in the rat. *J Endocrinol.*, 105: 339-346.

Higuchi, T., Uchide, K., Honda, K. y Negoro, H. (1986). Oxytocin release during parturition in the pelvic-neurectomized rat. *J. Endocr.*, 109: 149-154.

Higuchi, T., Uchide, K., Honda, K. y Negoro, H. (1987). Pelvic neurectomy abolishes the fetus-expulsion reflex and induces dystocia in the rat. *Exp. Neurol.*, 96: 443-455.

Higuchi, T. (1995). Oxytocin: a neurohormone, neuroregulator, paracrine substance. *Jap. J. Physiol.*, 45: 1-21.

Holloway, W.R., Dollinger, M.J., Denenber, V.H. (1980). Parturition in the rat: description and assessment. En: *Maternal influences and early behavior*. pp. 1-26.

Hulsebosch, G.E. y Coggeshall, R.E. (1982). An analysis of the axon populations in the nerves to the pelvic viscera in the rat. *J. Comp. Neurol.*, 211: 1-10.

Jankowska, E., Padel, Y. y Zarzecki, P. (1978). Crossed disynaptic inhibition of sacral motoneurons. *J. Physiol.*, 285: 425-444.

Jolesz, F.A., Cheng-Tao, X., Ruenzel, P. y Henneman, G. (1982). Flexor reflex control of the external sphincter of the urethra in paraplegia. *Science.*, 216: 1243-1245.

Jordan, E.J., Breedlove, S.M. y Arnold, A.P. (1982). Sexual dimorphism and the influence of neonatal androgen in the dorsolateral motor nucleus of the rat lumbar spinal cord. *Brain Res.*, 249: 309-314.

Kandel, E.R., Schwartz, J.H. y Jessell, T.M. (1991). *Principles of neural science*. Third edition. Elsevier Science Publishing, Co. pp. 1135.

Karl, P. (1956). The norway rat's killing response to the white mouse: an experimental analysis. *Behaviour.*, 10: 81-103.

- Katagiri, T., Gibson, S.J., Su, H.C. y Polak, J.M. (1986). Composition and central projections of pudendal nerve in the rat investigated by combined peptide immunocytochemistry and retrograde fluorescent labelling. *Brain Res.*, 372: 313-322.
- Keverne, E.B., Levy, F., Poindron, P. y Lindsay, D.R. (1983). Vaginal stimulation: An important determinant of maternal bonding in sheep. *Science.*, 219: 81-83.
- Kirk, E.J., Kitchell, R.L. y Johnson, R.D. (1988). Afferent and efferent fibres in the putative cutaneous femoral nerve in the sheep. *Anat. Histol. Embryol.*, 17: 4-47.
- Kollar, E.J. (1952). Reproduction in the female rat after pelvic nerve neurectomy. *Anat. Rec.*, 116: 641-658.
- Komisaruk, B.R. y Larsson, K. (1971). Suppression of a spinal and a cranial reflex vaginal or rectal probing in rats. *Brain Res.*, 35: 231-235.
- Komisaruk, B.R., Adler, N.T. y Hutchison, J. (1972). Genital sensory field: enlargement by estrogen treatment in female rats. *Science.*, 178: 1295-1298.
- Komisaruk, B.R. y Diakow, C. (1973). Lordosis reflex intensity in rats in relation to the estrous cycle, ovariectomy, estrogen administration and mating behavior. *Endocr.*, 93: 548-557.
- Komisaruk, B.R. y Wallman, J. (1977). Antinociceptive effects of vaginal stimulation in rats: neurophysiological and behavioral studies. *Brain Res.*, 137: 85-107.
- Kow, L.M. y Pfaff, D.W. (1973/74). Effects of estrogen treatment on the size of receptive field and response threshold of pudendal nerve in the female rat. *Neuroendocr.*, 13: 299-313.
- Kow, L. y Pfaff, D.W. (1975). Dorsal root recording relevant for mating reflexes in female rats: identification of receptors fields and effects of peripheral denervation. *J. Neurobiol.*, 6: 23-37.
- Kow, L.M. y Pfaff, D.W. (1976). Sensory requirement for the lordosis reflex in female rats. *Brain Res.*, 101: 4-66.
- Kow, L.M., Zemlan, F.P. y Pfaff, D.W. (1980). Responses of lumbosacral spinal unit to mechanical stimuli related to analysis of lordosis reflex in female rats. *J. Neurophysiol.*, 43: 27-45.
- Kumazawa, T. (1986). Sensory innervation of reproductive organs. En: Cervero, F. y Morrison, F.B. (Eds.). *Progress in Brain Research*. Vol 67. Elsevier Science Publishers B.V. pp. 115-131.
- Kuru, M. (1965). Nervous control of micturition. *Physiol. Rev.*, 45: 425-494.



- Langley, J.N. y Anderson, H.K. (1896). The innervation of the pelvic and adjoining viscera. VII. *J. Physiol.*, 20: 372-406.
- Langworthy, O.R. (1965). Innervation of the pelvic organs of the rat. *Invest. Urol.*, 2: 491-511.
- Leake, R.D., Weitzaman, R.E., Glatz, T.H. y Fisher, D.A. (1981). Plasma oxytocin concentration in men, non pregnant women and pregnant women before and during spontaneous labor. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 53: 730-733.
- Liggins, G. C. (1969). The focal role in the initiation of parturition in the ewe. En: Wolstenholme, G.E.W. y O'Connor, M. (Eds.). *Fetal autonomy* (Ciba Foundation Symposium). Churchill, London. pp. 218.
- Liggins, G.C., Fairclough, R.J., Grieves, S.A., Foster, C S., y Knox, B.S. (1977). Parturition in the sheep. En: Knight, J. y O'Connor, M. (Eds.). *The fetus and birth* (Ciba Foundation Symposium No. 47). Elsevier, Amsterdam. pp. 5.
- Liggins, G.C. y Thorburn, G.D. (1994). Initiation of parturition. En: Lamming. G.E. (Ed.). *Marshall's physiology of reproduction.. Vol. 3 Pregnancy and lactation. Part two. Fetal physiology, parturition and lactation. Fourth Edition.* Chapman & Hall. London. pp. 863-1002.
- Light, A.R. y Perl, E.R. (1979). Reexamination of the dorsal root projection to the spinal dorsal horn including observations on the differential termination of coarse and fine fibers. *J. Comp. Neurol.*, 186: 117-132.
- Lloyd, D.P. y Wilson, V.J. (1959). Functional organization in the terminal segments of the spinal cord with a consideration of central excitatory and inhibitory latencies in monosynaptic reflex systems. *J. Gen. Physiol.*, 42: 1219-1230.
- Lucio, R.A., Manzo, J., Steinman, J.L., Komisaruk, B.R. y Pacheco, P. (1990). Localización espinal de las motoneuronas que inervan a los músculos ilio- y pubococcígeo de la rata macho. XXXIII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. Guadalajara, Jal. México. C-170.
- Manzo, J., Vázquez, M.I., Lucio, R.A., Camacho, M.A., Loranca, A., Martínez-Gómez, M. y Pacheco, P. (1993). Regulación neural de la expulsión seminal en la rata. XXXVI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. Acapulco, Gro. México C-168.
- Martínez-Gómez, M. y Lucio, R.A. (1996). Musculatura pélvica. *Boletín de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas*, Año 3, No. 1: 3-8.
- Mackel, R. (1979). Segmental and descending control of the external urethral and anal sphincters in the cat. *J. Physiol.*, 294: 105-122.

- Matthews, M.K. y Adler, N.T. (1977). Facilitative and inhibitory influences of reproductive behavior on sperm transport in rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 91: 727-741.
- Matthews, M.K. y Adler, N.T. (1978). Systematic interrelationship of mating, vaginal, plug deposition, and sperm transport in the rat. *Physiol. Behav.*, 20: 303-309.
- McKenna, K.E. y Nadelhaft, I. (1986). The organization of the pudendal nerve in the male and female rat. *J. Comp. Neurol.*, 248: 532-549.
- McKenna, K.E., Chung, S.K. y McVary, K.T. (1991a). A model for the study of sexual function in anesthetized male and female rats. *Am. J. Physiol.*, 261: 1276-1285.
- McKenna, K.E., Knight, K.C. y Mayers, R. (1991b). Modulation by peripheral serotonin of the threshold for sexual reflexes in female rats. *Pharm. Biochem. Behav.* 40: 151-156.
- Meisel, R.L. y Sachs, B. (1994). The physiology of male sexual behavior. En: Knobil, E. y Neil, J. (Eds.). *The physiology of reproduction. Vol.2 2da. Ed.* Raven Press. New York. pag. 3-105.
- Milewich, L., Gant, N. F., Schwarz, B. E., Chen, G. T. y MacDonal, P. C. (1977). Initiation of human parturition. VIII. metabolism of progesterone by fetal membranes of early and late human gestation. *Obstet. Gynecol.*, 50: 45.
- Molander, C., Xu, Q. y Grant, G. (1984). The cytoarchitectonic organization of the spinal cord in the rat. The lower thoracic and lumbosacral cord. *J. Comp. Neurol.*, 230: 131-141.
- Nadelhaft, I. y Booth, A.M. (1984). The location and morphology of preganglionic neurons and the distribution of visceral afferents from the rat pelvic nerve: A horseradish peroxidase study. *J. Comp. Neurol.*, 226: 238-245.
- Nagasawa, H. y Yanai, R. (1972). Changes in serum prolactin levels shortly before and after parturition in rat. *Endocrinol. Jap.*, 19: 139-143.
- Nance, D.M., Burns, J., Klein, C. y Burden, H.W. (1988). Afferent fibers in the reproductive system and pelvic viscera of female rats: anterograde tracing and immunocytochemical studies. *Brain Res. Bull.*, 21: 701-709.
- Ohta, Y., Iwasaki, Y., Abe, H. y Kato, M. (1991). Activation of spinal neurons by afferent fibers in the ventral roots of rats. *Neurosc. Lett.*, 130: 137-139.
- Pacheco, P., Martínez-Gómez, M. y Dubrovsky, B (1987). Ventral root potentials of the cat's sacrococcygeal segments evoked by stimulation of intact and transected dorsal roots. *Exp. Neuro.*, 96: 1-1087.

- Pacheco, P., Martínez-Gómez, M., Whipple, B., Beyer, C. y Komisaruk, B.R. (1989). Somato-motor components of the pelvic and pudendal nerves of the female rat. *Brain Res.*, 490: 85-94.
- Pfaff, D., Lewis, C., Diakow, C. y Keiner, M. (1972). Neurophysiological analysis of mating behavior responses as hormone-sensitive reflexes. En: Stellar, E. y Sprague, J. (Eds.). *Progress in Physiological Psychology*. Vol. 5 Academic Press. New York. pp. 253-297.
- Pfaff, D., Montgomery, M. y Lewis, C. (1977). Somatosensory determinants of lordosis in female rats: behavioral definition of the estrogen effect. *J. Comp. Physiol Psychol.*, 91: 134-145.
- Pfaff, D.W. y Schwartz-Giblin, S. (1988). Cellular mechanisms of female reproductive behaviors. En: Knobil, E. y Neill, I.D. (Eds.). *The physiology of reproduction*. Vol. 2 Raven Press. New York. pp. 1487-1568.
- Pfaff, D., Schwartz-Giblin, S., McCarthy, M.M. y Kow, L. (1994). Cellular and molecular mechanisms of female reproductive behaviors. En: Knobil, E. y Neil, J.D. (Eds.). *The physiology of reproduction*. Raven Press. New York. pp. 1487-1568.
- Peeters, G. y Houvenaghel, A. (1971). Elimination of the Ferguson reflex by section of the pelvic nerves in the lactating goat. *J. Endocr.*, 49: 125-130.
- Peters, L.C., Kristal, M.B. y Komisaruk, B.R. (1987). Sensory innervation of the external and internal genitalia of the female rat. *Brain Res.*, 408: 199-204.
- Porter, D.G. (1981). Relaxin and cervical softening. En: Anderson, A.M. y Ellwood, D.A. (Eds.). *The cervix in pregnancy and labour*. Churchill Livingstone, Oxford, pp. 85-99.
- Purinton, P.T., Fletcher, T.F. y Bradley, W.E. (1973). Gross and light microscopic features of the pelvic plexus in the rat. *Anat. Rec.*, 175: 697-706.
- Reiner, P., Woolsey, J., Adler, N. y Morrison, A. (1980). Appendix: a gross anatomical study of the peripheral nerves associated with reproductive function in the female albino rat. En: Adler, N.T. (Ed.). *Neuroendocrinology of reproduction*. Plenum Press. New York. pp. 545-549.
- Rethelyi, M., Treviño, D.L. y Perl, E.R. (1979). Distribution of primary afferent fibers within the sacrococcygeal dorsal horn. An autoradiographic study. *J. Comp. Neurol.*, 185: 603-622.
- Rodríguez-Sierra, J.F., Crowley, W.R. y Komisaruk, B.R. (1975). Vaginal stimulation in rats induces prolonged lordosis responsiveness and sexual receptivity. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 89: 79-85.

- Rose, J.D. (1975). Responses of midbrain neurons to genital and somatosensory stimulation in estrous and anestrus cat. *Exp. Neurol.*, 49: 639-652.
- Sachs, B.D. (1983). Potency and fertility. Hormonal and mechanical causes and effects of penile actions of rats. En: Balthazart, J., Prove, E. y Gilles, R. (Eds.). *Hormones and behavior in higher vertebrates*. pp. 86-110.
- Schroeder, H.D. (1980). Organization of the motoneurons innervating the pelvic muscles of the male rat. *J. Comp. Neurol.*, 192: 567-587.
- Semans, J.H. y Langworthy, O.R. (1938). Observations on the neurophysiology of sexual function in the male cat. *J. Urol.*, 40: 836.
- Spies, H.G., Forbes, M. y Clegg, M.T. (1971). The influence of coitus, suckling and prolactin injections on pregnancy in pelvic neurectomized rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 138: 470-474.
- Spies, H.G. y Niswender, G.D. (1971). Levels of prolactin, LH, and FSH in the serum of intact and pelvic-neurectomized rats. *Endocrinology.*, 88: 937-943.
- Sprague, J.M. y Ha, H. (1964). The terminal fields of dorsal roots fibers in the lumbosacral spinal cord of cat and the dendritic organization of the motor nuclei. En: Eccles y Schadé, J.P. (Eds.). *Organization of the spinal cord*. Prog. Brain Res., Vol. II. Elsevier. Amsterdam. pp.120-154.
- Steinman, J.L., Roberts, L. y Komisaruk, B.R. (1982). Evidence that endogenous opiates contribute to the mediation of vaginal stimulation reduced antinociception in rats. *Soc. Neurosci. Abst.*, 8: 47.
- Thorburn, G.D. y Liggins, G.C. (1994). Role of the fetal pituitary-adrenal axis and placenta in the initiation of parturition. En: Lamming, G.E. (Ed.). *Marshall's physiology of reproduction*. Vol. 3 Pregnancy and lactation. Part two. Fetal physiology, parturition and lactation. Fourth Edition. Chapman & Hall. London. pp. 1003-1036.
- Todd, J.K. (1964). Afferent impulses in the pudendal nerves of the cat. *Q. J. Exp. Physiol.*, 49: 258-267.
- Venable, J.H. (1966). Morphology of the cells of normal, testosterone-deprived and testosterone-stimulated levator ani muscles. *Am. J. Anat.*, 119: 271-302.
- Wall, L.L. y DeLancey, J.O.L. (1991). The politics of prolapse: a revisionist approach to disorders of the pelvic floor. *Perspec. Biol. Med.*, 34: 486-496.
- Wallach, S.J.R. y Hart, B.L. (1983). The role of the striated penile muscles of the male rat in seminal plug dislodgement and deposition. *Physiol. Behav.*, 31: 815-821.

Wiesner, B.P. y Sheard, N.M. (1933). Maternal behaviour in the rat. Oliver & Boyd.  
London, England.