

03086

4

29



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTONOMA DE MEXICO

COLEGIO DE CIENCIAS Y HUMANIDADES  
Unidad Académica de los Ciclos Profesional y de Posgrado  
CENTRO DE NEUROBIOLOGIA

PARTICIPACION DE LA  
MUSCULATURA ESTRIADA DEL  
AREA PELVICA EN LOS PROCESOS  
DE CONTINENCIA URINARIA Y  
MICCION EN LA RATA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
DOCTOR EN CIENCIAS FISIOLÓGICAS

PRESENTA:

JORGE MANZO DENES

MEXICO, 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.

## RESUMEN

La continencia urinaria y la micción son dos de las diferentes funciones vitales que se realizan en el área pélvica. La participación de las vías eferentes del sistema nervioso somático en el control de estas funciones constituyó el tema central de esta tesis. Los datos en la literatura muestran la participación de músculos estriados del área pélvica en estos procesos, pero se desconoce aún cuáles son. Así, en este trabajo se contrastaron tres hipótesis. Una relacionada con los músculos activos durante estos procesos, otra con la organización anatómica de estos músculos, y otra con respecto a la participación de ellos en procesos voluntarios de continencia y micción. El estudio se centró en los músculos pubococcígeo, iliococcígeo, coccígeo, isquilocavernoso, bulboespongioso, levator ani y esfínter externo de la uretra. En la metodología se utilizó la cistometría para el desencadenamiento y registro del reflejo de micción, la técnica de hematoxilina-eosina para el análisis histológico de los músculos, el electromiograma para registrar la actividad muscular durante la micción, y la observación conductual de la emisión voluntaria de orina de los machos.

La cistometría realizada en hembras y machos, mostró que los parámetros del cistometrograma son significativamente diferentes con respecto al umbral de volumen y al intervalo intercontracciones (tiempo transcurrido entre una contracción y otra), presentando el macho valores significativamente mayores. Las tres fases del reflejo de micción sólo se observaron en los machos, mientras que las hembras únicamente tuvieron aumentos y decrementos en la presión intravesical acompañadas por goteo. En el macho, el esfínter externo de la uretra, el pubococcígeo, el bulboespongioso y el levator ani, se activan durante la fase de meseta del reflejo de micción. La contracción del músculo pubococcígeo produjo el bloqueo reflejo de la contracción vesical, sin ejercer ninguna influencia directa sobre la presión interna de la vejiga o sobre la expulsión de fluido. Todos estos músculos están conformados por fibras estriadas, a excepción del esfínter externo de la uretra que tiene dos capas celulares: un anillo de musculatura lisa pegada a la pared externa de la uretra y una masa de musculatura sobre este anillo. En los estudios conductuales se observó que la rata macho utiliza la orina como medio de comunicación química, y que esta conducta se expresa primordialmente en presencia de hembras en estró. La lesión de la rama viscerocutánea del nervio pélvico o del nervio hipogástrico decrementó o aumentó respectivamente la cantidad de orina expulsada durante la conducta.

En conclusión los datos permiten reportar: 1). que los machos, en contraste con las hembras, exhiben una conducta de micción característica y muestran actividad de musculatura estriada durante la emisión de orina en preparaciones experimentales agudas; 2). que de los músculos activos durante la fase de meseta del reflejo de micción, el pubococcígeo promueve la continencia y los demás promueven la micción; 3). que sólo el esfínter externo de la uretra está compuesto tanto de fibras estriadas como lisas; 4). que la continencia y la micción son procesos que resultan de la activación coordinada de vías autónomas (vesicales) y somáticas (musculares), con una participación equivalente de ambos sistemas, esto es, sin que el control fundamental sea autónomo, tal como se considera hasta ahora.

## SUMMARY

The urinary continence and micturition processes are two of several vital functions at the pelvic area. This thesis described the role of the pelvic neuromuscular organization for the control of these functions. Data in the literature have shown the role of striated muscles in both processes, but the muscles involved are unknown. Thus, in this research three hypotheses were evaluated. One related to the active muscles during these processes, other related to the anatomical organization of these muscles, and another related to the role of the muscles for voluntary continence and micturition. The study included the pubococcygeus, iliococcygeus, coccygeus, bulbospongiosus, ischioavernosus, levator ani and external urethral sphincter muscles. The methodology included the cystometry to evoke and record the micturition reflex, the hematoxylin-eosin technique for histology of muscles, and the behavioral observation of voluntary expulsion of urine in males.

Cystometrograms showed that some parameters vary between females and males. The volume threshold and the intercontraction interval had reliably higher values in the male as compared with females. During the micturition reflex just males showed the three phases of the cystometrogram, while females showed a wave of rise and fall in the intravesical pressure accompanied by fluid dripping. In the male some muscles are active during the plateau phase of the micturition reflex, they are the external urethral sphincter, the pubococcygeus, the bulbospongiosus, and the levator ani. The contraction of the pubococcygeus muscle blocked reflexively the contraction of the bladder, however it did not influence the intravesical pressure nor fluid expulsion. All muscles studied but the external urethral sphincter have only striated fibers. The external urethral sphincter has two cell layers: a ring of smooth muscle attached to the external surface of the urethra, and a bulk of striated fibers surrounding this ring. The behavioral observation showed both that male rats use urine for chemical communication and that the micturition behavior is displayed mainly in the presence of an estrous female. The bilateral transection of the pelvic nerve viscerocutaneous branch or hypogastric nerve decreased or increased respectively the quantity of expelled urine during the behavioral tests.

In conclusion the data allow to suggest: 1). that males, in comparison to females, show a clear micturition behavior and show striated muscle activity during the cystometrogram-induced micturition reflex; 2). that most muscles promote micturition while the pubococcygeus promotes continence; 3). that the external urethral sphincter has striated as well as smooth muscle fibers; 4). that continence and micturition emerge from the coordinated activity of autonomic (vesical) and somatic (muscular) pathways, having both systems an equal role, thus the main control is not just autonomic as considered to date.

## CRÉDITOS

- La presente tesis fue realizada en el Laboratorio de Neurociencias del Instituto de Neurociología de la Universidad Veracruzana, en la Cd. de Xalapa, Ver.
- La tesis estuvo bajo la dirección del Dr. Pablo Pacheco Cabrera, Investigador del Departamento de Fisiología del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM, con residencia en la unidad periférica de Xalapa.
- Esta tesis fue realizada bajo el patrocinio de las instituciones y programas listados a continuación:

*Programa de Apoyo a las Divisiones de Estudios de Posgrado  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Proyectos 030375 (1993), 030329 (1994) y 030320 (1995)*

*Programa de Apoyo a Académicos en Estudios de Posgrado  
Universidad Veracruzana, 1994-1995*

*Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología  
Registro 84385*

## AGRADECIMIENTOS

A todas aquellas personas que han impulsado mi formación académica, al Dr. Pablo Pacheco, a la Dra. Margarita Martínez Gómez, al Mtro. Porfirio Carrillo y, en especial, a mi compañera de vida, la Mtra. María Elena Hernández.

Al excelente equipo de trabajo del Laboratorio de Neurociencias del Instituto de Neurociología de la Universidad Veracruzana, quienes resultaron piezas clave en gran parte del trabajo experimental: la Med. Cir. Adriana Esquivel, la M.V.C. María Regina Cruz y la Biól. Marcela Irene Vázquez.

A todos los demás compañeros de laboratorio.

A todo el personal del Centro de Investigaciones Fisiológicas de la Universidad Autónoma de Tlaxcala.

A la Dra. Robyn Hudson y al Dr. Benjamin Sachs, por todas sus enseñanzas y sugerencias durante mi desarrollo profesional.

A los revisores de esta tesis: Dr. Manuel Salas Alvarado, Dr. Carlos M. Contreras Pérez, Dr. Javier Velázquez Moctezuma, Dr. Raúl Aguilar Roblero, Dr. Enrique Gijón Granados, Dr. Ismael Jiménez Estrada y Dr. Alonso Fernández Guastí.

A Maria Elena

## ÍNDICE

	Página
RESUMEN	1
SUMMARY	2
INTRODUCCIÓN	3
Antecedentes	5
Organización Central	7
Vías Neurales Periféricas al Tracto Urinario Inferior	8
Disposición Anatómica de las Vías Neurales Periféricas	9
Nervio Pélvico	11
Nervio Hipogástrico	17
Nervio Pudendo	19
Actividad Refleja	20
Bases Mecánicas de la Micción	26
Conducta de Micción	31
HIPÓTESIS	34
PROPÓSITO Y OBJETIVOS	35
MATERIAL Y METODO	36
Experimento I (Cistometría y orina residual)	36
Cuantificación de la orina residual	38
Experimento II (Análisis histológico de músculos)	39
Experimento III (Conducta de micción)	39
RESULTADOS	42
Experimento I	42
Cistometría	42
Orina residual	48
Experimento II	55
Análisis histológico de músculos	55
Experimento III	59
Conducta de micción	59
DISCUSIÓN	66
Hipótesis 1	67
Hipótesis 2	75
Hipótesis 3	77
Bases neurales de la continencia urinaria y micción. Propuesta de un modelo para la rata macho	80
REFERENCIAS	85
APENDICE	
The role of pubococcygeus muscle in urinary continence in the male rat. <i>Artículo Enviado al Journal of Urology.</i>	96



## RESUMEN

La continencia urinaria y la micción son dos de las diferentes funciones vitales que se realizan en el área pélvica. La participación de las vías eferentes del sistema nervioso somático en el control de estas funciones constituyó el tema central de esta tesis. Los datos en la literatura muestran la participación de músculos estriados del área pélvica en estos procesos, pero se desconoce aún cuáles son. Así, en este trabajo se contrastaron tres hipótesis. Una relacionada con los músculos activos durante estos procesos, otra con la organización anatómica de estos músculos, y otra con respecto a la participación de ellos en procesos voluntarios de continencia y micción. El estudio se centró en los músculos pubococcígeo, iliococcígeo, coccígeo, isquiocavernoso, bulboespongioso, levator ani y esfínter externo de la uretra. En la metodología se utilizó la cistometría para el desencadenamiento y registro del reflejo de micción, la técnica de hematoxilina-eosina para el análisis histológico de los músculos, el electromiograma para registrar la actividad muscular durante la micción, y la observación conductual de la emisión voluntaria de orina de los machos.

La cistometría realizada en hembras y machos, mostró que los parámetros del cistometrograma son significativamente diferentes con respecto al umbral de volumen y al intervalo intercontracciones (tiempo transcurrido entre una contracción y otra), presentando el macho valores significativamente mayores. Las tres fases del reflejo de micción sólo se observaron en los machos, mientras que las hembras únicamente tuvieron aumentos y decrementos en la presión intravesical acompañadas por goteo. En el macho, el esfínter externo de la uretra, el pubococcígeo, el bulboespongioso y el levator ani, se activan durante la fase de meseta del reflejo de micción. La contracción del músculo pubococcígeo produjo el bloqueo reflejo de la contracción vesical, sin ejercer ninguna influencia directa sobre la presión interna de la vejiga o sobre la expulsión de fluido. Todos estos músculos están conformados por fibras estriadas, a excepción del esfínter externo de la uretra que tiene dos capas celulares: un anillo de musculatura lisa pegada a la pared externa de la uretra y una masa de musculatura sobre este anillo. En los estudios conductuales se observó que la rata macho utiliza la orina como medio de comunicación química, y que esta conducta se expresa primordialmente en presencia de hembras en estro. La lesión de la rama viscerocutánea del nervio pélvico o del nervio hipogástrico decrementó o aumentó respectivamente la cantidad de orina expulsada durante la conducta.

En conclusión los datos permiten reportar: 1). que los machos, en contraste con las hembras, exhiben una conducta de micción característica y muestran actividad de musculatura estriada durante la emisión de orina en preparaciones experimentales agudas; 2). que de los músculos activos durante la fase de meseta del reflejo de micción, el pubococcígeo promueve la continencia y los demás promueven la micción; 3). que sólo el esfínter externo de la uretra está compuesto tanto de fibras estriadas como lisas; 4). que la continencia y la micción son procesos que resultan de la activación coordinada de vías autónomas (vesicales) y somáticas (musculares), con una participación equivalente de ambos sistemas, esto es, sin que el control fundamental sea autónomo, tal como se considera hasta ahora.

## SUMMARY

The urinary continence and micturition processes are two of several vital functions at the pelvic area. This thesis described the role of the pelvic neuromuscular organization for the control of these functions. Data in the literature have shown the role of striated muscles in both processes, but the muscles involved are unknown. Thus, in this research three hypotheses were evaluated. One related to the active muscles during these processes, other related to the anatomical organization of these muscles, and another related to the role of the muscles for voluntary continence and micturition. The study included the pubococcygeus, iliococcygeus, coccygeus, bulbospongiosus, ischiocavernosus, levator ani and external urethral sphincter muscles. The methodology included the cystometry to evoke and record the micturition reflex, the hematoxylin-eosin technique for histology of muscles, and the behavioral observation of voluntary expulsion of urine in males.

Cystometrograms showed that some parameters vary between females and males. The volume threshold and the intercontraction interval had reliably higher values in the male as compared with females. During the micturition reflex just males showed the three phases of the cystometrogram, while females showed a wave of rise and fall in the intravesical pressure accompanied by fluid dripping. In the male some muscles are active during the plateau phase of the micturition reflex, they are the external urethral sphincter, the pubococcygeus, the bulbospongiosus, and the levator ani. The contraction of the pubococcygeus muscle blocked reflexively the contraction of the bladder, however it did not influence the intravesical pressure nor fluid expulsion. All muscles studied but the external urethral sphincter have only striated fibers. The external urethral sphincter has two cell layers: a ring of smooth muscle attached to the external surface of the urethra, and a bulk of striated fibers surrounding this ring. The behavioral observation showed both that male rats use urine for chemical communication and that the micturition behavior is displayed mainly in the presence of an estrous female. The bilateral transection of the pelvic nerve viscerocutaneous branch or hypogastric nerve decreased or increased respectively the quantity of expelled urine during the behavioral tests.

In conclusion the data allow to suggest: 1). that males, in comparison to females, show a clear micturition behavior and show striated muscle activity during the cystometrogram-induced micturition reflex; 2). that most muscles promote micturition while the pubococcygeus promotes continence; 3). that the external urethral sphincter has striated as well as smooth muscle fibers; 4). that continence and micturition emerge from the coordinated activity of autonomic (vesical) and somatic (muscular) pathways, having both systems an equal role, thus the main control is not just autonomic as considered to date.

## INTRODUCCIÓN

El área pélvica de los mamíferos presenta una organización anatómica elaborada, que sirve de base para la realización de diversas funciones vitales. La continencia urinaria y la micción son dos de ellas. Son procesos que están bajo un complejo control neural, el cual está dado por la integración central de la actividad aferente generada en el tracto urinario inferior, así como por la activación de las vías eferentes a ese tracto y a estructuras vecinas relacionadas.

La continencia urinaria y la micción, dependen de la información proveniente de diversas estructuras (vejiga, uretra, colon, piel perineal, etc.), que se integra a nivel espinal y supraespinal. Se ha mostrado que las contracciones reflejas de la vejiga urinaria y la expulsión de orina, que ocurren en respuesta a la distensión de la vejiga, están mediadas por vías reflejas simpáticas y parasimpáticas (Mallory y cols., 1989). La compleja inervación autónoma probablemente resulta también en una integración a nivel de los ganglios periféricos (Maggi y cols., 1986a).

Estas vías autónomas involucran fibras aferentes y eferentes de la rama viscerocutánea del nervio pélvico y del nervio hipogástrico (Mallory y cols., 1989; Manzo, 1992; Pacheco y cols., 1989). La información que transmiten, sirve de base para iniciar y mantener una serie de reflejos que generan procesos de continencia y micción (Kuru, 1965; Mahony y cols., 1977). Sin embargo, en estos procesos también se ha mostrado la participación de fibras del sistema nervioso somático (Barrington, 1931, 1941; de Groat, 1987; Elbadawi y Schenk, 1974; Gilpin y cols., 1989; Sachs y Liu, 1992).

La participación de las vías eferentes del sistema nervioso somático en el control de la continencia urinaria y el reflejo de micción, constituye el

tema central de esta tesis. Esto sustentado en el hecho de que, a pesar de que la actividad somática parece ser fundamental para el control voluntario de estos procesos, no ha sido analizada con detalle. En el hombre por ejemplo, se ha propuesto que la emisión de orina está sujeta a la voluntad, aún cuando la vejiga no esté llena en su totalidad. Se ha propuesto que la emisión de orina puede retrasarse, resultando en una vejiga distendida en exceso o que puede interrumpirse a voluntad aún después de iniciada. Esto llevó a proponer años atrás que algunos eventos de la micción están regulados a través de la actividad de músculos estriados (Muellner, 1951; Muellner y Fleischer, 1949).

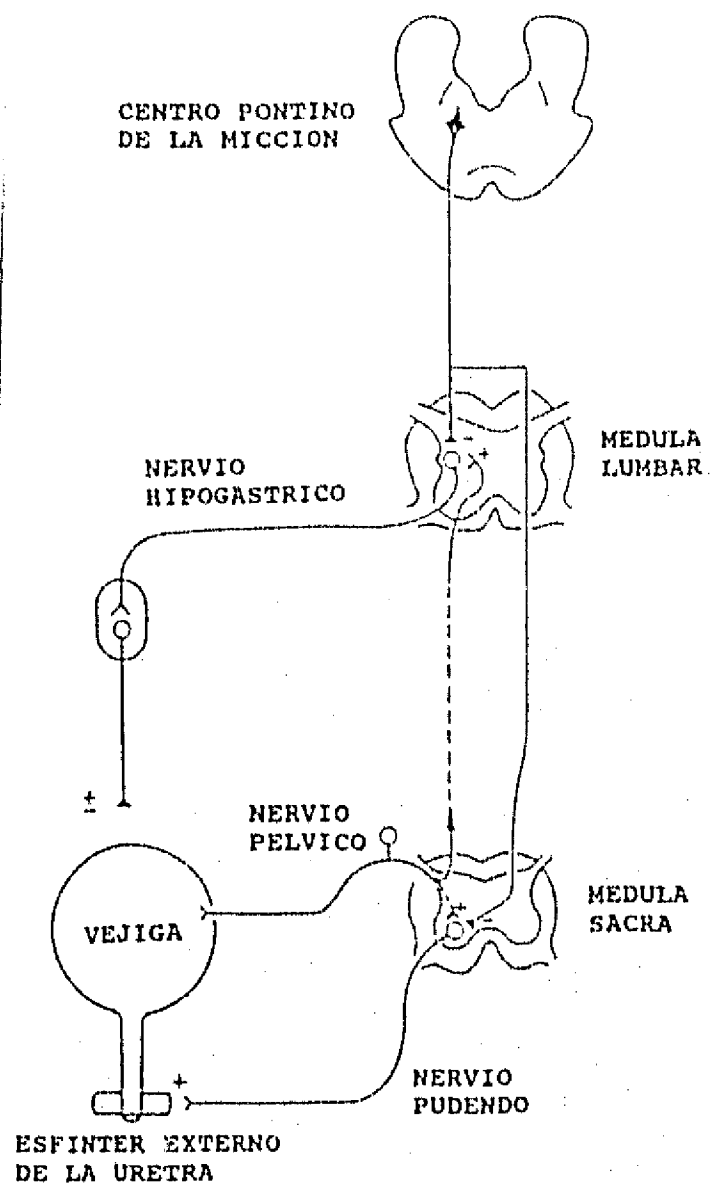
Una de las patologías frecuentes del área pélvica es el problema de la incontinencia urinaria. A pesar de que el estudio de la micción en animales le ha dado un papel preponderante a la participación del sistema nervioso autónomo, el análisis en el hombre de la incontinencia urinaria atribuye la patología a la denervación parcial de la musculatura estriada del piso pélvico (Gilpin y cols., 1989). En adición a esto, en algunos mamíferos, como el perro o el conejo, el control voluntario de la micción es fundamental, dado que la expulsión controlada de orina juega un papel crítico en patrones de conducta (comunicación, marcaje, defensa, etc.) ajenos a una necesidad fisiológica *per se* de evacuación vesical.

## Antecedentes

De acuerdo al conocimiento actual, la continencia urinaria y el inicio del reflejo de micción dependen del funcionamiento de la vejiga. Se ha propuesto que cuando la vejiga está vacía, o presenta cierto volumen de orina que no es suficiente para desencadenar su evacuación, el sistema de salida permanece cerrado debido a la contracción tónica de un músculo estriado conocido como esfínter externo de la uretra (de Groat, 1987). La mayor parte del tiempo, la vejiga se mantiene en reposo, por lo que presenta una contracción vesical baja, esencial para facilitar el flujo de orina del riñón a la vejiga (de Groat, 1987). La distensión de la vejiga a determinado nivel, provoca el aumento de la presión intravesical, lo cual origina su contracción refleja y, por tanto, la eliminación de orina (Mallory y cols., 1989). Se ha planteado que previo a la micción, la resistencia de salida posiblemente se reduce gracias al relajamiento del esfínter externo de la uretra, acompañado del acortamiento mecánico de la uretra y la apertura del cuello de la vejiga (de Groat, 1987).

Este reflejo de micción, desencadenado por el aumento de la presión intravesical, se integra a dos niveles dentro del sistema nervioso central. Uno de ellos es a nivel espinal, en la médula lumbosacra, y otro es a nivel del puente, en un núcleo conocido como el centro pontino de la micción (de Groat, 1975; Kruse y cols., 1990; Mallory y cols., 1989; Oliver y cols., 1969). La comunicación entre las estructuras centrales y el tracto urinario inferior, está dada por los nervios pélvico (a través de su rama viscerocutánea), hipogástrico y pudendo (Fig. 1).

Los antecedentes que se describen a continuación, amplían más detalladamente estas generalizaciones.



**Fig. 1** Vías periféricas y centrales para el control neural de la micción. Cuando la vejiga se encuentra vacía o no muy distendida, los reflejos espinales (conocidos también como "reflejos guardianes") promueven la continencia. Al inicio de la micción, la actividad aferente vesical intensa activa al centro pontino de la micción, que inhibe a los reflejos guardianes (Modificada de de Groat y Steers, 1990).

## Organización Central

Desde hace varias décadas se empezó a especular sobre el control supraespinal de la continencia urinaria y la micción (Barrington, 1921, 1925; para mayor revisión ver Kuru, 1965). Sin embargo, el centro pontino de la micción, en la región del puente del tallo cerebral, es el que ha recibido mayor atención (Kruse y cols., 1990; Mallory y cols., 1991; Shefchyk, 1989).

Considerando un sentido cefalocaudal, se han obtenido respuestas excitatorias y/o inhibitorias sobre el tracto urinario inferior, en estudios de estimulación eléctrica de diversas áreas de la corteza cerebral (Langworthy y Kolb, 1935, 1936; Kremer, 1947; Woolsey y Brooks, 1937), de la amígdala (Kaada y cols., 1954; Shearly y Peele, 1957), del hipotálamo (Beattie y Kerr, 1936; Kabat y cols., 1935), y de diversas regiones del tallo cerebral (Barrington, 1921; Tang y Ruch, 1956; Wang y Ranson, 1939). Entre estas últimas áreas, como ya se hizo mención, está la más estudiada de ellas, el centro pontino de la micción (Fig. 1). Asimismo, el análisis anatómico con técnicas de marcaje, ha mostrado las vías neurales involucradas en el control de la vejiga urinaria. Estas muestran a las estructuras supraespinales como un complejo circuito multisináptico regulador de las funciones vesicales (Nadelhaft y cols., 1992).

Una de las posibles razones por la que el centro pontino de la micción es el mayormente estudiado, se debe a que desde un principio se observó que la destrucción de áreas del sistema nervioso central localizadas por arriba del puente, no interfiere con la micción (Barrington, 1925; Kuru, 1965). No obstante, la destrucción del puente, o del neuroeje a cualquier nivel por debajo del puente, altera irreversiblemente al reflejo de micción (de Groat, 1975; Denny-Brown y Robertson, 1933; Kuru, 1965). Estas propuestas han sido apoyadas más recientemente por el hallazgo de que la estimulación

eléctrica de este centro en gatos, produce el vaciamiento de la vejiga, aún cuando las vías aferentes activadas por la distensión vesical han sido removidas (Shefchyk, 1989).

El papel del centro pontino de la micción ha sido mostrado en diversos estudios (Kruse y cols., 1990, 1991; Mallory y cols., 1991; Noto y cols., 1989, 1991; Shefchyk, 1989). De estas investigaciones han surgido dos hipótesis que sugieren el funcionamiento del centro pontino de la micción. Una de ellas propone que este centro actúa como un circuito alternante que regula tanto al proceso de continencia como al de micción. Durante la continencia, cuando hay una baja actividad aferente vesical, este centro funciona como regulador de la continencia. Cuando existe una alta actividad aferente, debido a que la vejiga se encuentra distendida en su totalidad, el centro deja de controlar la continencia y produce la micción. Así, la actividad de este centro está determinada por el nivel de las aferentes vesicales (de Groat, 1975). La segunda hipótesis sugiere que el circuito alternante se encuentra en la médula espinal, y el centro pontino de la micción regula a este circuito (McMahon y Morrison, 1982).

De acuerdo a estos estudios, se ha establecido que los procesos de continencia urinaria y micción dependen de dos reflejos. Uno espino-bulbo-espinal, donde la estructura del bulbo es el centro pontino de la micción, y otro integrado a nivel espinal, en la médula lumbosacra (de Groat, 1975; de Groat y cols., 1981; Maggi y cols., 1986a).

#### Vías Neurales Periféricas al Tracto Urinario Inferior

Los procesos de continencia urinaria y micción dependen de la actividad coordinada de dos unidades funcionales que conforman el tracto urinario inferior (de Groat, 1990): a) la vejiga urinaria como reservorio, y b)

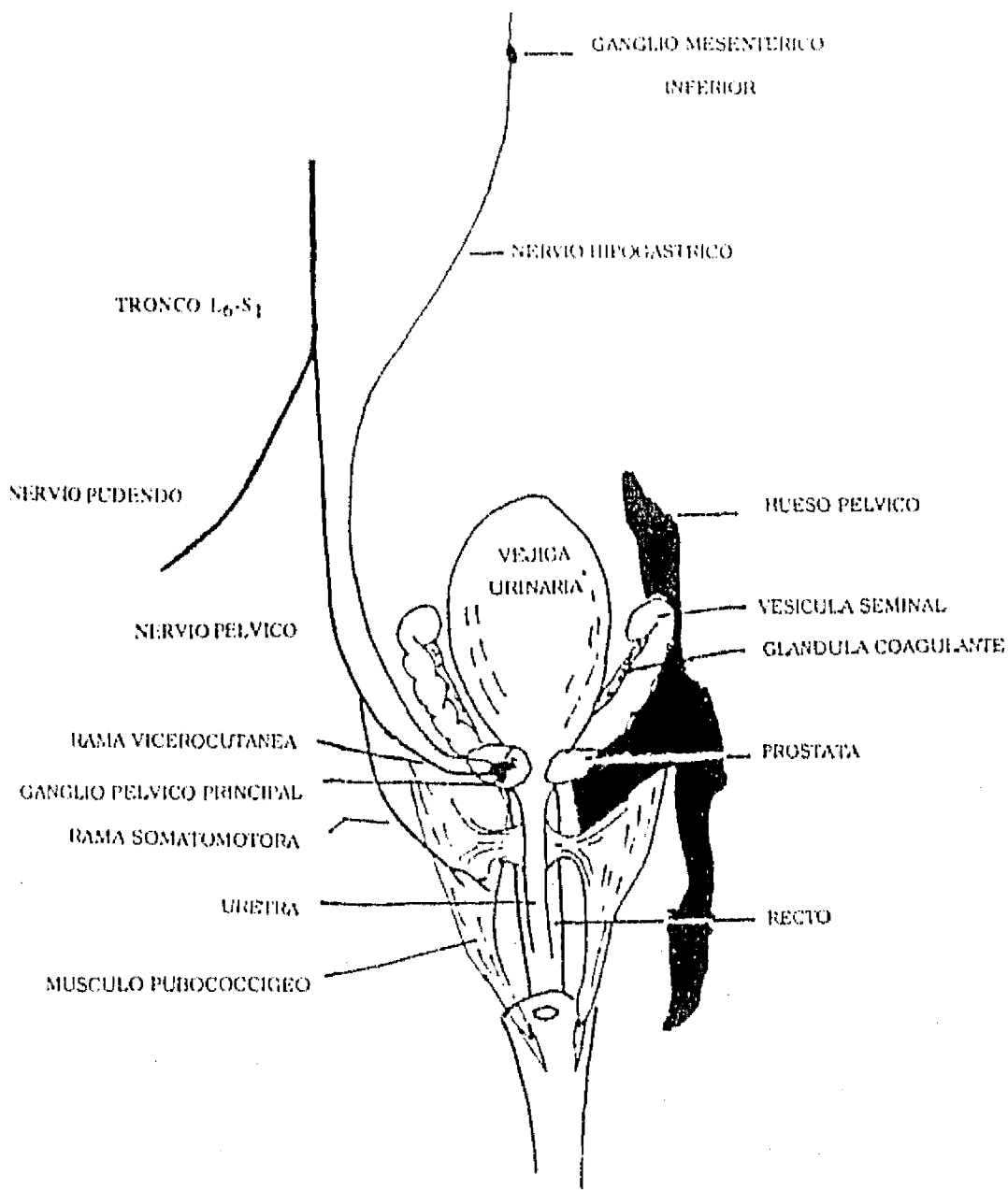


un sistema de salida de orina, constituido por la uretra y el esfínter externo que la rodea.

Los axones que inervan el tracto urinario inferior, se encuentran en los nervios pélvico, hipogástrico y pudendo (de Groat, 1986; Jänig y Morrison, 1986; Kuru, 1965; Talaat, 1937). Los nervios pélvico e hipogástrico inervan la vejiga (Jänig y Morrison, 1986), mientras que la uretra y el esfínter externo de la uretra están inervados por el nervio pudendo (Bahns y cols., 1985, 1987; Downie y cols., 1984). Al parecer, las aferentes más importantes para desencadenar el reflejo de micción son las del nervio pélvico (Kuru, 1965), más específicamente las de la rama viscerocutánea del nervio pélvico (Lucio, 1992; Lucio y cols., 1994; Manzo, 1992; Pacheco y cols., 1989).

#### Disposición Anatómica de la Vías Neurales Periféricas

En la rata, la región lumbosacra de la médula espinal está formada por seis segmentos lumbares y cuatro sacros. En esta región se originan todas las fibras que componen a los nervios pélvico, hipogástrico y pudendo. Los nervios espinales del sexto segmento lumbar y primer sacro, se unen para dar origen a un tronco conocido como Tronco L6-S1 (McKenna y Nadelhaft, 1986). En la cavidad pélvica, este tronco se bifurca y da origen a los nervios pélvico y pudendo (Fig. 2). El nervio hipogástrico se origina del ganglio mesentérico inferior, quien a su vez recibe inervación preganglionar simpática de los últimos segmentos torácicos y primeros lumbares (Fig. 2).



**Fig. 2** Vías neurales que participan en el control de la continencia urinaria y la micción. Los nervios pélvico y pudendo se originan del tronco L<sub>6</sub>-S<sub>1</sub>, mientras que el hipogástrico se origina del ganglio mesentérico inferior. El nervio pélvico se bifurca y forma a las ramas somatomotora y viscerocutánea. La somatomotora inerva a los músculos pubococcigeo e illococcigeo (localizado debajo del pubococcigeo). El nervio hipogástrico también se conecta en el ganglio pélvico principal. El nervio pudendo continúa para integrarse al plexo sacro.

## Nervio Pélvico

Los estudios recientes de la disposición anatómica del nervio pélvico (Lucio, 1992; Lucio y cols., 1994; Manzo, 1992; Pacheco y cols., 1989), muestran que en la rata se origina del Tronco L6-S1 y se bifurca para formar dos ramas, la viscerocutánea y la somatomotora (Fig. 2). La rama viscerocutánea provee inervación eferente al ganglio pélvico principal y sensorial a la vejiga y a la piel perianal. Esta rama llega a la parte dorsolateral de la próstata y se conecta, junto con el nervio hipogástrico, en el ganglio pélvico principal (Fig. 2). La rama somatomotora conduce información aferente y eferente a los músculos iliococcigeo y pubococcigeo.

El complejo neural formado por la convergencia de la rama viscerocutánea del nervio pélvico y el nervio hipogástrico en el ganglio pélvico principal (Fig. 2), así como por los nervios postganglionares que de ahí se originan, se conoce como plexo pélvico. Del ganglio pélvico principal emergen varias ramas, la mayor de ellas va hacia el pene y en menor proporción al recto (Langworthy, 1965; Purinton y cols., 1973), y provee de fibras postganglionares vasodilatadoras al pene (Chung y McKenna, 1987). Otro nervio grueso (y algunos accesorios) que emerge de este ganglio es el que inerva la vejiga, conocido como nervio postganglionar de la vejiga. La inervación al pene y a la vejiga han sido los más estudiados, aunque existen algunos estudios sobre la inervación dada por otros nervios más pequeños, que también salen del ganglio pélvico principal (Sjöstrand, 1965; Norberg y cols., 1967; Fedan y cols., 1977).

El análisis de la participación de la rama viscerocutánea del nervio pélvico en eventos fisiológicos ha mostrado que sus fibras, además de regular la erección penéana, controlan la continencia y evacuación de la vejiga y colon, participan en reflejos visceroviscerales y viscerosomáticos y

transmiten sensaciones dolorosas y no dolorosas (ver Jänig y Morrison, 1986). De estos procesos el más estudiado ha sido la micción (de Groat, 1987; Mallory y cols., 1989). Se ha caracterizado a las aferentes viscerales de esta rama como portadoras de información del conducto deferente, uretra, mucosa anal y vejiga (Talaat, 1937; Kuntz y Morris, 1946; Purinton y cols., 1981; Jänig y Morrison, 1986). Las aferentes somáticas acarrean información de la piel perianal (Manzo, 1992; Peters y cols., 1987; Pacheco y cols., 1989).

La vejiga tiene inervación aferente de fibras tanto de la rama viscerocutánea del nervio pélvico, como del nervio hipogástrico (Barrington, 1931, 1941; Uemura y cols., 1975; Purinton y cols., 1981). Se considera que la sensación de evacuación se transmite por el nervio pélvico y la sensación de distensión y dolor por el nervio hipogástrico (Learmonth, 1931; Oliver y cols., 1969). El umbral de presión para activar las aferentes de la vejiga es similar en diversas especies (Jänig y Morrison, 1986), y es consistente con los reportes en el humano de la primera sensación de llenado (Torrens y Abrams, 1979). Esto se considera dentro de un rango fisiológico, que se logra en experimentos de cistometría cuando se llena la vejiga lentamente (Klevmark, 1974). Los umbrales fisiológicos para la activación de las aferentes del nervio pélvico caen en un rango de presión de 5-15 mmHg. Estas aferentes proveen a la médula espinal de información precisa del tamaño de la vejiga y del momento para la contracción (Morrison, 1981).

La rama viscerocutánea del nervio pélvico, en su composición eferente, está constituida de fibras autónomas. Clásicamente esta rama había sido considerada como compuesta de fibras parasimpáticas. Ahora se sabe que también está conformada por un número significativo de axones postganglionares simpáticos, cuya cantidad es casi igual a las que

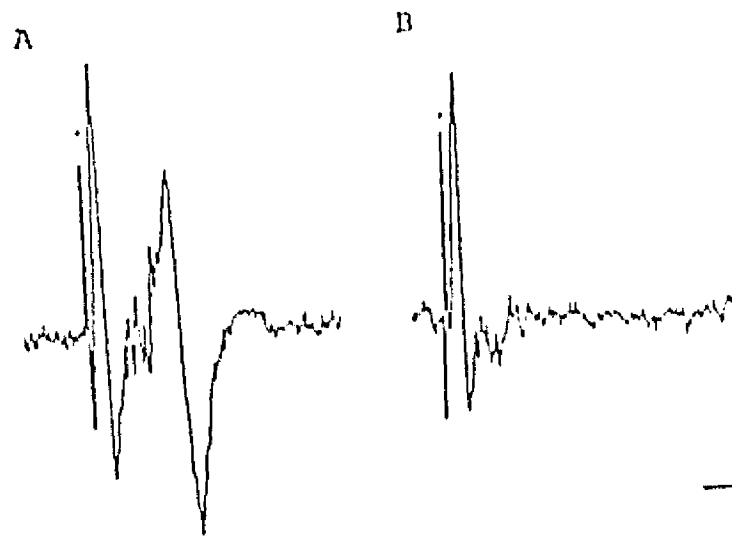
conforman al nervio hipogástrico, compuesto por fibras sensoriales y autónomas simpáticas (Larsson y Swedin, 1971; Hulsebosch y Coggeshall, 1982; Dail y cols., 1985, 1989).

El análisis de las vías eferentes de la rama viscerocutánea del nervio pélvico, ha sido complicado por las posibles rutas postganglionares que puede seguir un estímulo preganglionar. Con técnicas electrofisiológicas, se ha tratado de identificar la dirección postganglionar que puede seguir un impulso que se transmite en el nervio pélvico y llega al ganglio pélvico principal. Estos estudios han considerado principalmente a los nervios postganglionares de la vejiga y cavernoso.

La estimulación eléctrica de la rama viscerocutánea del nervio pélvico produce respuestas en el nervio postganglionar de la vejiga (Purinton y cols., 1976; Mallory y cols., 1989). Se distinguen dos componentes: uno consistente, con latencias mínimas de respuesta de 0.3 a 1.6 ms (media  $0.9 \pm 0.4$  ms), no afectado por estimulación repetitiva (2-20 Hz) o tetanización del nervio pélvico (20 Hz durante 15 s) y resistente a bloqueadores ganglionares (Fig. 3); el otro variable, con latencias mínimas de respuesta de 6.2 a 10.9 ms (media  $8.7 \pm 1.6$  ms) que se extienden hasta 23.4 ms, aumentado por la estimulación repetitiva (2-10 Hz), potenciado por la tetanización del nervio y sensible a bloqueadores ganglionares (Fig. 3).

El primer componente corresponde a los axones que pasan de la rama viscerocutánea del nervio pélvico al nervio postganglionar de la vejiga, cruzando por el ganglio sin hacer sinapsis; el segundo componente corresponde a fibras del nervio pélvico que hacen sinapsis dentro del ganglio sobre neuronas postganglionares que envían sus axones por el nervio postganglionar de la vejiga (Mallory y cols., 1989).

**Fig. 3** Respuestas del nervio postganglionar de la vejiga durante la estimulación de la rama viscerocutánea del nervio pélvico. A: descargas rápidas y lentas (1.5 y 9.4 msec respectivamente). B: la descarga lenta es abolida por un bloqueador ganglionar (hexametonio, 10 mg/kg iv). Calibración vertical 25  $\mu$ V; calibración horizontal 5 msec. • = artefacto del estímulo (Modificada de Mallory y cols., 1989).



El análisis de los componentes de la respuesta del nervio postganglionar de la vejiga fue realizado en dos estudios. Uno de ellos consistió en estimular el nervio postganglionar y registrar la respuesta antidrómica en el nervio pélvico (Purinton y cols., 1976). Con esto se mostró que el primer componente es directo de nervio a nervio ya que sigue registrándose, mientras que el segundo componente no se presenta en el registro antidrómico y por tanto es eferente. En el otro estudio (Mallory y cols., 1989), se mostró que las fibras que pasan sin hacer sinapsis en el ganglio son aferentes. La estimulación de las raíces ventrales L6 y S1 provoca descarga tanto en el nervio pélvico como en el postganglionar de la vejiga. La administración de un bloqueador ganglionar en esta preparación, elimina la respuesta de este último nervio, el cual tampoco exhibe el componente directo que se observa cuando se estimula el nervio pélvico completo, es decir que no se presenta componente sensorial cuando se estimulan las raíces ventrales. La respuesta de la rama viscerocutánea del

nervio pélvico continúa presentándose aún después de administrar el bloqueador.

El análisis electrofisiológico de la otra rama del nervio pélvico, la rama somatomotora, ha sido realizado en la rata hembra y macho (Manzo, 1992; Pacheco y cols., 1989). La estimulación de esta rama produce contracción de los músculos iliococcígeo y pubococcígeo, que se ha registrado mediante electrodos para electromiografía (Fig. 4). En la rata hembra, se ha reportado que esta rama somatomotora contiene también fibras aferentes propioceptivas de los músculos ilio- y pubococcígeo (Pacheco y cols., 1989). La contracción refleja de estos músculos en la hembra, se produce con la estimulación mecánica de la vaina clitoral, la piel perineal y la vagina. Las respuestas provocadas por la estimulación de la vagina, desaparecen al tocar el cérvix y se restablecen cuando finaliza esta estimulación (Pacheco y cols., 1989). En otro trabajo, la rama somatomotora fue seccionada durante el embarazo en ratas (Buren y cols., 1990), mostrándose que esta denervación no produce alteración alguna en el proceso de parto.

En la rata macho también se han hecho algunos estudios de la rama somatomotora (Manzo, 1992). Aquí se ha mostrado que la estimulación de esta rama, produce el regreso de la cola hacia la línea media cuanto ésta ha sido desviada contralateralmente al lado estimulado, y que los músculos ilio- y pubococcígeo se activan reflejamente con la estimulación mecánica del escroto, con la presión ligera al testículo, previa retracción prepucial, y durante la micción (ver Figs. 8 y 9).

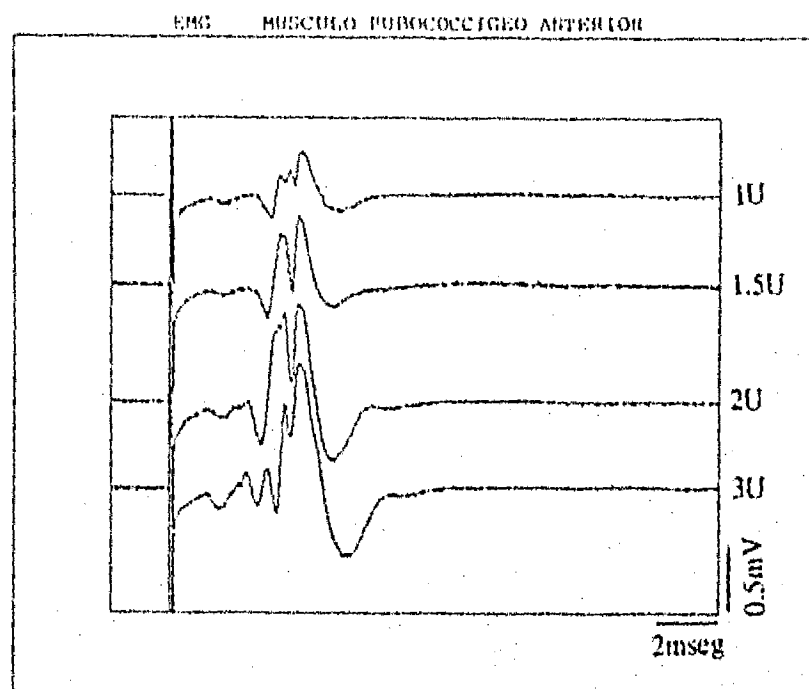
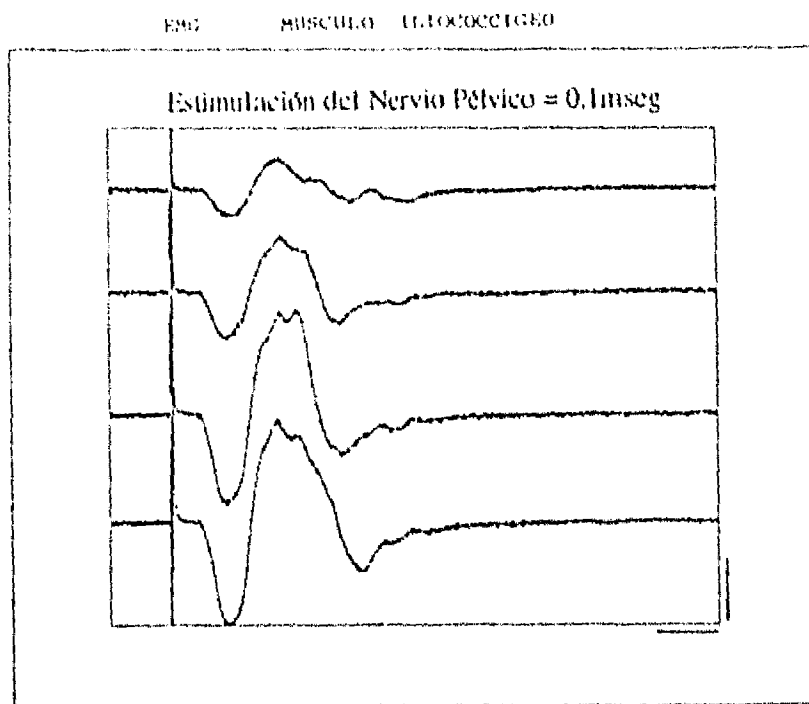


Fig. 4 Actividad electromiográfica de los músculos ilio-coccyge0 (cuadro superior) y pubo-coccyge0 (cuadro inferior) producida por la estimulación ipsilateral de la rama somatomotora del nervio pélvico. Cada cuadro muestra la respuesta a estímulos umbrales (U) o superiores.



Por otro lado, con el uso de la técnica de marcaje retrógrado con peroxidasa de rábano, se identificó la localización espinal de las motoneuronas que envían sus axones por la rama somatomotora del nervio pélvico en la rata macho (Manzo, 1992). Este experimento mostró que las motoneuronas se localizan en tres núcleos diferentes en el segmento espinal L<sub>6</sub> y en un núcleo en el segmento S<sub>1</sub>. Considerando que las motoneuronas de un músculo se organizan generalmente en un solo núcleo espinal, la organización de las motoneuronas del músculo pubococcigeo en diferentes núcleos parece representar una compleja organización espinal para integrar información de diferente naturaleza. Esta información, que puede provenir de estructuras supraespinales o de aferencias periféricas, pueden entonces activar a los músculos ilio- y pubococcigeo. Considerando que estas aferencias a los núcleos espinales pueden activarse con diferentes estímulos, entonces esta organización parecería servir para activar a estos músculos en respuesta a diferentes funciones.

#### Nervio Hipogástrico

El nervio hipogástrico emerge del ganglio mesentérico inferior, y está constituido de fibras aferentes autonómicas, y preganglionares y postganglionares del sistema nervioso simpático lumbar (Baron y cols., 1988; Hulsebosch y Coggeshall, 1982). Después de su origen, se dispone a lo largo de los ureteros y converge, junto con la rama viscerocutánea del nervio pélvico, en el ganglio pélvico principal (Langworthy, 1965; Purinton y cols., 1973).

La mayoría de las fibras del nervio hipogástrico relacionadas con la vejiga son de tipo aferente, y atraviesan el ganglio pélvico principal sin hacer sinapsis (Purinton y cols., 1976). Estas aferentes se activan de manera

similar a las aferentes del nervio pélvico durante la distensión de la vejiga (Floyd y cols., 1976). Se ha reportado que tanto la distensión de la vejiga, la sensación al tacto y la información dolorosa, llegan a la médula espinal vía el nervio hipogástrico (Bors, 1952; Kuru, 1965).

Las fibras eferentes hacen sinapsis en el ganglio mesentérico inferior, en el ganglio pélvico principal, o en la propia pared de la vejiga (Gruber, 1933). A pesar de que en algunos estudios se ha reportado que la estimulación de este nervio no produce respuestas postganglionares en el nervio postganglionar de la vejiga de la rata (Purinton y cols., 1976), se ha descrito en el gato que la estimulación de este nervio produce una ligera contracción, seguida de un relajamiento notable de la vejiga (Elliot, 1907; Langley y Anderson, 1895).

Se ha observado en numerosos estudios (*ver Kuru, 1965*) que la sección del nervio hipogástrico no interfiere con la micción. Sin embargo, Maggi y cols. (1989) reportaron que la sección de este nervio en la rata incrementa significativamente la duración de la fase expulsiva del reflejo de micción, y decrementa el contenido de orina residual. Este hallazgo está de acuerdo con el reporte de que el nervio hipogástrico reduce la eficiencia de vaciamiento en el perro (Nishizawa y cols., 1985, 1986). Para ratas se ha propuesto que la sección del nervio hipogástrico, incluye la remoción de vías aferentes críticas para la activación de un mecanismo inhibitorio que regula la eficiencia del vaciamiento (Maggi y cols., 1989). Sin embargo, el registro de la actividad eferente del nervio hipogástrico en gatos, durante el llenado lento de la vejiga, ha mostrado que esta vía está presente durante la continencia y que el control está modulado finamente por la información aferente que la distensión vesical activa en el nervio pélvico (Satchell y Vaughan, 1988).

## Nervio Pudendo

El nervio pudendo es un componente importante en la regulación de las diversas funciones pélvicas. Se origina, junto con el nervio pélvico, del Tronco L6-S1, dando origen posteriormente a una rama que se anastomosa con el tronco lumbosacro para formar el plexo sacro (McKenna y Nadelhaft, 1986). Los axones motores que lo conforman inervan gran parte de la musculatura estriada de la pelvis, al igual que estructuras aún desconocidas que son inervadas por fibras autónomas que este mismo nervio contiene (Hulsebosch y Coggeshall, 1982). Los músculos estriados regulados por el nervio pudendo son el bulboespongioso, el isquiocavernoso, el levator ani (McKenna y Nadelhaft, 1986; Sato y cols., 1978), el coccígeo (Martínez-Gómez y cols., 1988) y los esfínteres externo del ano y externo de la uretra (Mackel, 1979; McKenna y Nadelhaft, 1986; Oliver y cols., 1970; Walker, 1959).

Los efectos sobre la micción, producidos por la sección del nervio pudendo, incluyen el bloqueo de la expulsión de orina, la eliminación de las oscilaciones de alta frecuencia durante el reflejo de micción (*ver adelante, Fig. 5*), un incremento del tiempo de contracción vesical y un aumento en la cantidad de orina residual después de cada ciclo de vaciamiento (Nishizawa y cols., 1985; Maggi y cols., 1989). Esto ha llevado a considerar la participación de sus fibras aferentes (Nadelhaft y Booth, 1984; McKenna y Nadelhaft, 1986; Roppolo y cols., 1985) y eferentes (Bors, 1952; de Groat y Booth, 1984; Kuru, 1965) en el reflejo de micción. Se ha propuesto la posible participación de las fibras aferentes en la micción por su distribución en la médula espinal, que se traslapa con la distribución que presentan las aferentes vesicales del nervio pélvico. Las fibras eferentes inervan diversos músculos estriados, cuya activación acelera el flujo

intrauretral de orina (Jubelin y cols., 1984; Nishisawa y cols., 1984, 1985; Maggi y cols., 1989), por ello, los efectos producidos por la sección del nervio pudendo pueden deberse también a la remoción de la inervación eferente a músculos estriados (Maggi y cols., 1989).

#### Actividad Refleja

La acumulación de orina en la vejiga y el momento apropiado para su evacuación, está bajo control nervioso (Kuru, 1965). El hecho de que la vejiga presenta cierto grado de "automatismo" ha sido observado desde el siglo pasado (Sherrington, 1892). Ahora se ha propuesto, como ya se mencionó, que este reflejo de micción depende en gran medida del funcionamiento de la vejiga, y que está regulado a dos niveles dentro del sistema nervioso central: a nivel espinal, en la médula lumbosacra; y a nivel del puente, en el centro pontino de la micción (de Groat, 1975; Kruse y cols., 1990; Mallory y cols., 1989; Oliver y cols., 1969).

La acumulación de orina en la vejiga parece depender de tres tipos de reflejos (Kuru, 1965): el reflejo de almacenamiento, el reflejo de continencia y el reflejo guardián. El reflejo de almacenamiento parece estar controlado por células de la médula oblonga, ya que su actividad produce relajación de la pared de la vejiga. El reflejo de continencia parece deberse a una actividad incrementada del esfínter externo de la uretra, en respuesta al llenado de la vejiga. Y el reflejo guardián se propone como la actividad aún mayor del esfínter externo de la uretra, en respuesta a la entrada de orina a la uretra proximal (Kuru y cols., 1961; Garry y cols., 1959).

Se ha propuesto que durante el llenado de la vejiga, cuando ésta se encuentra poco distendida, la baja actividad aferente parece producir la inhibición de la contracción vesical, aunada a una participación activa de

vías simpáticas para producir relajación del detrusor (reflejo de almacenamiento), además del aumento en la actividad electromiográfica del esfínter externo de la uretra (de Groat, 1990). Esta fase de llenado se transforma en expulsión (micción) de manera involuntaria o refleja, aunque también puede ser voluntaria. La micción refleja se provoca cuando la vejiga se distiende más allá de su umbral. Esta distensión produce un incremento en la actividad de las aferentes vesicales, que genera actividad refleja en la vía eferente parasimpática, provocando la contracción del músculo detrusor, además de inhibir las vías eferentes simpáticas y somáticas (de Groat, 1990). Estos reflejos son agrupados en la siguiente tabla:

TABLA I. Reflejos en el tracto urinario inferior

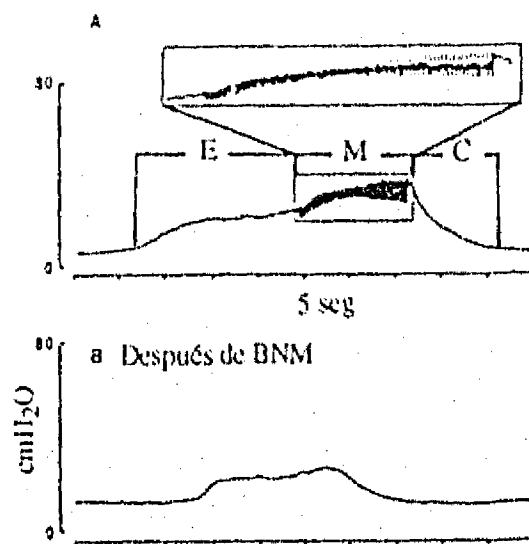
<i>Vía Aferente</i>	<i>Vía Eferente</i>	<i>Vía Central</i>
<u>Continencia Urinaria</u> Bajo nivel de actividad aferente vesical (nervio pélvico)	1. Contracción del Esfínter de la Uretra (nervios somáticos) 2. Contracción del Esfínter Interno de la Vejiga (nervios simpáticos) 3. Inhibición del Detrusor (nervios simpáticos) 4. Inhibición Ganglionar (nervios simpáticos) 5. Inactivación de Vías Parasimpáticas Sacras	Reflejos Espinales
<u>Micción</u> Alto nivel de actividad aferente vesical (nervio pélvico)	1. Inhibición de la Actividad del Esfínter Externo de la Uretra 2. Inhibición de Vías Simpáticas 3. Activación de Vías Parasimpáticas	Reflejos Espino-bulbo-espinales

Modificada de de Groat y Booth, 1984

El estudio de la disposición central de las vías reflejas señaladas, ha propuesto que las eferentes simpáticas que relajan al detrusor y las eferentes somáticas que producen la contracción del esfínter externo de la

uretra, promoviendo ambas acciones la continencia urinaria, están organizadas a nivel espinal (de Groat, 1990). Sin embargo, las eferentes parasimpáticas que van a producir la contracción del detrusor, promoviendo la micción, parecen tener una organización central más elaborada, involucrando vías espinales y espinobulboespinales (de Groat, 1990).

Uno de los modelos clásicos para el estudio del reflejo de micción, ha sido la infusión experimental de fluido al interior de la vejiga y el registro simultáneo de la presión intravesical, método conocido como cistometría. Un registro representativo típico de la cistometría en ratas presenta tres fases distintas (Maggi y cols., 1986a; Mallory y cols., 1989): 1). una elevación inicial en la presión intraluminal, que no se correlaciona con expulsión de fluido; 2). una fase de meseta, donde se presentan oscilaciones de alta frecuencia (4-10 Hz) y emisión de fluido; y 3). una caída rápida de la presión en el interior de la vejiga, que puede acompañarse por la emisión de algunas gotas de fluido (Fig. 5).



**Fig. 5** Respuesta típica de presión en el interior de la vejiga en ratas. A: la contracción de la vejiga muestra oscilaciones de alta frecuencia en la fase de meseta (M). B: las oscilaciones son abolidas al administrar Pancuronium, que es un bloqueador neuromuscular (BNM), indicando la participación de músculos estriados para la presencia de estas oscilaciones. E=fase de elevación, M=fase de meseta, C=fase de caída (Modificada de Mallory y cols., 1989).

Las oscilaciones de alta frecuencia de la fase de meseta son relevantes, ya que resultan de la contracción de musculatura estriada, dado que la administración de un bloqueador neuromuscular las elimina (Maggi y cols., 1986a; Mallory y cols., 1989; Fig. 5). El bloqueo experimental de estas oscilaciones reduce el flujo uretral de orina e incrementa el volumen de orina residual, que se retiene en la vejiga después de la micción (Maggi y cols., 1986a). Estas oscilaciones también son relevantes para la emisión de orina en gatos (Jubelin y cols., 1984), perros (Nishizawa y cols., 1984) y ratas (Maggi y cols., 1986a,b). Por otro lado, se ha mostrado que las oscilaciones de alta frecuencia también son sensibles a bloqueadores de transmisión autonómica, por lo que se ha propuesto que los músculos estriados que las generan probablemente presentan inervación autónoma (Maggi y cols., 1986a). Aunque para la rata se ha mostrado que los parámetros del cistometrograma no son significativamente diferentes entre machos y hembras, algunos autores mencionan la dificultad para obtener en la hembra un cistometrograma complejo como lo muestra el macho (Fig. 5), dado que la hembra en general presenta sólo oscilaciones rítmicas de amplitudes bajas, que no generan un vaciamiento efectivo (Mallory y cols., 1989). Otros autores mencionan que los registros son similares para ambos sexos, pero que la hembra presenta un menor desarrollo de las oscilaciones de alta frecuencia (Maggi y cols., 1986).

El uso del cistometrograma como técnica experimental para investigar el funcionamiento del reflejo de micción, ha mostrado que en la rata (Kruse y cols., 1990) y en el perro (Nishizawa, 1984), la contracción vesical máxima, que se acompaña por la expulsión de fluido, se produce al mismo tiempo que la contracción del esfínter externo de la uretra (Fig. 6).

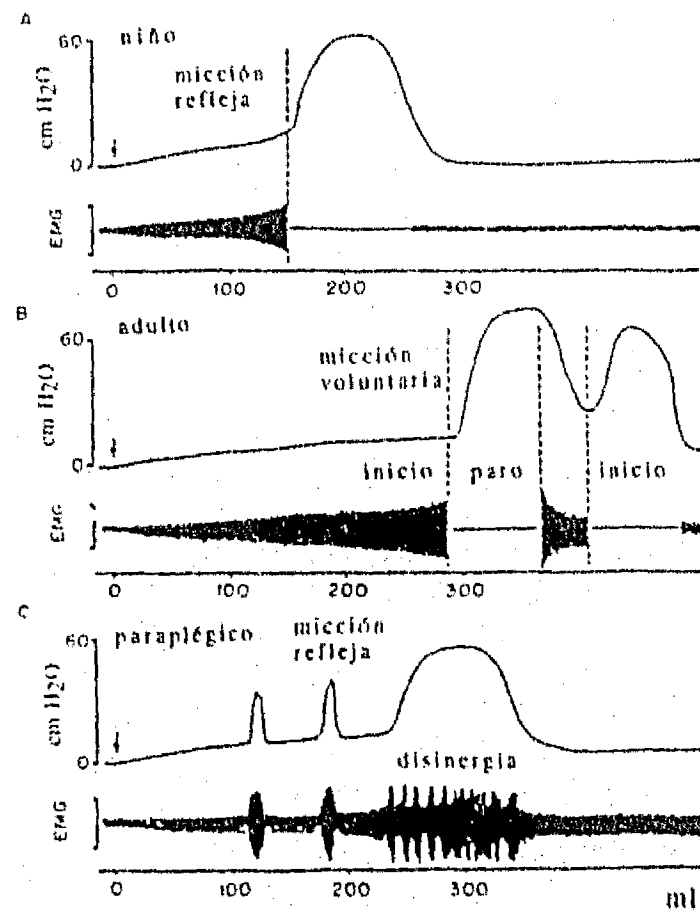


Fig. 6 Cambios en la presión intravesical y actividad del esfínter externo de la uretra (EEU) durante el cistometrograma en la rata. El registro superior es la presión intravesical y el inferior es el EMG del EEU. Las contracciones vesicales, que producen vaciamiento, se correlacionan con la actividad del EEU (Modificada de Kruse y cols., 1990).

A pesar de estos registros en la rata y el perro, en el gato así como en el humano se ha mostrado que la actividad electromiográfica del esfínter externo de la uretra se da durante la continencia, mientras que en la micción el esfínter se relaja cuando inicia la contracción vesical (de Groat, 1990; Garry y cols., 1959; Kuru, 1965). En un registro combinado de la presión intravesical y del electromiograma del esfínter, en respuesta a la micción refleja o voluntaria en humanos, se observa que el esfínter se contrae durante el llenado de la vejiga, mientras que se relaja durante la micción refleja o voluntaria (Fig. 7). La contracción simultánea de la vejiga y del esfínter en humanos, conocida como disinergia, produce problemas de vaciamiento (Fig. 7). En humanos normales, la disinergia se da sólo cuando se detiene voluntariamente la micción, antes del vaciamiento total de la



vejiga (Chancellor y cols., 1990). Sin embargo, esta disinergia es frecuente en sujetos con lesión de médula espinal (Blaivas y cols., 1981; Fig. 7). De un estudio realizado con 14 pacientes con lesión de médula espinal, Rudy y cols. (1988) proponen que la disinergia en humanos no es un problema de vaciamiento, sino que es una respuesta exagerada del proceso de continencia, debido a la pérdida de influencias inhibitorias supraespinales, sobre los núcleos de motoneuronas que inervan al esfínter externo de la uretra.



**Fig. 7** Registro simultáneo del cistometrograma (trazo superior) y el electromiograma (trazo inferior) de un niño (A) un adulto (B) y un adulto parapléjico (C). La flecha en cada trazo superior indica el inicio del llenado de la vejiga, mientras que la abscisa muestra la cantidad de fluido administrado. A representa la micción refleja en el niño y B la micción voluntaria en el adulto. En A y en B el esfínter externo de la uretra se contrae durante el llenado y se relaja cuando ocurre el vaciamiento. En B esta alternancia sucede aún cuando voluntariamente se detiene y reanuda la micción. El sujeto parapléjico muestra actividad simultánea del detrusor y del esfínter, lo que resulta en el problema de disinergia o reflejo de continencia exagerado (Modificado de de Groat, 1990).

## Bases Mecánicas de la Micción

A pesar de que no se han realizado trabajos detallados sobre la musculatura estriada que participa en la micción, se ha mencionado que en ella participan los músculos esfínter externo de la uretra (de Groat, 1987), el rabdoesfínter (Elbadawi y Schenk, 1974), el bulboespongioso, isquilocavernoso y levator ani (Sachs y Liu, 1992), y el pubococcígeo (Gilpin y cols., 1989).

El esfínter externo de la uretra parece mantener una contracción tónica que produce el cierre de la uretra y, por tanto, ayuda a mantener la continencia urinaria. Durante la micción, este esfínter posiblemente se relaja, permitiendo la apertura de la uretra para el adecuado flujo de orina hacia el exterior (de Groat, 1987). Sin embargo, no se ha determinado si la actividad de este músculo influye para la generación de las oscilaciones de alta frecuencia. Además, existe una controversia en cuanto a la participación que se le ha asignado al esfínter externo de la uretra. La sección de la rama motora del nervio pudendo, que inerva a este esfínter, produce problemas para el vaciamiento de la vejiga (Sachs y Liu, 1992). Si la continencia se mantiene debido a una contracción tónica de este esfínter, su denervación tendería a producir incontinencia urinaria. No obstante, produce lo contrario. Esto implica que el papel del esfínter externo de la uretra durante la micción aún requiere de mayor análisis.

El rabdoesfínter es un músculo estriado relacionado también con la uretra. Aunque al parecer es diferente del esfínter externo de la uretra, es un "músculo" que en su estructura fina está compuesto por el esfínter externo de la uretra y la uretra *per se*. Ha sido descrito en gatos, ratas y humanos (Elbadawi, 1982; Elbadawi y Schenk, 1974). Se ha mostrado que tiene inervación somática y autónoma, y probablemente es el responsable de

generar las oscilaciones de alta frecuencia que ocurren en la fase de meseta del reflejo de micción. Esta propuesta se derivó de estudios en el cuyo, el cual carece de rabdoesfinter y, en la cistometría, no presenta oscilaciones de alta frecuencia (Dixon y Goslin, 1977; Elbadawi, 1982). Esta propuesta, sin embargo, aún requiere ser sustentada con estudios apropiados del esfínter externo de la uretra.

Los músculos bulboespongioso, isquiocavernoso y levator ani, son los denominados músculos peneanos en el macho. Estos músculos han sido implicados en las bases mecánicas de la erección (Gerstenberg y cols., 1990; Hart y Melese-d'Hospital, 1983; Holmes y cols., 1991; Sachs, 1982, 1983; Sachs y Liu, 1992; Sachs y Meisel, 1988). Sin embargo, en uno de estos estudios (Sachs y Liu, 1992), donde se analizó el efecto de la denervación de tales músculos en el proceso eréctil y la conducta copulatoria de ratas macho, se observó que los animales sometidos a la cirugía presentaban sangre en la orina. Algunos murieron durante el experimento a causa de la ruptura de la vejiga por exceso de orina y, en general, la autopsia de todos los animales mostró que presentaban orina residual y sangre en la vejiga, así como inflamación y dilatación bilateral de los riñones. Estas observaciones, laterales a los propósitos de investigación de Sachs y Liu (1992), muestran que los músculos bulboespongioso, isquiocavernoso y levator ani, además de jugar un papel importante en la base mecánica de la erección peneana, parecen participar de una manera fundamental en la micción. Sin embargo, se carece de un análisis sistemático del papel que desempeñan tales músculos durante el proceso de micción.

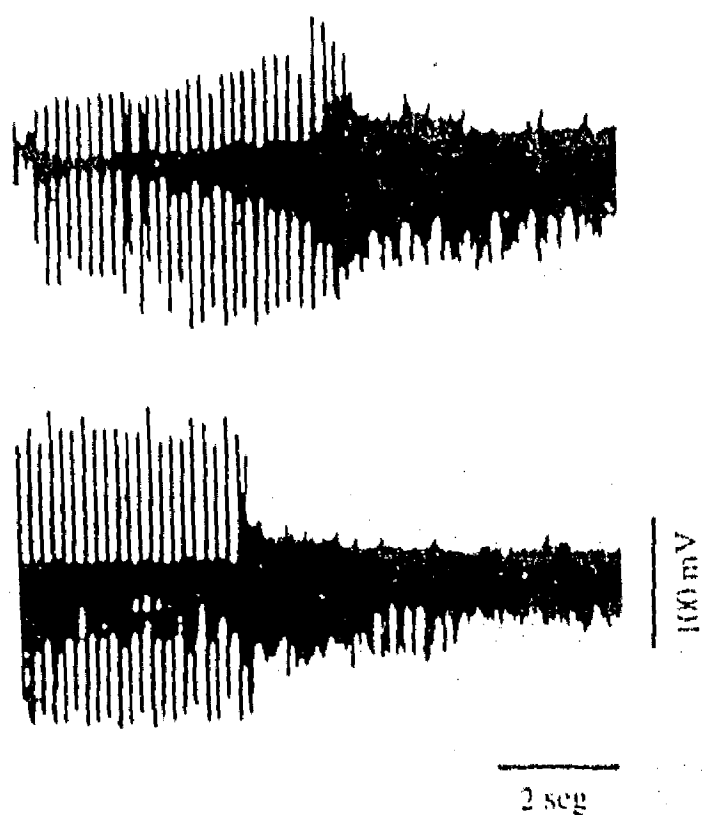
El pubococcigeo es un músculo que, junto con el iliococcigeo y el coccigeo, forma parte del piso pélvico (McKenna y Nadelhaft, 1986). Se origina de la cara interna del hueso iliaco y se inserta en las primeras

vértebras coccigeas (Brink y Pfaff, 1980). En la rata, participa en el mantenimiento de la cola en la línea media, así como en algunos reflejos del área pélvica relacionados con funciones reproductivas y de micción (Manzo, 1992; Martínez-Gómez y cols., 1992). En humanos (Gilpin y cols., 1989), este músculo ha sido dividido en pubococcigeo anterior (mitad cercana al origen) y pubococcigeo posterior (mitad cercana a la inserción). El análisis anatómico ha mostrado que la mitad posterior del músculo presenta haces de músculo liso, lo que ha abierto un nuevo planteamiento de la función de este músculo. La función del pubococcigeo en humanos aún no es clara, la evidencia del análisis al que ha sido sometido indica que la incontinencia urinaria se correlaciona con su denervación (Gilpin y cols., 1989). Sin embargo, se desconoce la forma en que participa durante la micción normal.

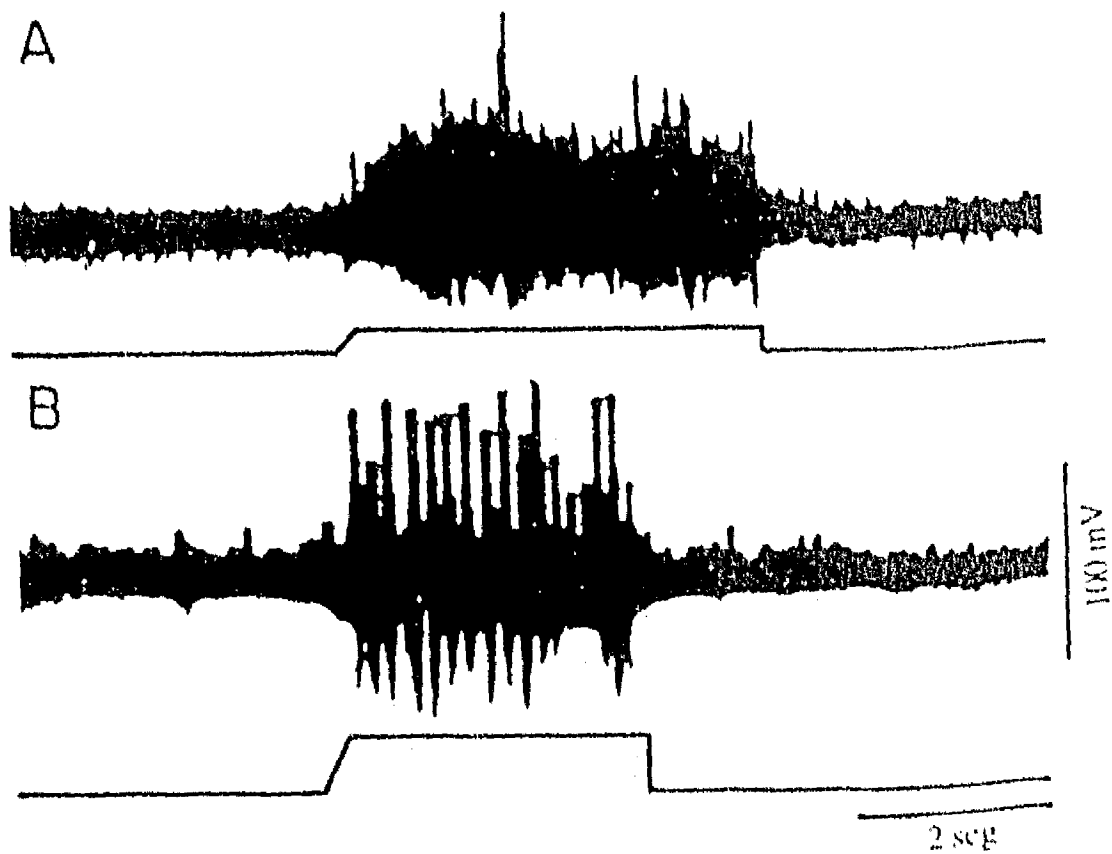
En un estudio previo, en donde se analizó la participación del nervio pélvico en la conducta sexual de la rata macho (Lucio, 1992; Manzo, 1992; Lucio y cols., 1993), se observó un fenómeno notable durante el registro electromiográfico del músculo pubococcigeo. Se observó que súbitamente este músculo presentaba una actividad "espontánea" muy intensa, conformada por ráfagas de potenciales sincrónicos, en forma de "peine", de gran amplitud, los cuales crecían paulatinamente para finalmente transformarse en actividad no sincrónica y de menor amplitud, que después desaparecía. Todo este proceso duraba entre 10 y 15 segundos. En nuestros experimentos se pudo establecer que este proceso coincidía con la contracción de la vejiga y con la expulsión de orina. La actividad sincrónica acompañaba a la expulsión de pequeños chorros de orina. Al cese de la actividad sincrónica terminaba también la salida de orina (Fig. 8).

Considerando este tipo de registros, pudo observarse que cuando la vejiga del animal se encontraba completamente llena, su compresión

manual y ligera producía actividad refleja desincronizada del músculo pubococcigeo. Cuando la presión se daba con mayor intensidad y se lograba la expulsión de orina, la actividad refleja de este músculo se caracterizaba por la actividad sincrónica y de gran amplitud en forma de peine (Fig. 9). Esta observación es relevante en cuanto a la propuesta antes mencionada de los estudios de cistometría sobre la participación de músculos estriados durante la fase de meseta del reflejo de micción. El pubococcigeo, al menos, parece ser uno de ellos.



**Fig. 8** Electromiograma del músculo pubococcigeo de la rata macho. Los registros muestran la actividad "espontánea" registrada durante dos micciones espontáneas. La actividad sincrónica en forma de peine se correlacionó con la expulsión de orina. La actividad no sincrónica y de poca amplitud se registró una vez finalizada la micción (Tomada de Manzo, 1992).



**Fig. 9** Electromiograma del músculo pubococcigeo de la rata macho. Actividad refleja en respuesta a la presión manual de la vejiga distendida. A: respuesta a presión de baja intensidad que no provoca la expulsión de orina. B: respuesta a una presión que provocó la expulsión de orina (Tomada de Manzo, 1992).

La información obtenida permite sugerir que los músculos estriados de la pelvis realizan un papel relevante durante la continencia urinaria y la micción. Sin embargo, existe poca o, en algunos casos, nula información sobre la influencia de algunos músculos específicos en el componente mecánico del flujo de orina durante la micción. El tratar de dilucidar la participación de diversos músculos del área pélvica en la micción, constituye el objeto primordial de estudio del presente proyecto.

#### Conducta de Micción

La comunicación biológica es la acción por parte del organismo (o célula) que altera el modelo probabilístico de comportamiento en otro organismo (o célula), de una forma adaptativa para uno o ambos participantes (Wilson, 1980). De acuerdo a las vías sensoriales existen diversos tipos de comunicación: química, auditiva, visual, táctil y eléctrica.

Dentro de la comunicación química olfatoria, a la fecha se han determinado diferentes tipos de olores que son claves para la comunicación animal (Brown, 1979; Eisenberg y Kleiman, 1972). Estos olores no sólo sirven para desencadenar una respuesta conductual en el sujeto receptor, sino que en muchos casos sirven para identificar individualmente al sujeto emisor. La observación de que los perros son capaces de distinguir a sujetos humanos mediante el olfato, llevó a Kalmus (1955) a documentar por primera vez la existencia de olores particulares entre los individuos. Estos olores, como se sabe a la fecha, son emitidos por glándulas, que dependiendo de la especie animal se localizan en diversas áreas corporales. En adición a estas glándulas, las fuentes más comunes de olores son la orina y las heces fecales (Halpin, 1980, 1986).

La información obtenida permite sugerir que los músculos estriados de la pelvis realizan un papel relevante durante la continencia urinaria y la micción. Sin embargo, existe poca o, en algunos casos, nula información sobre la influencia de algunos músculos específicos en el componente mecánico del flujo de orina durante la micción. El tratar de dilucidar la participación de diversos músculos del área pélvica en la micción, constituye el objeto primordial de estudio del presente proyecto.

#### Conducta de Micción

La comunicación biológica es la acción por parte del organismo (o célula) que altera el modelo probabilístico de comportamiento en otro organismo (o célula), de una forma adaptativa para uno o ambos participantes (Wilson, 1980). De acuerdo a las vías sensoriales existen diversos tipos de comunicación: química, auditiva, visual, táctil y eléctrica.

Dentro de la comunicación química olfatoria, a la fecha se han determinado diferentes tipos de olores que son claves para la comunicación animal (Brown, 1979; Eisenberg y Kleiman, 1972). Estos olores no sólo sirven para desencadenar una respuesta conductual en el sujeto receptor, sino que en muchos casos sirven para identificar individualmente al sujeto emisor. La observación de que los perros son capaces de distinguir a sujetos humanos mediante el olfato, llevó a Kalnus (1955) a documentar por primera vez la existencia de olores particulares entre los individuos. Estos olores, como se sabe a la fecha, son emitidos por glándulas, que dependiendo de la especie animal se localizan en diversas áreas corporales. En adición a estas glándulas, las fuentes más comunes de olores son la orina y las heces fecales (Halpin, 1980, 1986).



La orina es utilizada por perros, gatos y conejos, como un medio de comunicación. Los perros y gatos utilizan la orina para demarcar territorio (Wilson, 1980), mientras que los conejos y algunos roedores identifican su identidad y rango social (Dagg y Windsor, 1971; Mykytowycz, 1968). La demarcación de territorio por los perros, es un ejemplo del control voluntario que tienen de la micción. Sin embargo, sólo los perros machos realizan esta conducta, por lo que se ha propuesto que se debe a un complejo acto reflejo ligado al sexo y regulado hormonalmente (Berg, 1944; Martins y Valle, 1948). Una pregunta abierta a este aspecto, que constituye otro de los objetivos de la presente tesis, es establecer si las ratas macho presentan una conducta de marcaje con orina similar a la del perro.

La exposición a olores durante el desarrollo y el estado adulto, tiene influencia sobre la expresión de la conducta sexual y de la conducta agresiva en ratones (Sandnabba, 1990, 1993; Korpela y Sandnabba, 1994). Las características conductuales de un emisor modifica, principalmente a través de vías olfatorias, la conducta del receptor en un sentido apropiado para la conducta del emisor (Sandnabba, 1993). Así, aunque los sistemas de comunicación en las diversas especies de mamíferos pueden incluir numerosas modalidades, la comunicación con señales químicas emitidas por un individuo y percibidas por otro, mediante las vías olfatorias, parece constituir el principal medio de comunicación en la amplia variedad de conductas sociales (Bronson y Macmillan, 1983).

La comunicación química, mediante vías olfatorias y relacionadas con procesos reproductivos, depende de señales químicas sintetizadas y emitidas por diversas glándulas sexuales accesorias en el tracto reproductor de los mamíferos (*para mayor revisión ver* Albone y Shirley, 1984). Sin embargo, a pesar de todo la compleja fisiología que subyace a la comunicación química,

ésta sirve en general para modular tres aspectos de la biología reproductiva de las poblaciones de mamíferos (Bronson y Macmillan, 1983). Primero, las señales químicas son importantes para asegurar la dispersión apropiada de las unidades sociales que componen a una población reproductiva. Segundo, las señales químicas juegan un papel primordial en los procesos de identificación que preceden a las interacciones agresivas o sexuales. Y tercero, las señales químicas pueden provocar respuestas endocrinas estereotipadas.

## HIPOTESIS

En la actualidad se cuenta con evidencia experimental que sugiere la posible participación de diversos músculos estriados del área pélvica en la continencia urinaria y en la micción. Entre estos músculos se encuentran el esfínter externo de la uretra, el bulboespongioso, el isquiocavernoso, el levator ani y el pubococcígeo. Sin embargo, dada la compleja anatomía muscular del área pélvica es necesario incluir a otros músculos, como el iliococcígeo y el coccígeo. De acuerdo a ello y a los antecedentes señalados, en este proyecto se contrastaron las siguientes hipótesis de trabajo:

1. La continencia urinaria y la expulsión de orina en la rata involucra la participación de diversos músculos estriados de la pelvis, cuya actividad se alterna durante ambos procesos. Esta participación muscular es dependiente del sexo, siendo sólo los machos los que la presentan.
2. La musculatura pélvica que participa en la micción está constituida de fibras musculares estriadas y lisas, por lo tanto está bajo control neural somático y/o autónomo.
3. El control somático de la continencia y micción en la rata se expresa conductualmente como fenómenos realizados a voluntad, que implican procesos de comunicación química (marcaje, por ejemplo).

## PROPOSITO Y OBJETIVOS

En el presente proyecto se analizó la participación de diversos músculos pélvicos en el proceso de micción. El análisis estuvo centrado en los siguientes siete músculos: pubococcígeo, iliococcígeo, coccígeo, isquiocavernoso, bulboespongioso, levator ani y esfínter externo de la uretra. Con el estudio de estos músculos se pretendió:

1. Determinar la participación de cada uno de los músculos mencionados en la continencia urinaria y/o en la micción.
2. Caracterizar el tipo y organización de las fibras musculares que conforman a cada uno de los músculos.
3. Registrar la actividad electromiográfica de cada músculo durante el reflejo de micción, provocado por la infusión experimental de fluido en la vejiga, y correlacionar esta actividad con las tres fases cistométricas del reflejo.
4. Determinar si existe una conducta de marcaje con orina, que indique micción voluntaria y, por tanto, actividad eferente somática.
5. Analizar las similitudes y/o diferencias de la participación de músculos estriados en la micción entre hembras y machos.

## MATERIAL Y MÉTODO

### Animales

Se utilizaron ratas adultas hembras y machos de la cepa Wistar, con un peso de 250-350 gr. Se mantuvieron en jaulas de acrílico colectivas (50x30x20 cm; 5 animales del mismo sexo por jaula), previamente acondicionadas con una cama de aserrín. Las jaulas estuvieron en un bioterio mantenido a temperatura constante  $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ , con un ciclo invertido luz-obscuridad de 12:12 h (encendido de luz: 2200 h). El agua y el alimento (Nutricubos para Roedores, Purina, México) se proporcionaron *ad libitum*.

### Experimento I (Cistometría y Orina Residual)

En este experimento, los animales (n=15 machos y 15 hembras para cistometrías) se anestesiaron con uretano (Sigma Chemicals, USA; 1.2 gr/kg de peso i.p. en solución acuosa al 15%) y, colocados en decúbito dorsal, se les realizó una incisión de la pared abdominal para exponer la vejiga. Si la vejiga se encontraba llena de orina, era vaciada manualmente mediante una presión ligera. Posteriormente se insertó en el ápice de la vejiga, 2-4 mm de una aguja de 23 x 13 mm. Esta aguja estaba conectada a un transductor de presión (Gould-Statham, USA), el cual a su vez sirvió de medio para realizar la infusión experimental de solución salina a  $37^{\circ}\text{C}$ . El transductor de presión se conectó a un preamplificador DC 7P1, éste a un Amplificador DC 7DA y éste a un polígrafo 79E (Grass Instruments Company, USA). La infusión de solución salina al interior de la vejiga se realizó con un índice constante,  $\sim 0.10$  ml por minuto. La infusión se mantuvo continuamente hasta producir un máximo de quince reflejos de micción por animal, registrados todos ellos por el sistema transductor-polígrafo. Con este procedimiento, la micción se refiere a la emisión de fluido durante la

contracción fásica de la vejiga, seguida por un decremento de la presión intraluminal que lleva a un valor cercano a cero (Maggi y cols., 1986a,b). Los parámetros cuantificados en este procedimiento fueron el Umbral de Volúmen (cantidad de fluido necesario para desencadenar el reflejo de micción), el Intervalo Intercontracciones (tiempo que transcurre de un cistometrograma al siguiente), el Volúmen Residual (cantidad de fluido retenido en la vejiga después de cada reflejo de micción), la Duración del Evento (tiempo transcurrido del inicio al fin de una contracción vesical), y la Amplitud del Evento (presión máxima que alcanza la vejiga durante una contracción). El volúmen residual, expresado en porcentaje, fue cuantificado según la fórmula:  $1 - VT1/VT2 \times 100$  (Maggi y cols., 1988), donde VT1 y VT2 son los valores de umbral de volúmen de dos cistometrogramas consecutivos.

En adición, los músculos analizados en este estudio (uno por animal), fueron insertados con electrodos para el registro del electromiograma (EMG), con el fin de determinar la actividad electromiográfica desencadenada reflejamente durante las diferentes etapas de la cistometría. Los electrodos para EMG fueron conectados a un amplificador de EEG 7P511 (Grass Instrument Company, USA), y en otro canal del polígrafo, se registraba el EMG en paralelo con la cistometría.

En algunos experimentos, el músculo pubococcígeo, fue estimulado directamente, a diferentes intensidades y/o frecuencias, mediante los electrodos usados para registrar el EMG. En algunos animales (n=6) la vejiga fue distendida con el sistema del CMG, pero la infusión de fluido fue detenida antes de desencadenar los reflejos de micción. Posteriormente, el músculo pubococcígeo fue estimulado directamente para observar efectos sobre la presión intravesical. En otros animales (n=8) el músculo

pubococcigeo fue estimulado durante CMGs continuos. Por otro lado, se ha observado que en ratas anestesiadas con una dosis alta de uretano (2-2.5 g/kg de peso), la micción inducida por el CMG se bloquea. Sin embargo, la infusión de solución salina al interior de la vejiga provoca una onda continua de contracción-relajación del músculo detrusor, con goteo pero sin una micción *per se*. Con este sistema, el músculo pubococcigeo se estimuló en algunos de estos animales anestesiados profundamente (n=8).

#### Cuantificación de la Orina Residual

Con el fin de cuantificar la orina residual después de inducir la micción por estrés, para tener esta información de sujetos estudiados en otro contexto, se realizó un experimento donde se formaron dos grupos. Cada uno estuvo integrado por 10 hembras y 10 machos. Los animales fueron colocados en posición supina dentro de un restrictor por 1-2 minutos y después se colocaron individualmente en una campana de éter, sin permitir que se anestesiaran. Estos procedimientos consecutivos provocaron la micción y defecación de los animales.

Posteriormente se dejaron en la campana de éter hasta que alcanzaron el nivel de anestesia, y se sometieron a una cirugía donde la vejiga, los ureteros y la uretra quedaron expuestos. Los ureteros y la uretra se cerraron con pinzas hemostáticas y el contenido residual de orina en el interior de la vejiga se obtuvo y cuantificó con una jeringa Hamilton.

Se compararon los datos obtenidos de orina residual en las vejigas de las hembras y de los machos. Se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) para la comparación estadística. La diferencia se consideró significativa cuando  $p < 0.05$ .

#### Experimento II (Análisis histológico de los músculos en estudio)

En este experimento se utilizaron 20 animales, 10 hembras y 10 machos, que fueron anestesiados con pentobarbital sódico (Anestesal, Smith Kline, México; 40 mg/kg de peso i.p.). De cada animal se obtuvieron los músculos en estudio, que fueron sometidos al procedimiento de la Hematoxilina-Eosina para analizar la composición de sus fibras. El procedimiento fue modificado siguiendo en parte la descripción de Lynch y cols., (1977).

Los cortes se hicieron con un grosor de 7-10  $\mu$ , y fueron observados en un microscopio de luz Olympus, para distinguir la existencia de fibras de músculo liso en las preparaciones. El músculo pubococcígeo, al igual que el iliococcígeo, fue distinguido en su mitad anterior y mitad posterior, tal como ha sido analizado en el humano (Gilpin y cols., 1989). El músculo bulboespongioso fue distinguido en sus partes medial y lateral (Hayes, 1965), también denominadas proximal y distal (Holmes y cols., 1991).

#### Experimento III (Conducta de micción)

Este experimento se realizó con dos procedimientos, utilizando hembras adultas ovariectomizadas y machos sexualmente expertos.

Las hembras fueron mantenidas en grupos de 5, en jaulas colectivas. Cuando fue requerido, se trataron hormonalmente para inducirles la receptividad sexual. Se les administró subcutáneamente 10  $\mu$ g de benzoato de estradiol 48 hrs antes de cada prueba conductual y 2 mg de progesterona 4 hrs antes de la misma. El benzoato de estradiol y la progesterona (Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA) fueron disueltos en aceite vegetal para poder ser administrados.



La experiencia sexual de los machos la adquirieron después de que se sometieron, durante dos semanas, a cuatro pruebas de entrenamiento de conducta sexual, considerando los criterios establecidos por Larsson (1956) y Lucio y cols., (1994).

La prueba conductual requirió de una arena de observación que consistía en una pecera (60 x 30 cm), dividida en su interior por una malla de plástico, formando dos compartimentos de 30 x 30 cm. La pecera estaba colocada sobre una base de fierro, que la mantenía suspendida 60 cm sobre el nivel de la mesa de observación. Debajo de la pecera, se encontraba un espejo, colocado en un ángulo de 45° con respecto al fondo, que permitía la observación de la parte ventral de los animales. Uno de los compartimentos, que era el utilizado por los machos experimentales, fue dividido en coordenadas para la ubicación espacial de las marcas de orina.

En el primer procedimiento, se utilizaron 25 hembras y 25 machos. Al inicio de la prueba, un macho fue colocado en el compartimento de la arena. Se le daba un período de adaptación de 5 minutos y después, en el otro compartimento, se colocaba a uno de cinco posibles estímulos: una hembra receptiva; una hembra no receptiva; un macho; alimento; o se dejó el compartimento vacío. La malla divisoria permitía al macho la visión, olfacción y audición, pero este no fue capaz de estar en contacto con el estímulo colocado debido a la malla de plástico. El tiempo de observación de los machos en la arena fue de 20 minutos. Se realizaron cinco pruebas a cada macho, cada prueba con un estímulo diferente. Este procedimiento desencadenó en los animales una serie de patrones conductuales, entre los que se cuenta un patrón ordenado de micción, que fue registrado en su frecuencia y localización dentro de la arena.

En el segundo procedimiento, donde se utilizaron 20 hembras y 40 machos, se realizaron cuatro pruebas a cada macho, una cada tercer día, en la misma pecera. Sin embargo, en este procedimiento el estímulo aplicado sólo fue la hembra receptiva. Posteriormente fueron sometidos a una cirugía, que consistió en la lesión bilateral del nervio pélvico (n=10); nervio hipogástrico (n=10); nervio pélvico + nervio hipogástrico (n=10); o cirugía control (n=10). Después de la cirugía, se realizaron cinco pruebas más, también utilizando como único estímulo a la hembra receptiva.

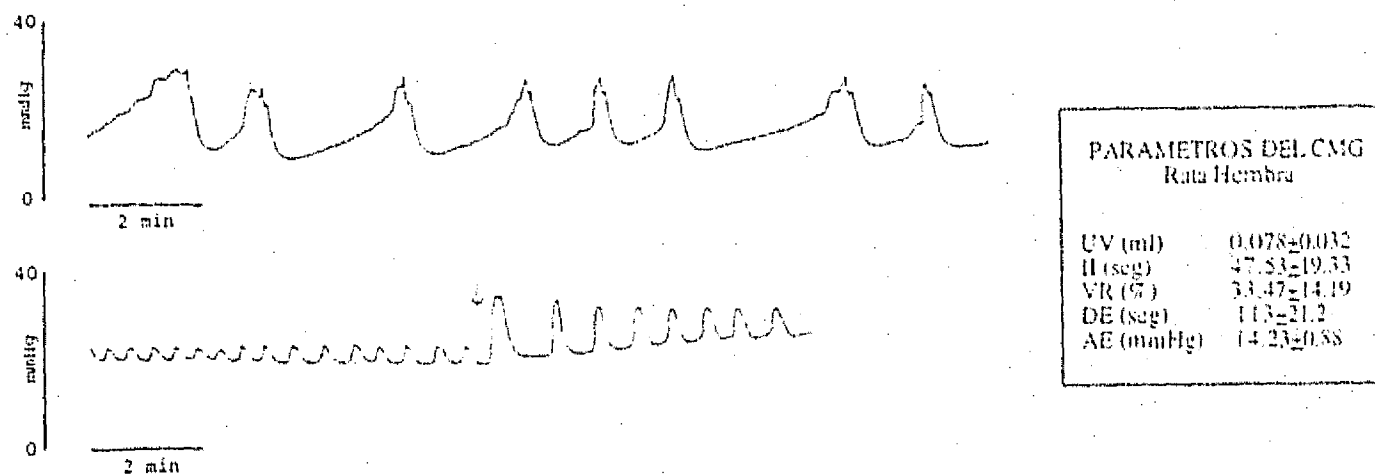
La comparación de las proporciones obtenidas se hizo con la Prueba Exacta de Fisher. La distancia de micción se comparó con el Análisis de Varianza y las olfacciones con la prueba de Kruskal-Wallis, seguida por la prueba de múltiple comparación de Dunn. Las diferencias se consideraron significativas cuando  $p < 0.05$ .

## RESULTADOS

### Experimento I

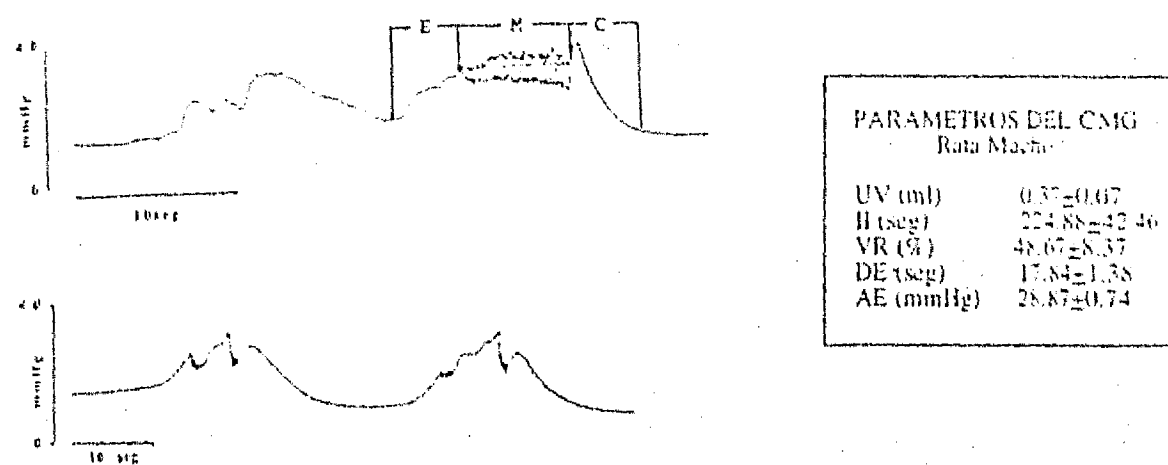
#### Cistometría

Los resultados obtenidos en este experimento muestran que existe una marcada diferencia en el cistometrograma de hembras y machos. En las hembras, la infusión de fluido en la vejiga produce oscilaciones periódicas de la presión intravesical, el vaciamiento se produce por goteo durante la contracción máxima de la vejiga (amplitud del evento), y no se desencadenan oscilaciones de alta frecuencia relacionadas con la expulsión de fluido (Fig. 10).



**Fig. 10** Registros de la presión intravesical (cistometrogramas) obtenidos en la rata hembra durante la infusión experimental de solución salina al interior de la vejiga. El registro superior muestra las oscilaciones en la presión cuando la infusión es de 0.1 ml/min. El registro inferior muestra las oscilaciones cuando el índice de infusión fue incrementado. Este último registro muestra también el efecto que el cierre experimental del meato urinario tiene sobre la contracción vesical (la flecha indica el momento en que se cierra el meato con pinzas hemostáticas). El cuadro muestra los parámetros del cistometrograma en hembras: UV=umbral de volumen (ml), II=intervalo intercontracciones (seg), VR=volumen residual (porcentaje), DE=duración del evento (seg), AE=amplitud del evento (mmHg). La DE y la AE están calculados en base a los registros con infusión de 0.1 ml/min.

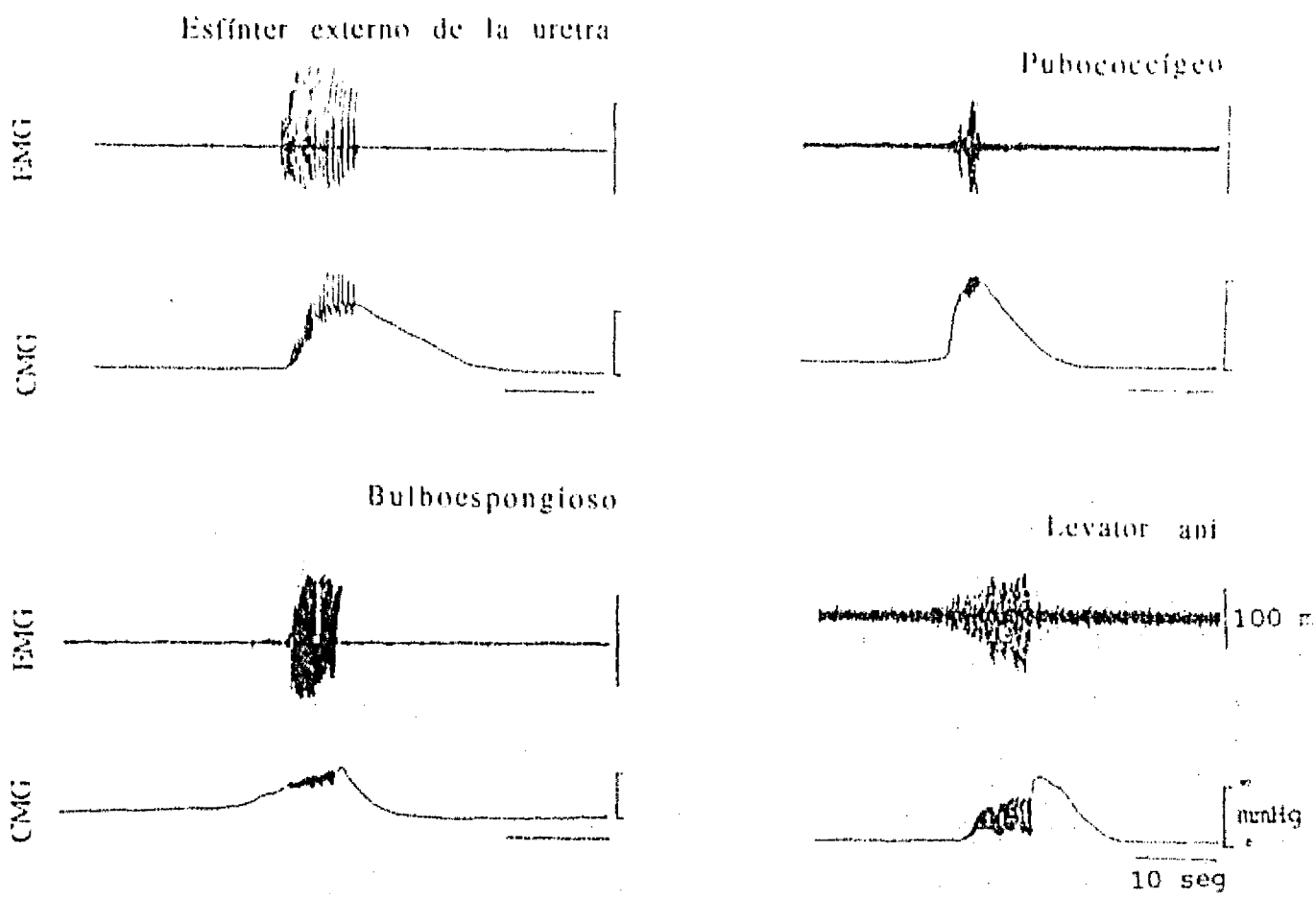
En los machos, la técnica de cistometría permitió registrar las tres fases del reflejo de micción. Estos registros presentan una figura similar a las reportadas en la literatura, que incluyen la fase de elevación, la fase de meseta y la fase de caída de la presión intravesical. En algunos casos, se observó que antes de las tres fases, se presentan ligeras oscilaciones en la presión intravesical. Estas oscilaciones son pequeños aumentos de presión, que pudieran ser necesarias para provocar la micción. Asimismo, se observó que el aumento en el índice de infusión provoca cambios en el registro de las fases del cistometrograma (Fig. 11).



**Fig. 11** Registros de la presión intravesical (cistometrogramas) obtenidos en la rata macho durante la infusión experimental de solución salina al interior de la vejiga. El registro superior muestra las oscilaciones en la presión cuando la infusión es de 0.1 ml/min. El registro inferior muestra las oscilaciones cuando el índice de infusión fue incrementado. En estos registros se observan las tres fases del reflejo de micción (E=fase de elevación, M=fase de meseta, C=fase de caída), las oscilaciones de alta frecuencia en la fase de meseta, y las pequeñas oscilaciones previas a las tres fases del reflejo en el registro superior. El registro inferior muestra dos grupos de oscilaciones de alta frecuencia en la fase de meseta, que resultan cuando se aumenta el índice de infusión al interior de la vejiga. El cuadro muestra los parámetros del cistometrograma en machos: UV=umbral de volumen (ml), H=intervalo intercontracciones (seg), VR=volumen residual (porcentaje), DE=duración del evento (seg), AE=amplitud del evento (mmHg). La DE y la AE están calculados en base a los registros con infusión de 0.1 ml/min.

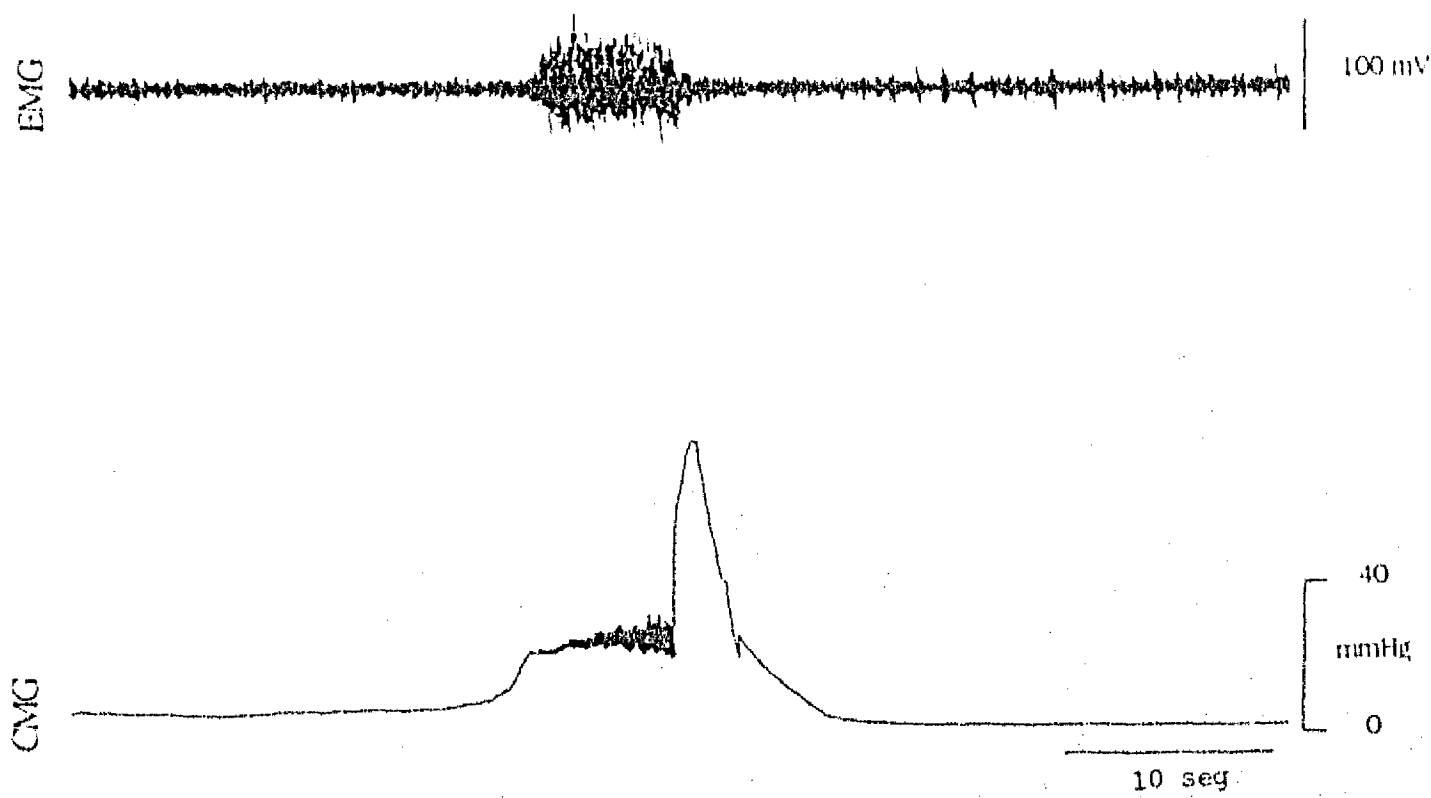
Los parámetros del cistometrograma, que se muestran en los cuadros de las Figs. 10 y 11, también son diferentes entre los sexos debido a las diferencias en el patrón del cistometrograma. A excepción de la duración del evento, todos los parámetros son menores en las hembras que en los machos. En las hembras, el umbral de volumen indica que se requiere menos cantidad de fluido para disparar la contracción vesical; las contracciones vesicales se dan con mayor frecuencia, por lo que el intervalo entre dos contracciones es menor; el fluido remanente es un porcentaje bajo con respecto al umbral de volumen; y la amplitud del evento muestra que la tensión de la contracción vesical es menor en comparación con los machos. A pesar del valor comparativo en la amplitud del evento, la duración de la onda de contracción es mayor en las hembras que en los machos, lo que indica que la elevación y caída de la tensión vesical se da más lentamente en la vejiga de la hembra, aunque con una tensión baja. En el macho, por el contrario, las fases de elevación, meseta y caída se dan rápidamente, pero con una tensión de contracción mayor.

En otro grupo de experimentos, utilizando solamente machos, se realizaron los cistometrogramas simultáneos con el registro electromiográfico de los músculos en estudio. Los registros que se obtuvieron muestran que la mayoría de estos músculos se activan cuando la vejiga presenta una máxima contracción. Asimismo, se observó que la activación de estos músculos correspondió a la expulsión de fluido a través del meato urinario. La Fig. 12 muestra que los músculos activados son el esfínter externo de la uretra, pubococcigeo, bulboespongioso y levator ani.



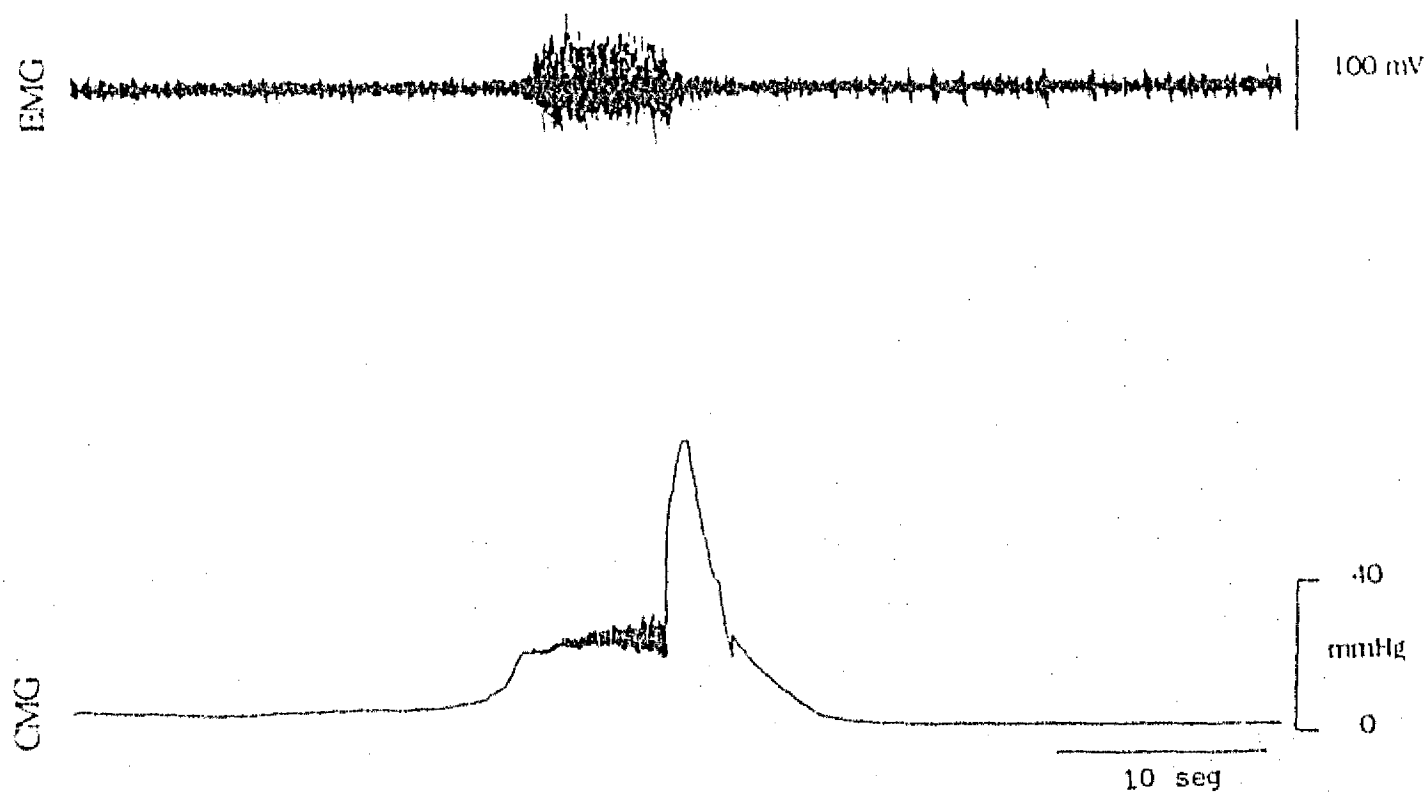
**Fig. 12** Registro simultáneo del cistometrograma y electromiograma de los músculos esfínter externo de la uretra (figura superior izquierda), pubococcígeo (figura superior derecha), bulboespongioso (figura inferior izquierda) y levator ani (figura inferior derecha). Todos los músculos presentaron actividad simultáneamente con las oscilaciones de alta frecuencia. Esta actividad se correlacionó con la expulsión de fluido.

Por otro lado, la cistometría y electromiografía simultánea, se realizó en preparaciones con cavidad abdominal expuesta o con la cavidad cerrada. Todos los registros mostrados en la Fig. 12, corresponden a preparaciones con la cavidad abierta. Sin embargo, cuando la cavidad abdominal se encuentra cerrada, se presenta un aumento considerable en la presión al final de las oscilaciones de alta frecuencia (Fig. 13).



**Fig. 13** Registro simultáneo de la presión intravesical y de la actividad electromiográfica del músculo bulboespongioso, durante cistometrogramas con la cavidad abdominal cerrada. Se observa que este músculo muestra actividad durante la fase de meseta del reflejo de inyección, correlacionada con la expulsión de fluido. El registro muestra un aumento considerable de la presión después de las oscilaciones de alta frecuencia

Por otro lado, la cistometría y electromiografía simultánea, se realizó en preparaciones con cavidad abdominal expuesta o con la cavidad cerrada. Todos los registros mostrados en la Fig. 12, corresponden a preparaciones con la cavidad abierta. Sin embargo, cuando la cavidad abdominal se encuentra cerrada, se presenta un aumento considerable en la presión al final de las oscilaciones de alta frecuencia (Fig. 13).



**Fig. 13** Registro simultáneo de la presión intravesical y de la actividad electromiográfica del músculo bulboespongioso, durante cistometrogramas con la cavidad abdominal cerrada. Se observa que este músculo muestra actividad durante la fase de meseta del reflejo de micción, correlacionada con la expulsión de fluido. El registro muestra un aumento considerable de la presión después de las oscilaciones de alta frecuencia



La duración de las oscilaciones de alta frecuencia durante la fase de meseta del cistometrograma en los machos fue de  $6.53 \pm 0.25$  segundos. La frecuencia de estas oscilaciones es de aproximadamente 8 Hz. La duración de los electromiogramas de los músculos registrados, se correlaciona directamente con la duración de las oscilaciones de alta frecuencia tanto en tiempo como en frecuencia. Así, a pesar de que el volumen de fluido en el interior de la vejiga empieza a decrementar desde el inicio de las oscilaciones de alta frecuencia, el tiempo de las oscilaciones y del electromiograma permanece constante (Fig. 14).

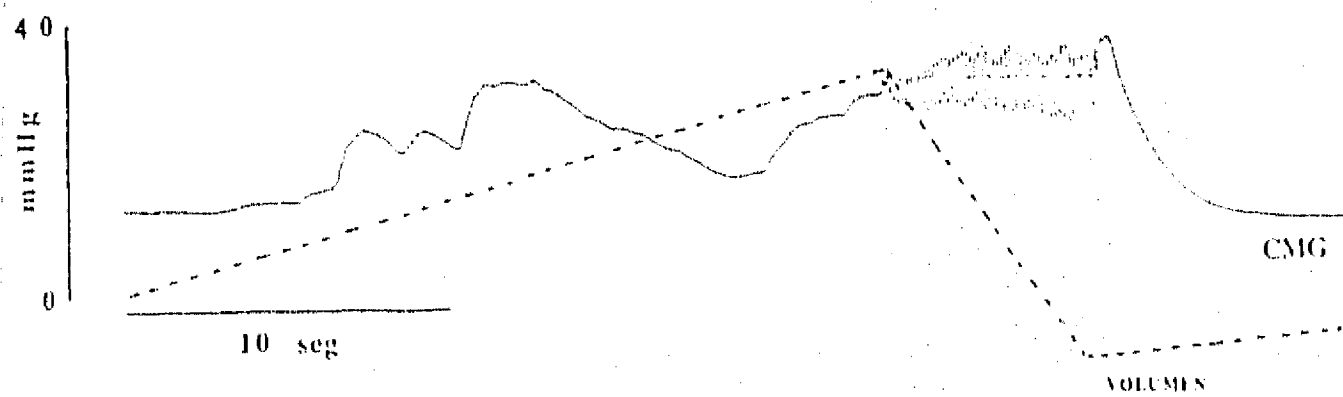
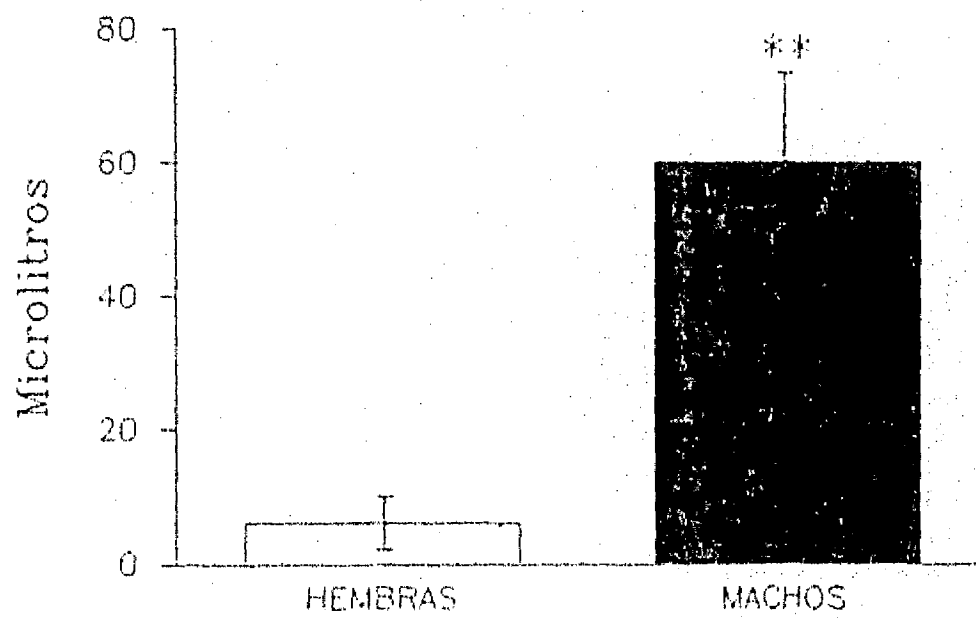


Fig. 14 Volúmen de fluido en el interior de la vejiga antes, durante y después de las oscilaciones de alta frecuencia del cistometrograma (CMG). Pese a la disminución intravesical de fluido durante las oscilaciones, la duración y frecuencia permanecen constantes.

### Orina Residual

Después de inducir la micción por estrés, los animales intactos o normales, mostraron un marcado dimorfismo sexual en cuanto a la cantidad de orina retenida en la vejiga (Fig. 15). La vejiga de los machos retiene una cantidad significativamente mayor de orina que la de la hembra ( $F(1,19) = 15.63, p < 0.01$ ).



**Fig. 15** Comparación de la cantidad de orina residual mantenida en la vejiga de animales normales, después de una micción inducida por estrés. Las barras muestran la media  $\pm$  el error estándar. \*\* =  $p < 0.01$

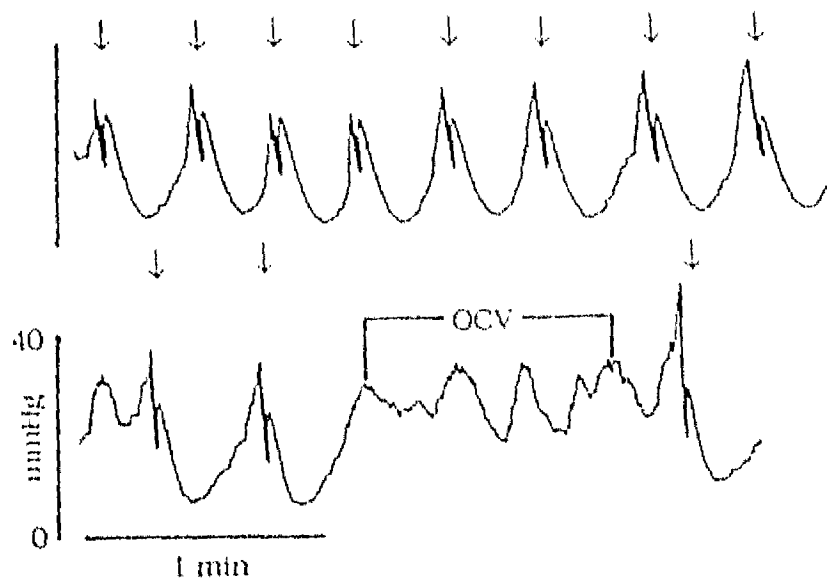
Con respecto a la orina residual después de la denervación de los músculos, se observó que la denervación del esfínter externo de la uretra y del músculo bulboespongioso, produce la acumulación excesiva de orina en la vejiga, indicando problemas en el vaciamiento. Estos resultados se correlacionan tanto en experimentos crónicos (inducción de micción por estrés) como en agudos (inducción de micción por la cistometría).

El grupo de sujetos manipulados en el músculo pubococcigeo, mostró resultados notables. Los parámetros del CMG de sujetos intactos y de aquellos con denervación del músculo pubococcigeo, no presentaron diferencias significativas (Tabla II). La estimulación directa del pubococcigeo (5-10 Hz, 2U, en el pubococcigeo anterior) durante los CMG, que no produjo variaciones significativas en los valores de los parámetros, resultó en la aparición regular, entre dos contracciones de micción continuas, de ondas de incremento en la presión intravesical que no desencadenaron el reflejo de la micción (Fig. 16). De acuerdo a esto, el efecto de la estimulación del pubococcigeo sobre los parámetros del CMG durante la infusión continua, parecía estar enmascarado por la actividad de los otros músculos durante la micción.

Tabla II. Parámetros del Cistometrograma

	Machos Intactos	Machos Denervados*
Umbral de Volumen (ml)	0.37±0.07	0.38±0.16
Intervalo Intercontracciones (seg)	187.44±25.73	120±21.33
Volumen Residual (%)	48.67±8.37	57.1±8.09

\*= denervación bilateral del músculo pubococcigeo. No hay diferencias estadísticas significativas



**Fig. 16** Efecto de la estimulación directa del músculo pubococcígeo sobre el cistometrograma de la rata macho. El trazo superior muestra la ritmicidad de los reflejos de micción durante la infusión continua de solución salina a la vejiga. El trazo inferior muestra la aparición de ondas de contracción vesical (OCV) entre dos reflejos, que aparecen cuando el músculo pubococcígeo se estimula directamente (2U, 5-10 Hz). Las flechas indican la presencia de oscilaciones de alta frecuencia en la fase de meseta, que estuvieron relacionadas con la expulsión de fluido.

El posible enmascaramiento dado por los otros músculos, fue eliminado utilizando animales profundamente anestesiados. En estos sujetos sólo se registró una onda de contracción-relajación del músculo detrusor. La estimulación del pubococcígeo anterior (1-5 Hz, 2U por 5 min) bloqueó inmediatamente la contracción del detrusor. Los estímulos de 1 y de 5 Hz fueron efectivos para producir el bloqueo, aunque después de 10 minutos de retirado el estímulo sólo las preparaciones a 1 Hz mostraron nuevamente contracciones del detrusor, aproximadamente 7 min después de retirado el estímulo (Fig. 17).

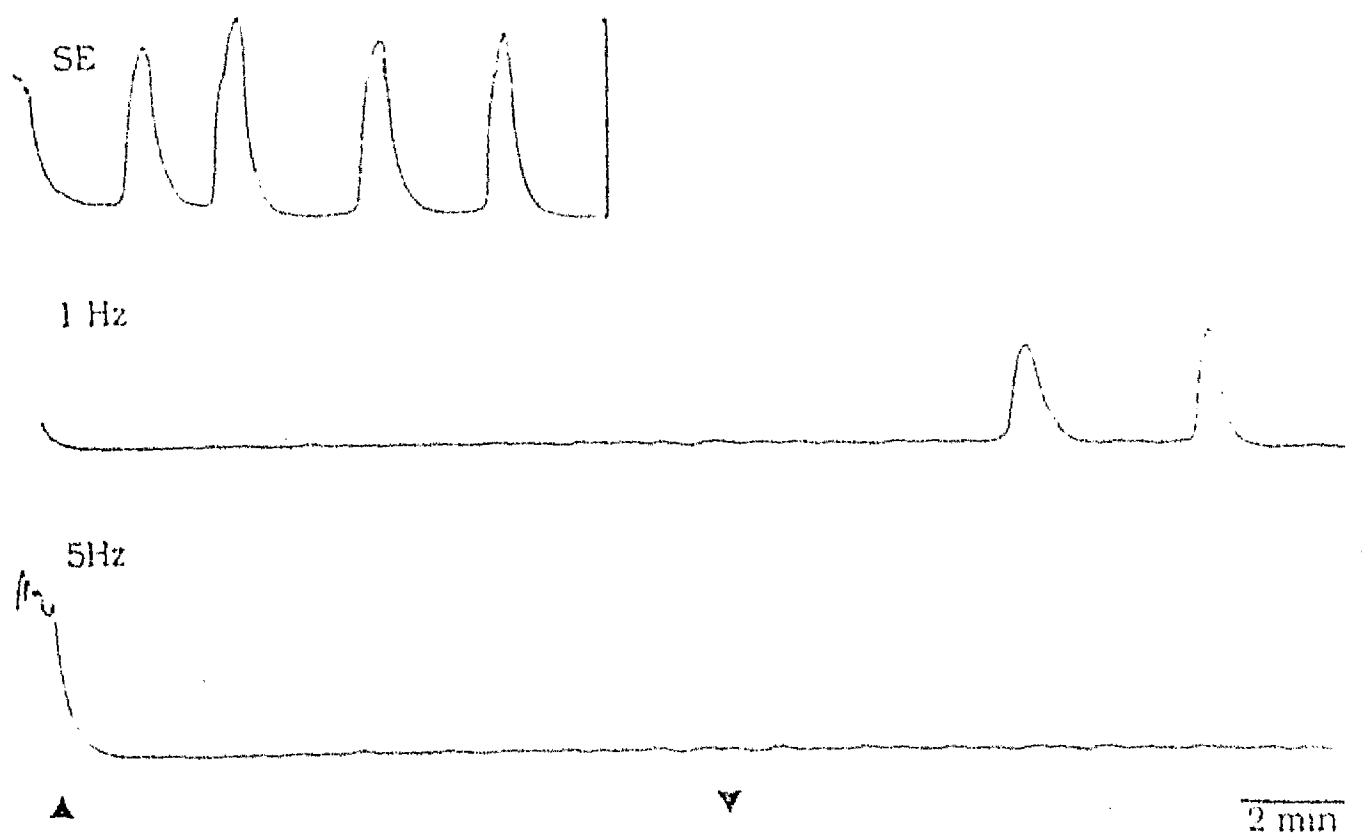
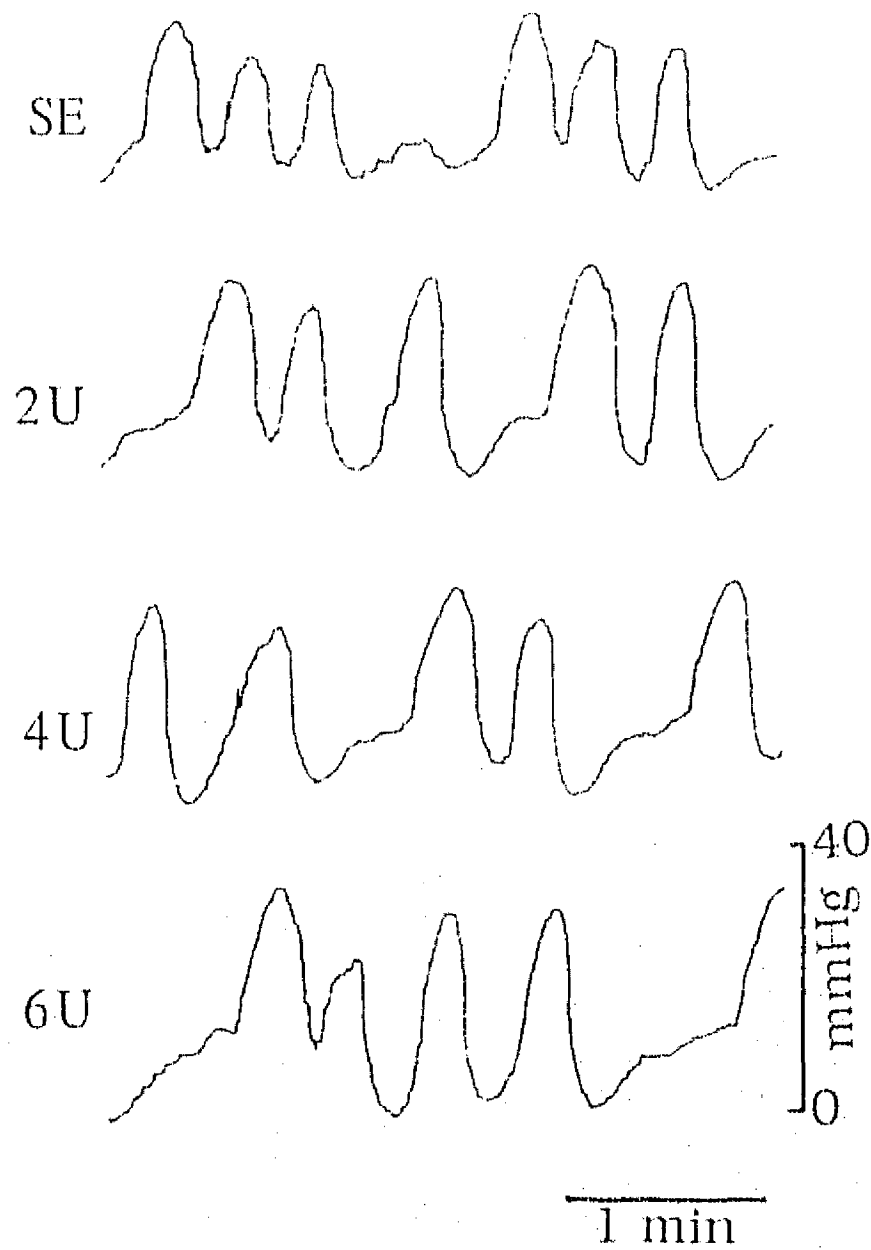


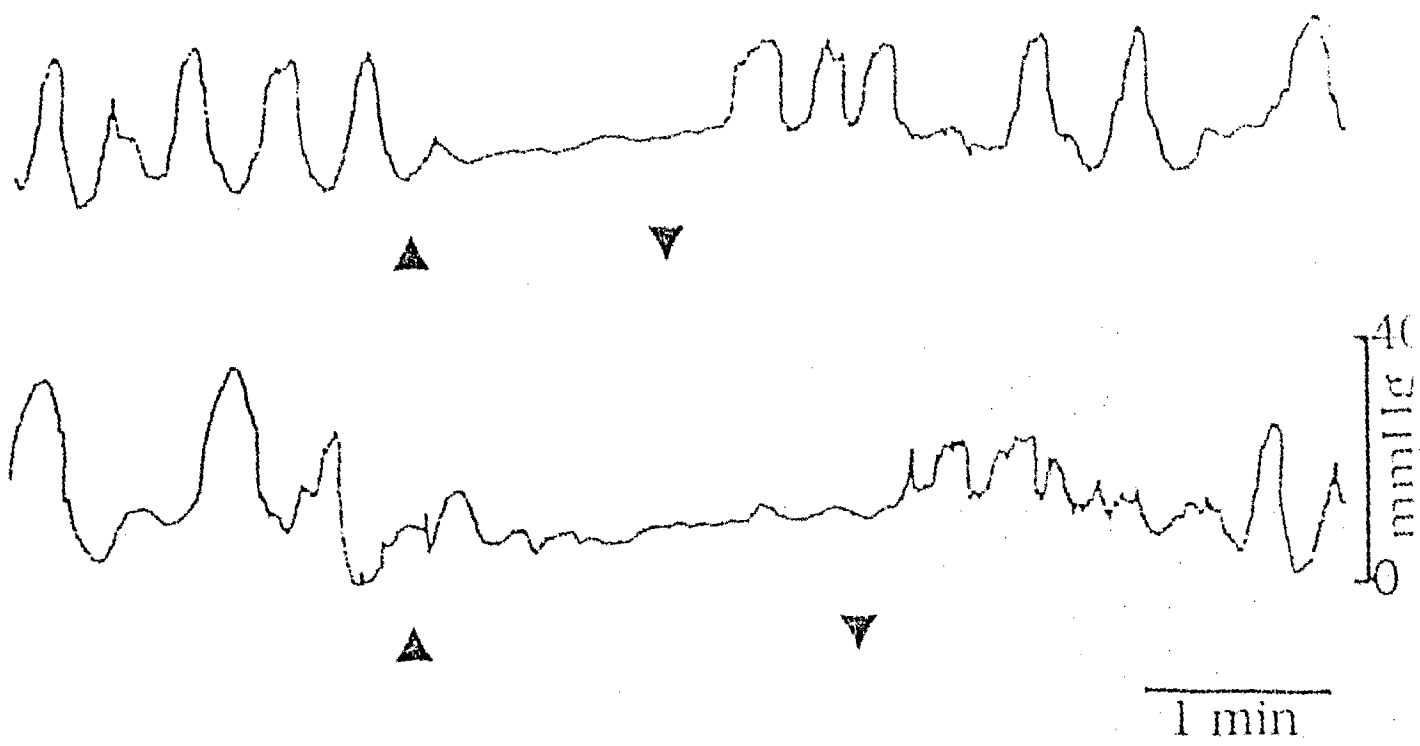
Fig. 17 Efecto de la estimulación directa del músculo pubococigeo anterior sobre la contracción del músculo detrusor de la vejiga. SE=sin estímulo, 1 Hz= frecuencia del estímulo 2U, 5 Hz= frecuencia del estímulo 2U. ▲= inicio del estímulo, ▼= retiro del estímulo.

Con el objeto de evitar la manipulación de la vejiga al estimular el pubococigeo anterior, la mayoría de los experimentos fueron realizados estimulando el pubococigeo posterior. Los estímulos con una intensidad de 2-6U y una frecuencia de 1-8 Hz, no influyeron en el registro de la presión intravesical (Fig. 18). Sin embargo, la estimulación del pubococigeo posterior a 10 Hz-8U bloqueó la onda de contracción del detrusor en todas las preparaciones (Fig. 19). La amplificación de los registros en estas preparaciones, mostró que durante el periodo de inhibición, aún se pueden observar algunas oscilaciones de pequeña magnitud en la presión

intravesical (Fig. 20). En estos experimentos, no se observaron cambios en la presión intravesical relacionados con la actividad contráctil del músculo pubococcígeo, aún si la intensidad del estímulo era incrementada gradualmente hasta los 12U (Fig. 21). En esta última preparación, se observó nuevamente la inhibición post-estímulo del músculo detrusor, registrada cuando se estimuló el pubococcígeo anterior.



**Fig. 18** Registro de la contracción del músculo detrusor de la vejiga en ausencia (SE) y presencia de un estímulo de 8 Hz a diferentes intensidades (2U, 4U y 6U). Ninguno de estos estímulos influyó sobre la onda de contracción vesical.



**Fig. 19** Efecto de la estimulación directa del músculo pubococcigeo posterior (10 Hz, 8U) sobre la contracción del músculo detrusor de la vejiga. La figura muestra dos ejemplos con periodos de estimulación diferentes. ▲= inicio del estímulo, ▼= retro del estímulo.

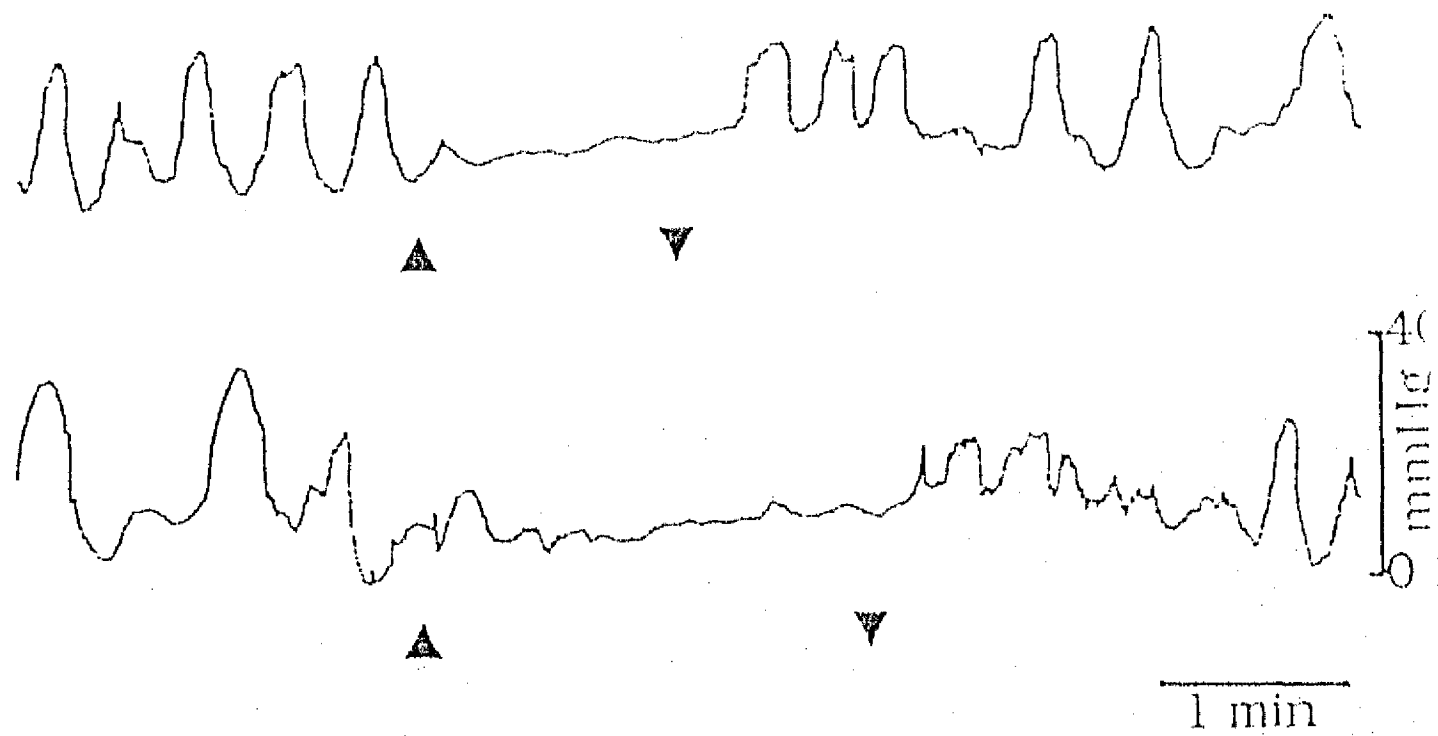
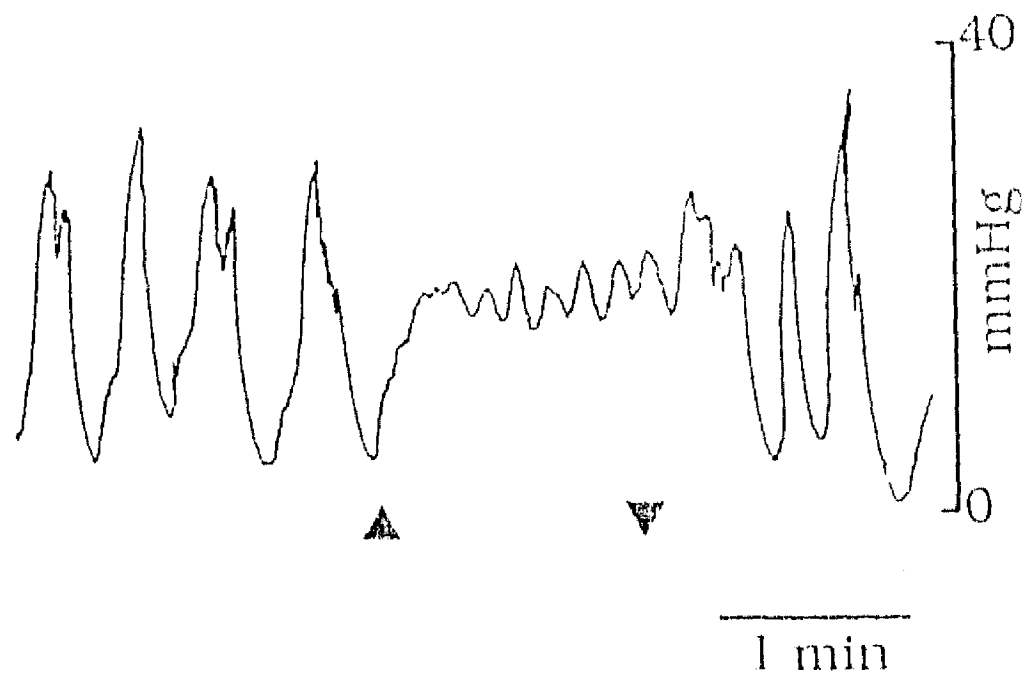
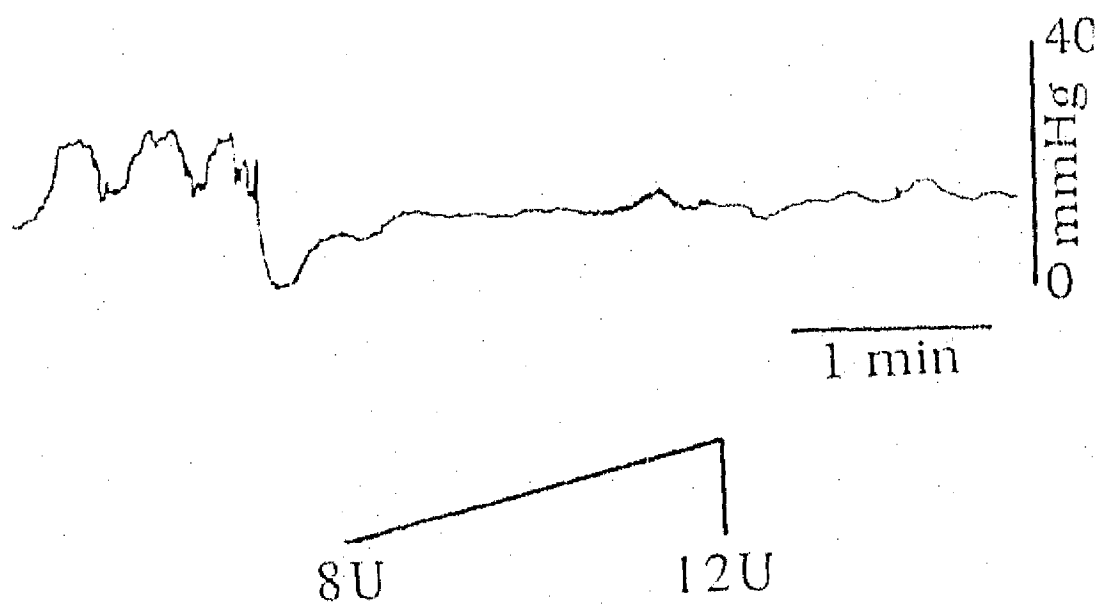


Fig. 19 Efecto de la estimulación directa del músculo pubococcigeo posterior (10 Hz, 8U) sobre la contracción del músculo detrusor de la vejiga. La figura muestra dos ejemplos con periodos de estimulación diferentes. ▲= inicio del estímulo. ▼= retro del estímulo.





**Fig. 20** Efecto de la estimulación directa del músculo pubococcigeo posterior (10 Hz, 8U) sobre la contracción del músculo detrusor de la vejiga. La figura muestra una representación amplificada del periodo inhibitorio en la contracción vesical. ▲ = inicio del estímulo, ▼ = retiro del estímulo.



**Fig. 21** Efecto de la estimulación directa del músculo pubococcigeo posterior (10 Hz, 8U) sobre la contracción del músculo detrusor de la vejiga. La intensidad del estímulo se incrementó gradualmente de 8 a 12U. No se observa ningún efecto sobre la presión intravesical, pero sí la inhibición del detrusor durante y después del estímulo.

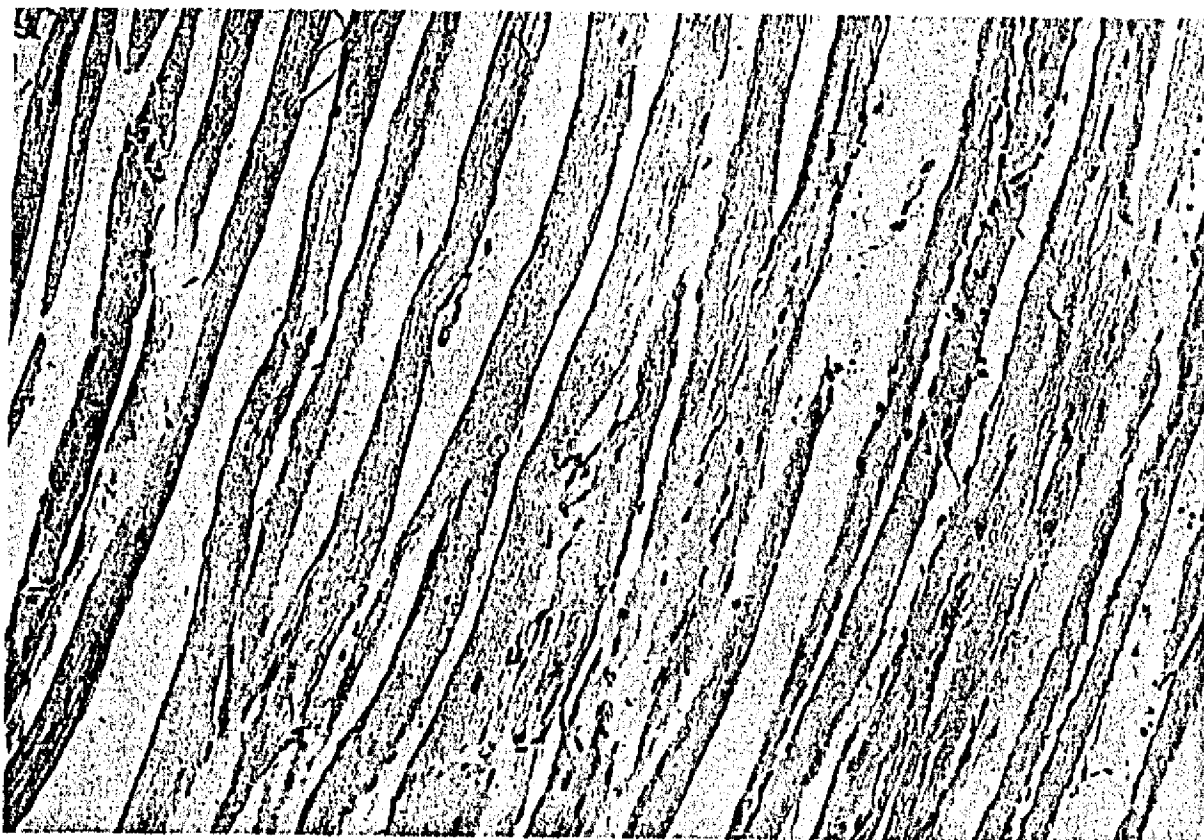
## Experimento II

### Análisis histológico de músculos

El análisis histológico muestra que los músculos en estudio están constituidos por fibras estriadas. La Fig. 22 muestra una fotografía de las fibras del músculo pubococcígeo.

La sección transversal del esfínter externo de la uretra, muestra que tiene una estructura ligeramente aplanada en sentido dorsoventral. En la parte dorsal y ventral del músculo, las partes aplanadas, presenta un sistema de rafé. De uno de estos sistemas al otro, las fibras corren formando haces musculares en forma de media luna, que dan la estructura tubular al esfínter. Así, el esfínter externo de la uretra está formado por dos paquetes semicirculares o mitades de fibras musculares, unidos en la línea media dorsal y ventral del esfínter. Estas fibras son de musculatura estriada (Fig. 23).

En la sección longitudinal del esfínter, se observan del exterior al interior, una capa de fibras estriadas longitudinales que corren en la parte externa del músculo, los campos de Cohnheim de las fibras estriadas que conforman la mayor parte del esfínter, una capa de músculo liso adosada a la superficie externa de la uretra y la pared de la uretra (Fig. 24).



100 X

Fig. 22 Histología del músculo pubococcigeo. Se observa que el músculo presenta fibras estriadas con una disposición longitudinal.



40 X



100 X

Fig. 23 Corte transversal del esfínter externo de la uretra. Se observan las estructuras en forma de rafe, en las caras dorsal y ventral del esfínter. Las fibras forman haces musculares en forma de media luna, lo que da la estructura circular.



Fig. 24 Corte longitudinal del esfínter externo de la uretra. Las fotografías muestran las características del esfínter desde su capa externa (E) hasta la luz de la uretra (L). En la fotografía superior se observa una capa externa de fibras estriadas longitudinales (FEL), una capa de fibras estriadas semicirculares que conforman el cuerpo del esfínter y que aquí se observan seccionadas transversalmente (FES), una capa delgada de fibras lisas (FL) y una porción del cuerpo de la uretra (CU). En la fotografía inferior no se observan las FEL, pero sí se observan las demás capas, siendo la capa de FL más aparente que en la fotografía superior.

### Experimento III

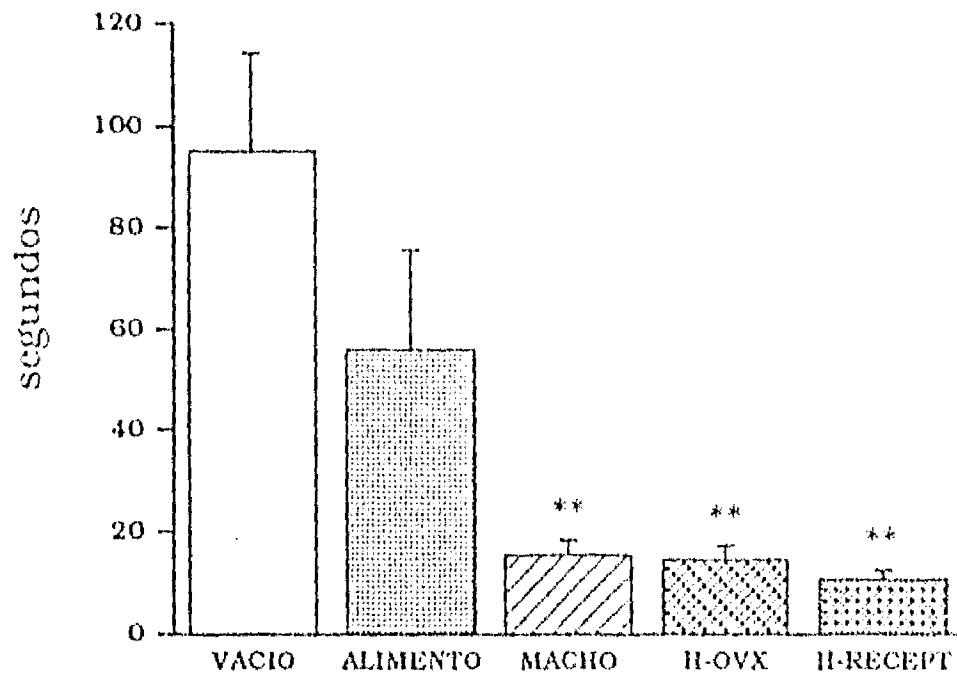
#### Conducta de micción

Los resultados de este experimento, muestran que los machos expelen orina y olfatean ante cualquier estímulo. Sin embargo, la presencia de cualquier animal disminuye la latencia a la primera olfacción y aumenta significativamente el número de olfacciones (Fig. 25). Asimismo, la presencia de una hembra en estro aumenta la frecuencia de expulsión de orina, además de que concentra la expulsión de orina en un área cercana al compartimento de la hembra (Fig. 26). Los machos presentaron también una alta expulsión de bolos fecales, pero dispuestos irregularmente en la arena.

Considerando que la hembra en estro constituye un estímulo efectivo para desencadenar la conducta de micción en los machos, en el segundo procedimiento de este experimento, donde los machos fueron sometidos a una cirugía para la lesión de nervios, los resultados muestran que todos los machos ejecutaron tanto la conducta de olfacción (Fig. 27) como la de micción (Fig. 28), ésta última a una distancia determinada de la malla divisoria, independientemente de que fueran intactos u operados.

La distancia de micción para machos intactos fue de  $12.69 \pm 0.54$  cm; para machos con sección de la rama viscerocutánea del nervio pélvico fue de  $12.28 \pm 0.91$  cm; para machos con sección del nervio hipogástrico fue de  $12.13 \pm 0.66$  cm; para machos con sección combinada de la rama viscerocutánea del nervio pélvico y del nervio hipogástrico fue de  $7.2 \pm 2.04$ ; y para machos con cirugía control fue de  $10.54 \pm 0.84$  cm. Ninguno de estos resultados presentó una diferencia estadística significativa, de acuerdo al análisis de varianza. Así, el rango dentro de la arena en que se observa esta conducta va aproximadamente de los 5 a los 13 cm.

LATENCIA A LA PRIMERA OLFACION (n=25)



NUMERO DE OLFACIONES (n=25)

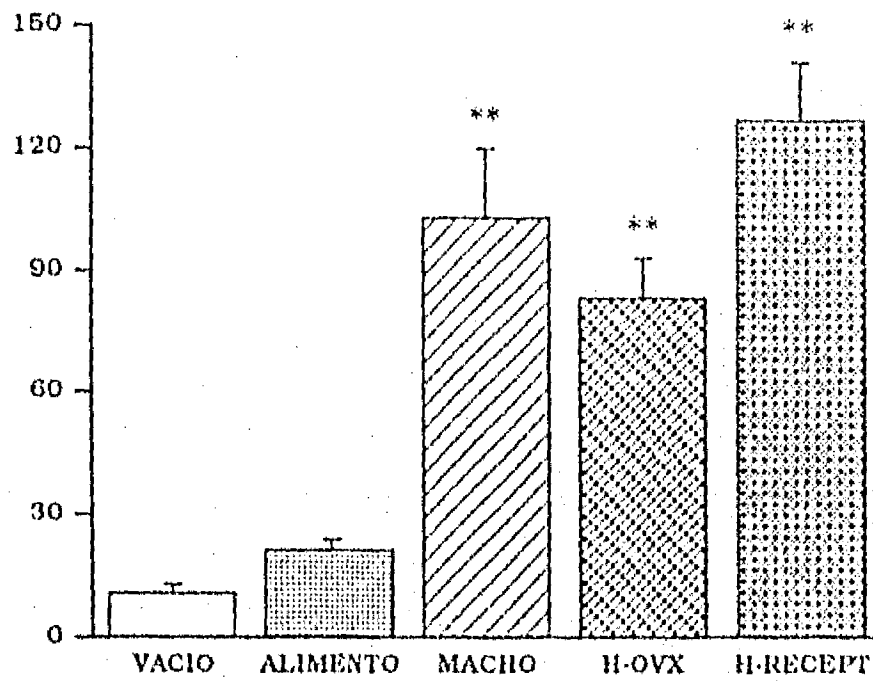
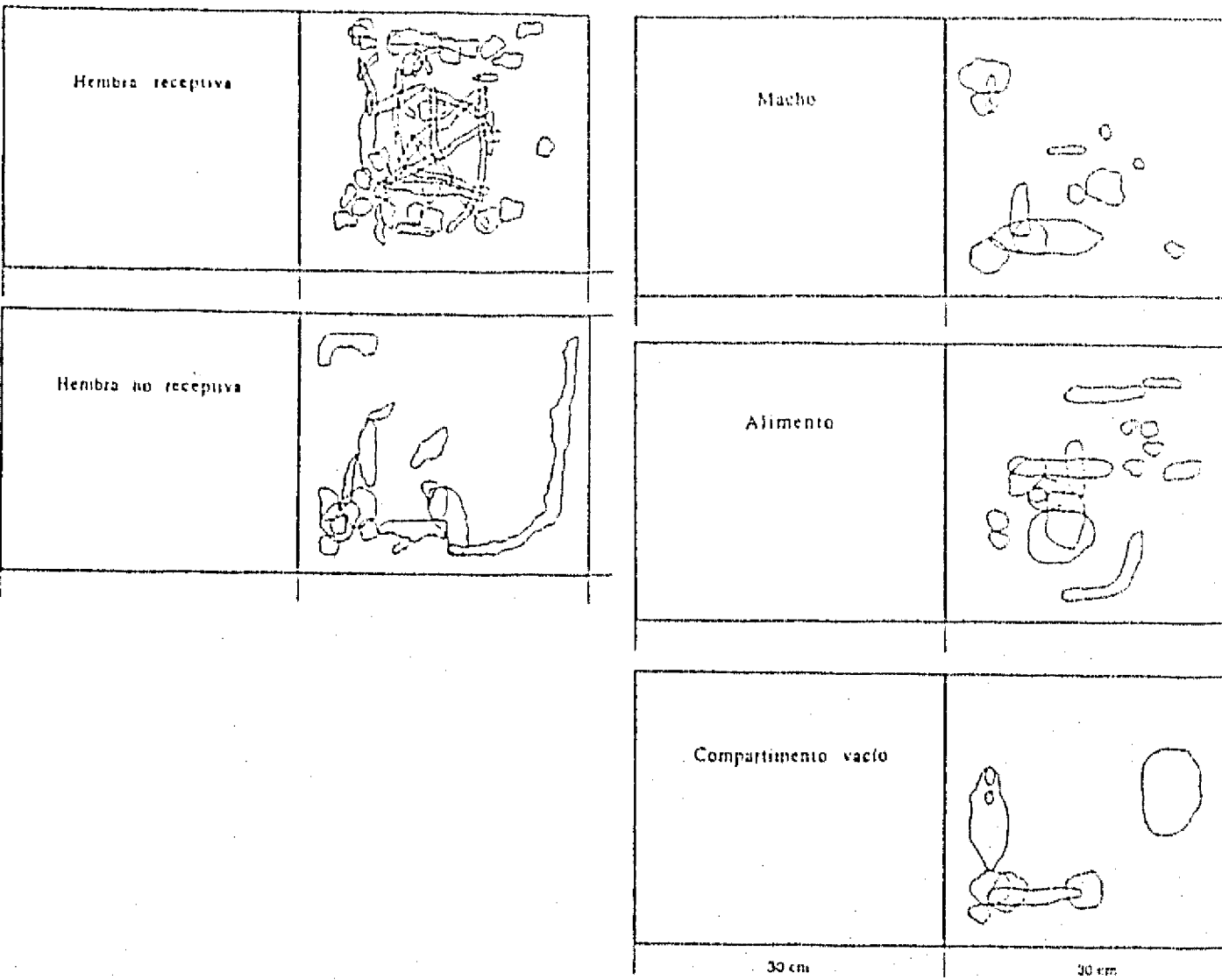


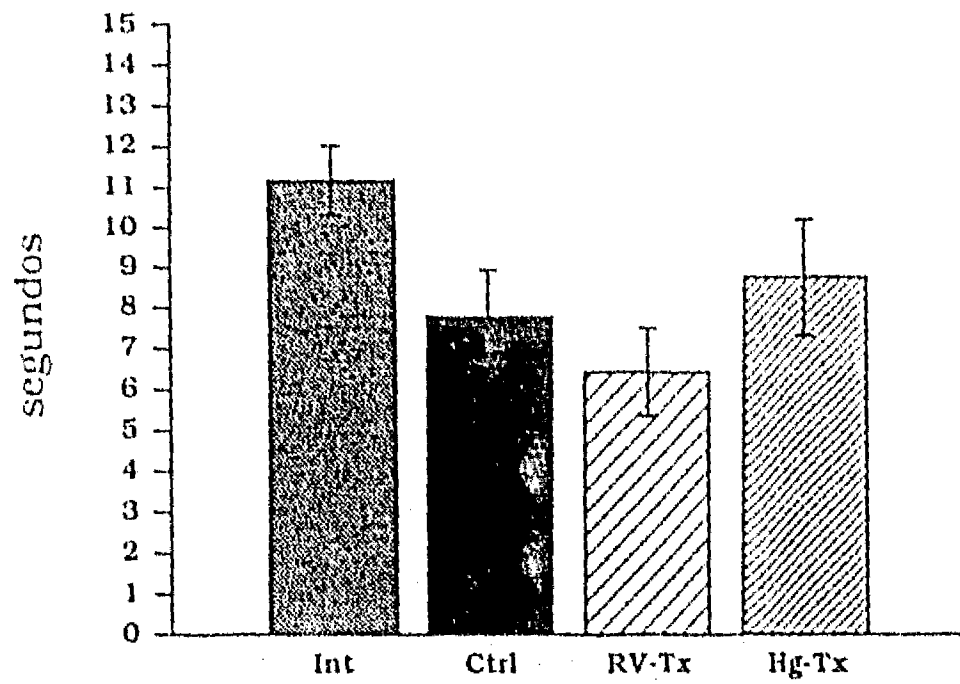
Fig. 25 Gráficas que muestran la latencia a la primera olfacción (en segundos) y el número de olfacciones presentados por machos sexualmente expertos ante la presencia de diferentes estímulos. H-OVX= hembra ovariectomizada; H-RECEPT=hembra ovariectomizada con receptividad inducida. \*\*= $p < 0.01$ .



**Fig. 26** Esquema representativo de la expulsión de orina producida por machos sexualmente expertos, ante la presencia de diversos estímulos. El rectángulo representa la arena, y la doble línea en el centro representa la malla divisoria. La figura muestra la localización de las marcas de orina de todos los machos probados. El compartimento de las hembras no mostró ningún patrón apreciable de expulsión de orina.



### LATENCIA A LA PRIMERA OLFACION



### NUMERO DE OLFACIONES

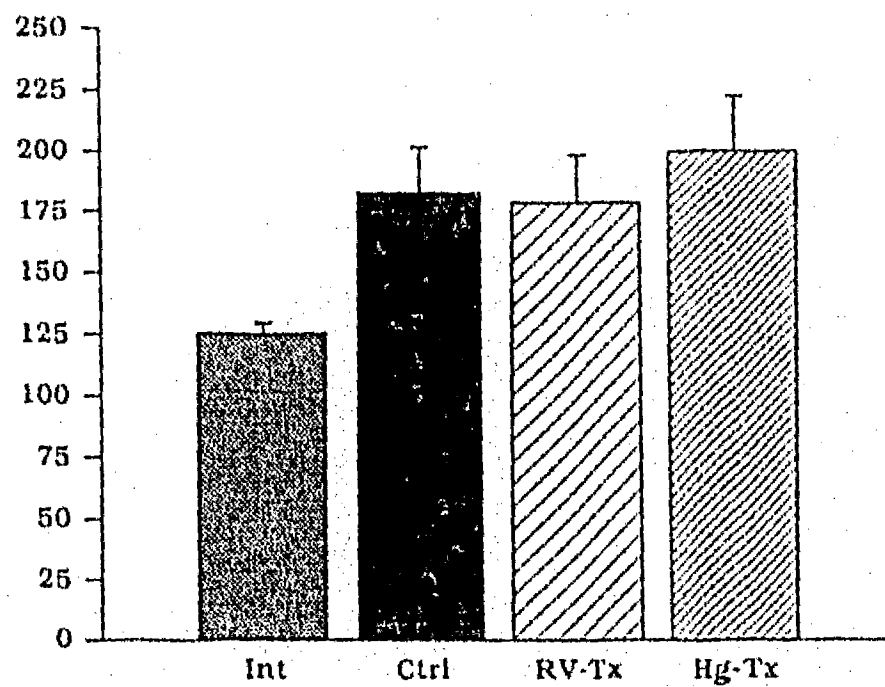


Fig. 27 Gráficas que muestran la latencia a la primera olfacción (en segundos) y el número de olfacciones presentados por machos sexualmente expertos ante la presencia de una hembra ovariectomizada con receptividad inducida. Las barras muestran la respuesta de machos Intactos (Int), con cirugía control (Ctrl), con lesión de la rama viscerocutánea del nervio pélvico (RV-Tx), o con lesión del nervio hipogástrico (Hg-Tx). A pesar de las variaciones, ninguna barra presentó diferencias estadísticamente significativas.

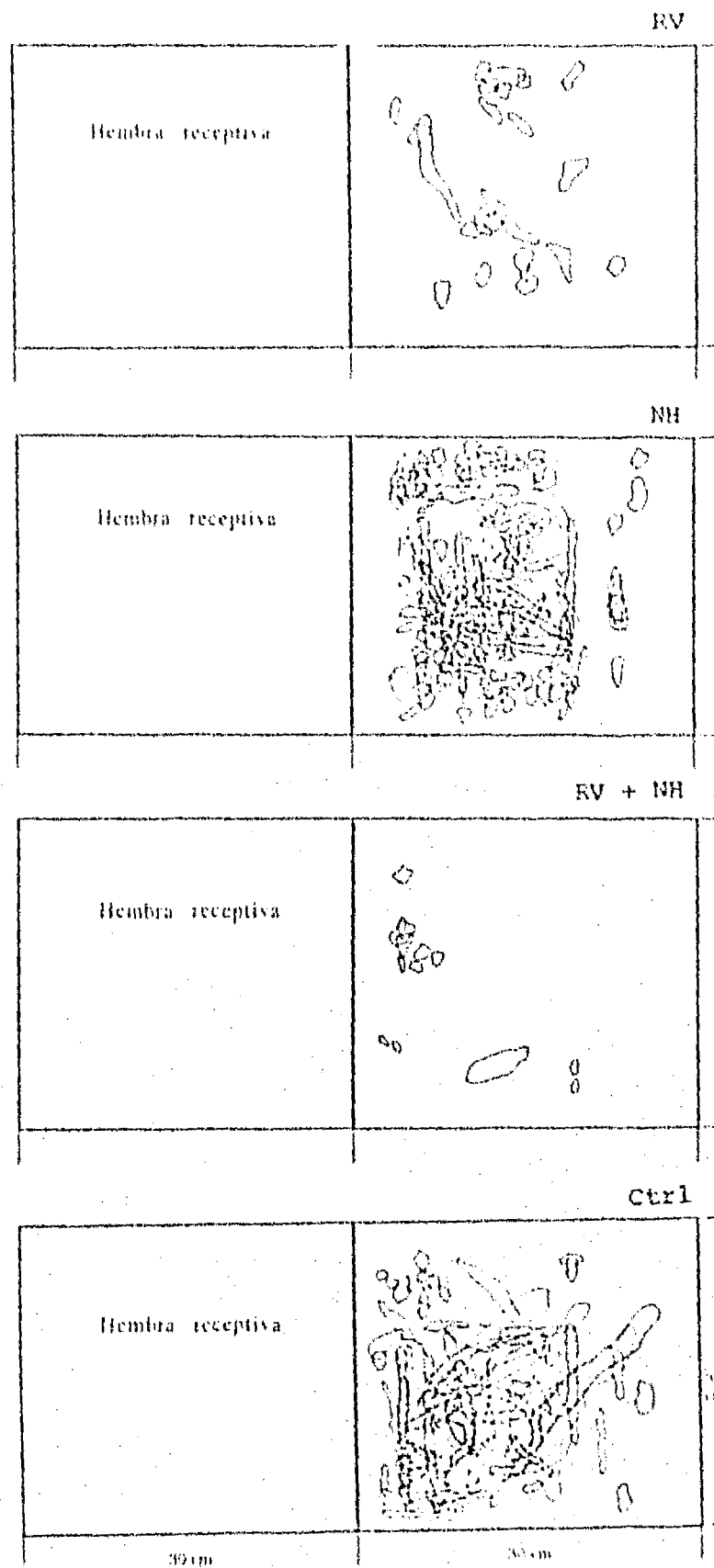
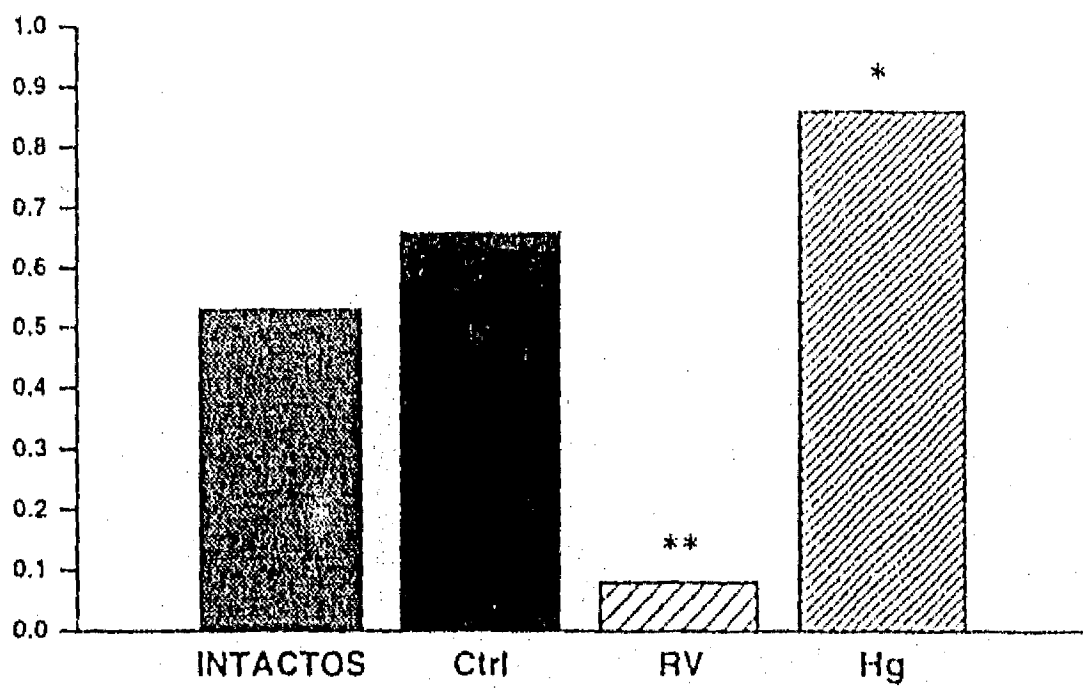


Fig. 28 Esquema representativo de la expulsión de orina producida por machos sexualmente expertos, después de que fueron sometidos a la sección bilateral de la rama viscerocutánea del nervio pélvico (RV), o del nervio hipogástrico (NH), o de la sección combinada de RV + NH, o de animales controles (Ctrl). En todos los casos, los machos estuvieron ante la presencia de una hembra en estro. El rectángulo representa la arena, y la doble línea en el centro representa la malla divisoria. La figura muestra la localización de las marcas de orina de los machos.

El 62.5% de los machos intactos presentaron la conducta de micción en más de la mitad de las pruebas, mientras que el 27.5% presentó esta conducta en menos de la mitad, y el 10% no presentó esta conducta en ninguna prueba.

Después de realizar la cirugía, los machos con sección bilateral de la rama viscerocutánea del nervio pélvico, y los que tenían esta lesión más la sección del nervio hipogástrico, mostraron un decremento altamente significativo en la proporción de pruebas en las que mostraron la conducta de micción, en comparación con los machos con cirugía control ( $P < 0.01$  en ambos casos, prueba exacta de Fisher) (Fig. 29). Los machos con sección del nervio hipogástrico, mostraron un aumento significativo de esta conducta ( $P < 0.05$ , prueba exacta de Fisher, comparados con sus controles) (Fig. 29).



**Fig. 29** Proporción de pruebas en la que los machos presentaron conducta de micelón. Los grupos que incluyeron a machos con cirugía de la rama viscerocutánea del nervio pélvico (RV) mostraron un decremento altamente significativo en la conducta de micelón, en comparación con los controles (Ctrl). Los machos con sección del nervio hipogástrico (Hg) presentaron un incremento significativo de esta conducta. \* =  $p < 0.05$ ; \*\* =  $p < 0.01$ .

## DISCUSION

Los datos obtenidos en la presente tesis permiten hacer cuatro conclusiones fundamentales. 1) que sólo los machos presentan actividad de músculo estriado durante la fase de meseta del reflejo de micción. Los músculos que muestran actividad son el esfínter externo de la uretra, el pubococcígeo, el bulboespongioso y el levator ani. De acuerdo a la disposición anatómica de estos músculos en el área pélvica, el esfínter externo de la uretra, el bulboespongioso y el levator ani, influyen en el movimiento de fluido en los dos tercios distales de la uretra. El músculo pubococcígeo, como se concluye más adelante, promueve la continencia. 2) que los machos exhiben una conducta de micción característica en respuesta a estímulos específicos, como lo es una hembra en estro, mientras que las hembras no muestran esta conducta. Considerando que esta evacuación de orina está regulada voluntariamente, los datos apoyan la evidencia conductual al mostrar que sólo los machos presentan actividad muscular en las preparaciones experimentales agudas, actividad que probablemente participa en el control voluntario de la continencia y la micción, además de que también sólo los machos presentan orina residual después de inducir la micción por estrés, orina que puede estar representando un remanente crucial para la expresión de la conducta de micción. 3) que el músculo pubococcígeo participa en la promoción de la continencia urinaria. Se propone que esta participación no está dada por la actividad mecánica del músculo sobre el tracto urinario inferior, sino que la actividad de este músculo activa a sus aferentes (de husos musculares u órganos tendinosos), que a nivel espinal pueden producir la inhibición de las vías autónomas eferentes que provocan la contracción del detrusor (vías del nervio pélvico) o la activación de las vías autónomas eferentes que

promueven la continencia (vías del nervio hipogástrico). 4) que de todos los músculos estudiados, sólo el esfínter externo de la uretra presenta fibras de músculo estriado y liso, siendo más abundantes las primeras. Sin embargo, los dos tipos de fibras se encuentran organizadas por regiones claramente identificables que no se encuentran entremezcladas.

Estas conclusiones se discuten más ampliamente considerando el planteamiento realizado en cada una de las hipótesis propuestas.

#### Hipótesis 1.

*La continencia urinaria y la expulsión de orina en la rata involucra la participación de varios músculos estriados de la pelvis, cuya actividad se alterna durante ambos procesos.*

El hecho de que el sistema neuromuscular, o control somático, participa en los procesos de continencia urinaria y micción, ya ha sido discutido desde hace varios años (Barrington, 1931, 1941; de Groat, 1987; Elbadawi y Schenk, 1974; Gilpin y cols., 1989; Muellner, 1951; Muellner y Fleischer, 1949; Sachs y Liu, 1992). Sin embargo, los estudios más recientes sobre la fisiología de la micción se han centrado fundamentalmente en el control autónomo del tracto urinario inferior (de Groat, 1987, 1990; Mallory y cols., 1989).

La participación del sistema nervioso somático ha sido referida como resultante de la actividad del esfínter externo de la uretra en animales (de Groat, 1990), así como también de la participación del músculo pubococcigeo en humanos (Gilpin y cols., 1989). En nuestros estudios previos, registramos actividad electromiográfica intensa del músculo pubococcigeo durante la micción (Manzo, 1992), por lo que planteamos la hipótesis de que el esfínter externo de la uretra no era el único músculo

activo durante el vaciamiento de la vejiga. Además, considerando las tres fases de la cistometría obtenidas en experimentos agudos (Maggi y cols., 1986a), y considerando también la compleja estructura muscular de la pelvis (Green, 1968; Schröder, 1980), propusimos que otros músculos del área pélvica pudieran presentar actividad durante el vaciamiento de la vejiga o durante cualquier otra fase del registro cistométrico.

En los resultados obtenidos en este trabajo, se observa en principio que existen marcadas diferencias entre los sexos en cuanto al reflejo de micción se refiere. La cistometría realizada en hembras y machos, muestra que los parámetros del cistometrograma son significativamente diferentes con respecto al umbral de volumen y al intervalo intercontracciones. En ambos parámetros, el macho presenta valores significativamente mayores, esto es, requiere de una mayor cantidad de fluido para desencadenar la micción, así como también presenta intervalos de vaciamiento más largos. Sin embargo, después de que ocurre el vaciamiento el volumen residual en la vejiga es igual para ambos sexos. Esto sugiere, como era de esperarse, que independientemente de la capacidad de la vejiga y de la ritmicidad del vaciamiento durante los cistometrogramas, ambos sistemas son efectivos para la eliminación de orina. No obstante, a pesar de que los valores obtenidos en la orina residual son similares, el macho presenta un volumen ligeramente mayor. Este dato es importante considerando el resultado obtenido en la orina residual después de la micción inducida por estrés, que se discute más adelante.

Estos hallazgos parecen fáciles de comprender cuando se analiza la estructura anatómica del tracto urinario inferior de ambos sexos (Elbadawi, 1982). A pesar de que el tamaño de la vejiga parece similar en hembras y machos (Maggi, 1986), el sistema de salida constituido por la uretra es

notablemente diferente. Mientras que la uretra de la hembra se origina en la vejiga y finaliza en el meato urinario y sólo sirve para la eliminación de orina, la uretra en el macho se encuentra rodeada por una serie de estructuras, que la dividen en tres secciones. La uretra prostática, que es la que se encuentra rodeada por la próstata, la uretra membranosa, que es la que atraviesa el diafragma pélvico y se inserta en el bulbo peneano, y la uretra peneana que viaja por el interior del cuerpo peneano hacia el meato urinario. Además de esta compleja estructura de la uretra en el macho, sus funciones no están sólo relacionadas con la expulsión de orina, sino que también constituye el conducto de salida de semen durante la eyaculación. La uretra prostática también sirve para el almacenamiento temporal de semen durante la emisión seminal que precede a la eyaculación.

Esta organización anatómica y funcional de la uretra en el macho, adquiere mayor complejidad cuando se observa la disposición de la musculatura estriada de esa región. Así, se observa que el músculo pubococcígeo y el esfínter externo de la uretra, se encuentran en estrecho contacto con la uretra membranosa (Manzo, 1992), mientras que la uretra peneana está relacionada con la actividad producida por los músculos bulboespongioso, isquiocavernoso y levator ani. En la hembra esta organización anatómica de la musculatura estriada no se presenta. La uretra sólo está rodeada por el esfínter externo, que además es un músculo de dimensiones mucho más pequeñas que en el macho. Esta diferencia en la organización muscular entre ambos sexos, pudiera explicar las diferencias encontradas en el registro cistométrico.

Los cistometrogramas mostraron que los machos presentan las tres fases del reflejo de micción, mientras que las hembras sólo presentan elevaciones de la presión intravesical acompañadas por goteo de fluido, y



disminución de la presión intravesical, con un intervalo aproximado de 47 segundos entre dos contracciones. Este hallazgo muestra una marcada diferencia sexual en la expulsión de fluidos. Si se considera a la actividad muscular como fundamental para la micción, como se considera para otras especies (Jubelin y cols., 1984; Nishizawa y cols., 1984; Maggi y cols., 1986b), entonces la diferencia pudiera deberse a la resistencia de salida que ofrece el tracto urinario inferior, considerando que es mayor en el macho que en la hembra. La presencia de esfínteres a lo largo del tracto genitourinario masculino, que dan lugar a los fenómenos de micción y eyaculación sin mezclar los productos que van a ser expulsados, produce un aumento significativo del nivel de resistencia al flujo de fluidos por el interior de la uretra. Esta organización anatómica-funcional requeriría entonces, durante la micción y la eyaculación, la activación de un sistema mecánico que permita vencer esa resistencia. En la hembra, este mecanismo no es necesario, dado que la uretra tiene como única función la de conducir la orina de la vejiga al exterior, por lo que presenta una baja resistencia al paso del fluido, que probablemente es vencida de una forma adecuada por la sola contracción del detrusor. Esta sugerencia explicaría también el porqué de los diferentes hallazgos en el registro cistométrico de ambos sexos.

Por otro lado, el registro simultáneo de los cistometrogramas y la actividad electromiográfica de los músculos, mostró que al menos el esfínter externo de la uretra, el pubococcigeo, el bulboespongioso y el levator ani, se activan durante la fase de meseta del reflejo de micción en los machos. Estos músculos constituirían la base mecánica para la expulsión de la orina durante la micción. De acuerdo a la localización de estos músculos, la actividad que presentan influye en el movimiento del fluido en la uretra membranosa y en la uretra peneana, con lo que se estarían regulando los

dos tercios distales de la uretra. A pesar de que esta explicación pudiera estar acertada, aún queda la incógnita de si esta actividad muscular sirve sólo para facilitar la micción, o es una respuesta refleja que participa para la expulsión de fluidos tanto en la micción como en la eyaculación.

Durante los cistometrogramas en la rata (Maggi y cols., 1986a; Mallory y cols., 1989), las oscilaciones de alta frecuencia de la fase de meseta indican contracción de musculatura estriada, que se sabe son relevantes para la emisión de orina en ésta y otras especies (Jubelin y cols., 1984; Nishizawa y cols., 1984; Maggi y cols., 1986a,b). A pesar de que estos reportes habían considerado que sólo el esfínter externo de la uretra participaba en este mecanismo, en nuestros resultados se muestra que no es el único músculo activo. Por otro lado, la discrepancia existente en cuanto al momento de la contracción del esfínter externo de la uretra, ha propuesto que la actividad electromiográfica de este esfínter se da durante la continencia, mientras que en la micción se relaja cuando la contracción vesical inicia (de Groat, 1990; Garry y cols., 1959; Kuru, 1965). Sin embargo, los resultados obtenidos en este estudio, muestran que la contracción del esfínter, así como de los demás músculos, se da durante las oscilaciones de alta frecuencia, que corresponde al momento de vaciamiento de la vejiga.

Tal observación sugiere una considerable diferencia bastante significativa cuando se hacen comparaciones con el humano, donde la contracción simultánea de la vejiga y del esfínter produce la patología conocida como disinergia, proceso que en individuos normales se da brevemente sólo cuando se detiene voluntariamente la micción, antes del vaciamiento total de la vejiga (Chancellor y cols., 1990). La disinergia en humanos ha sido caracterizada como una respuesta exagerada del proceso

de continencia (Rudy y cols., 1988), mientras que en la rata se ha caracterizado como aquella que ocurre durante las contracciones vesicales que no produce la salida de orina (Kruse y de Groat, 1994). Sin embargo, de acuerdo a nuestros resultados, en la rata esta "disinergia" estaría caracterizada por ser un proceso normal que facilita el vaciamiento de la vejiga urinaria y no la continencia. La continencia, como se verá más adelante, parece depender más de la presencia del nervio hipogástrico, tal como ha sido mencionado por otros autores (Maggi y cols., 1989; Nishizawa y cols., 1985, 1986; Satchell y Vaughan, 1988).

El hecho de que la actividad de la musculatura estriada se de primordialmente en el macho, pudiera estar indicando posiblemente que la técnica de la cistometría activa mecanismos relacionados con el proceso eyaculatorio. En los machos de los mamíferos, la coordinación existente entre los procesos de eyaculación y micción es altamente compleja. La uretra da paso a fluidos que provienen del sistema reproductor (expulsión de semen) y del sistema urinario (emisión de orina). En ambos procesos, la activación de musculatura estriada parece fundamental. Durante la eyaculación, que es cuando se expulsa el semen hacia el exterior, el músculo bulboespongioso parece jugar un papel fundamental (Petersen y Stener, 1970; Holmes y Sachs, 1991; Sachs, 1982). Este músculo, como ya se mencionó, también muestra actividad durante el vaciamiento de la vejiga. A pesar de la posibilidad de estar desencadenando reflejos eyaculatorios durante los cistometrogramas, las respuestas aquí encontradas parecen estar relacionadas exclusivamente con el reflejo de micción. Este planteamiento se hace con base al reporte de Holmes y Sachs (1991), quienes muestran que la estimulación uretral no es necesaria para la generación de los patrones motores rítmicos que se asocian con la

eyaculación. Así, la distensión de la vejiga y el paso de fluido por la uretra, no estarían desencadenando reflejos relacionados con el proceso eyaculatorio, pero sí reflejos de micción. Por esta razón, la diferencia más probable entre los cistometrogramas de hembras y machos, parece deberse más a las diferencias en la resistencia al flujo de fluidos en el tracto urinario inferior.

En relación a la estimulación directa del músculo pubococcígeo, uno de los resultados fundamentales obtenidos es que no se induce cambio alguno en la presión intravesical, aún en los experimentos con animales profundamente anestesiados. Asimismo, su actividad no produce salida de orina, por lo que se considera que su participación se relaciona con procesos de continencia de fluido. Esto sugiere que las oscilaciones de alta frecuencia registradas durante la micción en la rata (Maggi y cols., 1986; Mallory y cols., 1989) se producen por la actividad de otros músculos, siendo fundamentalmente el esfínter externo de la uretra y el bulboespongioso. La verificación de que el músculo pubococcígeo participa en la continencia, se realizó en un primer acercamiento con la estimulación del músculo durante cistometrogramas consecutivos. El hallazgo de una reducción en el intervalo intercontracción y en el umbral de volumen provee información fundamental. Aunque el intervalo intercontracción se redujo, no todas las contracciones se asociaron con la expulsión de fluido, sino con un goteo producto del rebosamiento de la vejiga. Debido a que la mayor parte del fluido se retuvo en la vejiga, el umbral de volumen se redujo porque cada vez se requería de menos fluido para inducir las contracciones consecutivas del detrusor. El valor del volumen residual indicó que a pesar del efecto sobre los otros dos parámetros, cuando se desencadenaba el reflejo de micción la cantidad de fluido expulsado fue similar en los animales controles y

denervados. Así, considerando que aún la denervación del pubococcígeo no afecta la expulsión de fluido, estos resultados permiten 1) proponer que no participa en la micción y 2) suponer que participa en la continencia. El efecto más notable al estimular directamente el músculo pubococcígeo, se observó en los animales con anestesia profunda. La actividad del músculo pubococcígeo producía inhibición de la contracción del detrusor, que era la única respuesta registrada en esas preparaciones. La duración de la inhibición dependió de la intensidad del estímulo.

Estos resultados en conjunto parecen mostrar que el músculo pubococcígeo participa en el proceso de la continencia urinaria, lo que concuerda con el hallazgo en humanos de que su denervación produce problemas de incontinencia (Gilpin y cols., 1989). A pesar de que la denervación del pubococcígeo no produjo cambios en los parámetros del cistometrograma, aún no se puede concluir si esos animales no tenían alteraciones, ya que aún falta la observación de sujetos con denervación crónica. Otro dato que apoya la participación del pubococcígeo en la continencia, es que se ha mostrado que los músculos del piso pélvico (donde se incluye el pubococcígeo) están también relacionados con el proceso de continencia fecal (Dubrovsky y Filipini, 1990). Así, el mantenimiento de los procesos de continencia probablemente es una tarea general de algunos músculos estriados del área pélvica, entre los que se encontraría el pubococcígeo.

La explicación de la continencia producida por el músculo pubococcígeo, es que probablemente la actividad de este músculo produce el disparo de sus aferentes (de husos musculares u órganos tendinosos), que a su vez activan un complejo integrador espinal para modular (decrementando la contracción del detrusor y/o incrementando la contracción del esfínter

interno de la uretra en el cuello de la vejiga) la intensidad de contracción del detrusor. Se sabe que la médula espinal lumbosacra tiene una integración compleja de aferentes viscerales y somáticas del área pélvica (Honda, 1985) y que esta región de la médula espinal puede activar selectivamente a los diferentes músculos del piso pélvico (Dubrovsky y cols., 1985). Si la vejiga es un sistema de distensión-contracción, la actividad aferente de músculos estriados, como el pubococcígeo, podría estar modulando la tensión de la contracción del detrusor. Sin embargo, existen nuevas preguntas que emergen de este planteamiento, 1) ¿quién activa al músculo pubococcígeo? (presumiblemente las aferentes vesicales que desencadenan todo el reflejo de micción), y ¿cómo se integra esta actividad aferente en la médula espinal?

#### Hipótesis 2

*La musculatura pélvica que participa en la micción está constituida de fibras musculares estriadas y lisas, por lo tanto está bajo el control neural somático y autónomo.*

La disertación de este punto con respecto a los resultados aquí mostrados, sólo puede centrarse con respecto al esfínter externo de la uretra y al músculo pubococcígeo. El resto de los músculos mostraron tener exclusivamente fibras de músculo estriado, y estos datos apoyan las aseveraciones ya descritas en la literatura (Brink y Pfaff, 1980; Hayes, 1965; Holmes y cols., 1991; Schröder, 1980).

En las preparaciones del esfínter externo de la uretra se observaron tres capas celulares en los cortes transversales. De adentro hacia afuera se observaron: la más interna, que corresponde a la estructura propia de la uretra; la capa inmediata que comprende a un anillo de musculatura lisa; y la externa que es la estructura de músculo estriado pertinente al esfínter.

Esta tres capas celulares son las que Elbadawi y Schenk (1974), en conjunto, denominaron rabdoesfínter. Probablemente esta sea la razón por la que ellos mostraron que tiene inervación somática y autónoma. Sin embargo, esta inervación pudiera estar relacionada con cada una de las capas musculares. El problema de nomenclatura que se origina con los resultados aquí expuestos, es la delimitación del esfínter, esto es, la determinación de si la musculatura lisa y estriada pertenecen a la misma estructura, o si deban ser consideradas como entidades diferentes. De ser diferentes, entonces el esfínter estaría Inervado, al parecer, sólo por fibras somáticas; de ser la misma, por somáticas y autónomas. No obstante, estas observaciones, que reflejan conocimientos clásicos sobre la inervación muscular, aún no son evidencia para mostrar que la fibras de músculo estriado que aquí se observan, carecen de inervación autonómica.

En referencia al músculo pubococcígeo, nuestros resultados no muestran la existencia de fibras de músculo liso, tal como ha sido identificado para la mitad posterior de este músculo en el humano (Gilpin y cols., 1989). Asimismo, en el humano el músculo pubococcígeo parece jugar un papel primordial en el proceso de la micción, ya que su denervación produce problemas de incontinencia urinaria (Gilpin y cols., 1989). Sin embargo, en la rata, tal como lo mostraron los resultados aquí expuestos, la denervación de este músculo no produce ningún efecto detectable sobre el parámetro de la orina residual, por lo que al parecer no produce incontinencia urinaria en esta especie. La diferencia entre la rata y el humano pudiera reflejar diferencias en cuanto a expresiones conductuales. La rata (como se discutirá más adelante), al igual que el perro (Nishizawa y cols., 1984), el conejo (Hiraizumi y col., 1987), y el gato (Jubelin y col., 1984), utilizan la orina en procesos de conducta, ya sea para marcar

territorio, para atraer hembras, o para realizar cualquier otro tipo de comunicación química. Este uso de la orina tiene dos efectos en los individuos: 1) nunca vacían completamente la vejiga después de orinar, y 2) la expulsión de orina se realiza de manera fásica, mediante las emisiones intermitentes de orina. En el humano se observa lo contrario, esto es, la vejiga se vacía completamente y la expulsión es continua. Por otro lado, la incontinencia urinaria en el humano, que resulta de la denervación del pubococcigeo, no observada en la rata con nuestros resultados, puede deberse también a diferencias anatómicas (Walter y cols., 1989). En el humano, el bipedalismo hace que la vejiga quede en un plano vertical por encima del meato urinario, ejerciendo por gravedad una presión hidrostática de al menos 15 mm Hg, incluso cuando tiene poca orina. En contraste, en los cuadrúpedos como la rata, la presión hidrostática ejercida por gravedad es casi de cero, ya que la vejiga está en un plano horizontal, hacia un costado del meato urinario. Así, la denervación del pubococcigeo, como músculo necesario pero no exclusivo para la continencia urinaria, probablemente resulte en efectos visibles en el humano (Gilpin y cols., 1989), pero no en un animal cuadrúpedo, como lo muestran los resultados de esta tesis.

### Hipótesis 3

*El control somático de la continencia y micción en la rata se expresa conductualmente como fenómenos realizados a voluntad, que implican procesos de comunicación química (marcaje, por ejemplo).*

A la fecha, existen diferentes procedimientos para el estudio de las respuestas de los organismos a diversos agentes olfatorios, incluyendo aquellos provenientes de las glándulas especializadas de otros individuos



(Albone y Shirley, 1984). La comunicación química olfatoria depende, entonces, de diferentes tipos de olores clave, que no sólo sirven para desencadenar una respuesta conductual en el sujeto receptor, sino que en muchos casos sirve para identificar individualmente al sujeto emisor (Brown, 1979; Eisenberg y Kleiman, 1972). Así, el estudio de la comunicación química en animales es un tema analizado desde muchas perspectivas diferentes. No obstante, en los datos mostrados en esta tesis con respecto a este punto, tenemos dos propuestas concluyentes. Una es que la rata macho utiliza la orina como medio de comunicación química, ya que la expulsión voluntaria y organizada se dió primordialmente en presencia de hembras en estro; y otra es que los datos además de poder mostrar la respuesta del sujeto receptor, están mostrando las bases fisiológicas (actividad muscular) que el emisor requiere para este tipo de emisión urinaria. Con este tipo de metodología, se abre un campo para el estudio de la fisiología de sujetos emisores de señales químicas, así como también de los posibles estímulos que desencadenan esta conducta en los emisores.

Además de la información recabada en los experimentos aquí mostrados, los resultados indican que la conducta de olfacción se observa en los animales independientemente del estímulo que se presente, pues las ejecuciones de estas conductas se realizaron a pesar del sexo o condición hormonal del sujeto-estímulo. Sin embargo, las respuestas (conductas de olfacción) se incrementaron cuando el estímulo fue una hembra receptiva. Estos hallazgos parecen indicar que existe un sistema fundamental de comunicación hembra-macho, pero también macho-hembra. Aún desconocemos que efectos tiene la orina emitida por el macho sobre la hembra, así como también sobre sí mismo. Se sabe que las ratas

neonatales, entre 12 y 20 días de edad, tienen preferencias por olores provenientes de sujetos familiares que de no familiares (Hepper, 1990), pero aún no se sabe, en la edad adulta, cuáles son los efectos producidos en las hembras receptoras por los olores emitidos de machos sexualmente expertos. Esta información parece apoyar una vez más la propuesta de que las características conductuales de un emisor modifica, principalmente a través de vías olfatorias, la conducta del receptor en un sentido apropiado para la conducta del emisor (Sandnabba, 1993).

Uno de los aspectos fundamentales de los resultados aquí discutidos, es el hecho de que los machos, quienes exhiben la conducta de infección, también muestran actividad de musculatura estriada durante la emisión de orina en las preparaciones experimentales agudas. Esta actividad muscular, como se discutió arriba, parece estar promoviendo el movimiento de la orina en los dos tercios distales de la uretra, esto es, en la uretra membranosa y la uretra peneana. Por esta razón, es probable que la lesión del nervio pélvico, que regula la contracción del músculo detrusor, evite la presencia de marcas de orina en los estudios de conducta. Aunque la actividad muscular sea apropiada, la salida de orina de la vejiga a la uretra queda impedida por el bloqueo a la contracción del detrusor. Asimismo, considerando que el nervio hipogástrico es fundamental para el mantenimiento de la continencia urinaria, su lesión parece hacer un tanto incontinente a estos machos. La incontinencia parece darse no como un goteo de orina hacia el exterior, sino como una acumulación de orina en los dos tercios distales de la uretra, mantenida ahí por efecto del aumento en la resistencia al flujo ejercido por los músculos pélvicos. Durante las micciones en situaciones conductuales, el aumento en la expulsión voluntaria de orina pudiera reflejar, entonces, la expulsión de esta orina intrauretral previamente colocada ahí por efecto de

la incontinencia, en adición a la orina que también proviene de la vejiga. Esta propuesta está sujeta aún a diversas investigaciones futuras.

Bases neurales de la continencia urinaria y micción.  
Propuesta de un modelo para la rata macho.

De acuerdo a los resultados expuestos y discutidos con anterioridad, así como a la información existente en la literatura, el control neuromuscular de la continencia urinaria y la micción pudiera darse como se muestra en la Fig. D-1 (en esta figura las neuronas blancas son excitadoras y las negras inhibitoras). La vía crucial que desencadena la activación de los sistemas centrales para la continencia y la micción, son las aferentes vesicales que viajan por la rama viscerocutánea del nervio pélvico (NPv). En la figura, estas aferentes se muestran con una línea gruesa, que representa la activación de las aferentes durante la distensión de la vejiga.

La vejiga vacía en su totalidad, produce una baja o nula estimulación de los mecanorreceptores de las fibras aferentes. La inactividad de estas aferentes no produce ninguna activación central. En esta situación, el cierre del cuello de la vejiga, aunado a una alta resistencia al flujo en la uretra membranosa, representa un proceso de continencia mantenido por un centro activador tónico espinal. Este activador tónico se encuentra modulando la actividad eferente de las fibras del nervio hipogástrico (H), que se sabe promueven la continencia. Las eferentes del nervio hipogástrico, que hacen sinápsis en el ganglio pélvico, promueven la continencia a dos niveles, a nivel del cuerpo de la vejiga y a nivel del esfínter interno de la uretra, localizado en el cuello vesical. Por esta disposición, probablemente

en la vejiga estas eferentes producen relajación mientras que en el cuello producen contracción.

La distensión ligera de la vejiga produce actividad en las fibras aferentes de la rama viscerocutánea del nervio pélvico, pero esta actividad no es suficiente para desencadenar el reflejo de micción. Sin embargo, la distensión ligera produce información que llega a estructuras superiores, donde aunada a las aferencias de los órganos de los sentidos, pueden inducir una micción voluntaria al reducir la influencia inhibitoria descendente sobre las vías promotoras de la micción.

Una distensión máxima de la vejiga, provoca una máxima actividad aferente de la rama viscerocutánea del nervio pélvico. A nivel espinal, estas aferentes activan a neuronas excitadoras e inhibitoras. Las excitadoras activan a las motoneuronas de músculos pélvicos (M) y eferentes del nervio pélvico (P), mientras que las inhibitoras inhiben al centro tónico excitador de las eferentes H. Con ello se promueve un reflejo espinal de micción. A nivel supraespinal, las neuronas excitadoras activan a un sistema descendente que promueve la micción. La distensión máxima de la vejiga también activa el sistema ascendente a estructuras superiores. Aquí, se activa una neurona inhibitoria que, por si misma o en conjunto con aferentes de los órganos de los sentidos, produce inhibición de la corteza, para reducir la inhibición descendente que esta promueve.

Durante la micción, la contracción del detrusor es lo suficientemente fuerte como para vaciar la vejiga y colocar la orina en la uretra prostática (en la emisión seminal, el producto de las diversas glándulas y de los testículos, también son almacenados en la uretra prostática). La resistencia ofrecida por la uretra membranosa y peneana, a causa de la musculatura estriada, evita que la orina sea eliminada. Así, una vez colocada la orina en

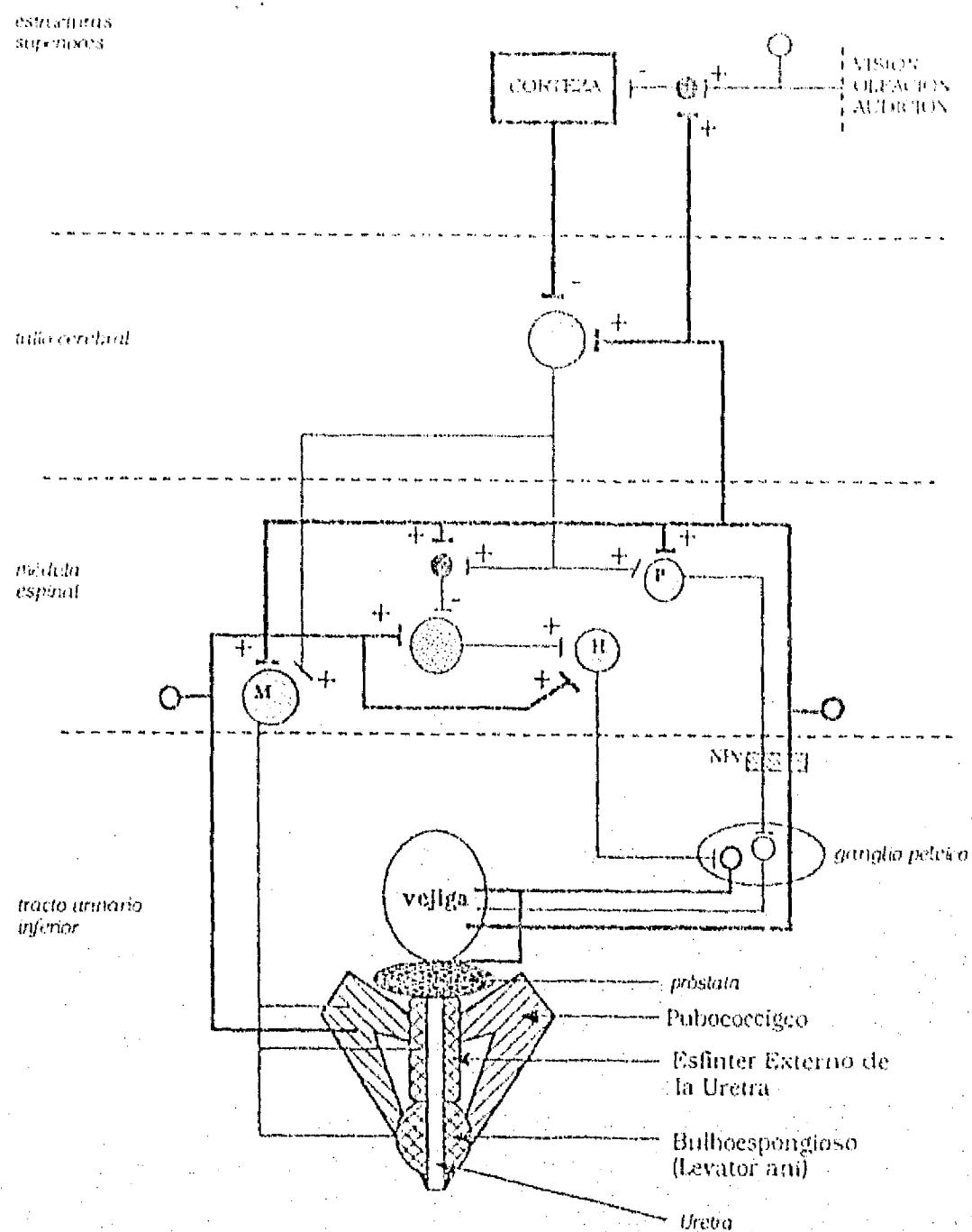
la uretra prostática, la actividad de los músculos periuretrales (esfínter externo de la uretra y bulboespongioso) permite su paso a través de la uretra membranosa y de la uretra peneana, para finalmente poder ser eliminada (tal como pasa con los fluidos seminales durante la eyaculación). Los músculos, entonces, están activando la eliminación del fluido de los dos tercios distales de la uretra.

La lesión de la rama viscerocutánea del nervio pélvico, elimina axones aferentes y eferentes del detrusor, por lo que el reflejo de micción se inhibe en su totalidad. En situaciones conductuales, cuando las estructuras cerebrales, que se mantienen intactas, activan a las vías eferentes del detrusor (lesionadas) y de los músculos, son incapaces de vaciar la vejiga. Aunque la actividad muscular para la eliminación de la orina intrauretral es apropiada, la orina no se mueve de la vejiga debido a que el músculo detrusor no se contrae. La poca orina que estos sujetos emiten en situaciones conductuales, se debe a la orina que por rebosamiento sale de la vejiga hacia la uretra prostática.

La denervación del músculo pubococcigeo no produce efectos detectables en los procesos de continencia urinaria y micción. A pesar de que este músculo se activa durante la expulsión de fluido, la actividad del esfínter externo de la uretra es suficiente para mover la mayor parte del fluido de la uretra membranosa a la peneana. Sin embargo, la actividad del músculo pubococcigeo sirve para activar a sus aferentes (ya sea de husos musculares u órganos tendinosos), que a nivel central activan tanto al centro tónico excitador de las eferentes II como directamente a estas eferentes, con lo que promueven el proceso de continencia.

La denervación del esfínter externo de la uretra, elimina casi en su totalidad la expulsión de orina. Este efecto se debe a que la lesión evita que

la orina depositada en la uretra prostática, por contracción del detrusor, atraviese la uretra membranosa para pasar a la uretra peneana. La sola contracción del músculo detrusor es incapaz de vencer la resistencia al flujo producida por la inactividad del esfínter externo de la uretra. Este caso es similar cuando se denervan los músculos de la base del pene, primordialmente el bulboespongioso, aunque aquí la resistencia que no se vence es la producida en la uretra peneana.



**Fig. D-1** Modelo representativo del control neural de la continencia urinaria y la micción en la rata. Las vías representadas con neuronas blancas son excitatorias (+) y aquellas con neuronas negras son inhibitorias (-). La rama viscerocutánea del nervio pélvico (NPv) integra aferentes y eferentes vesicales. Las aferentes son las principales responsables de desencadenar la micción. Las eferentes (P) hacen sinápsis en el ganglio pélvico, en donde activan a neuronas posganglionares que promueven la contracción del detrusor. Las motoneuronas (M) también son activadas durante la micción por las aferentes del NPv, por lo que los músculos que inervan muestran actividad durante este evento. Las neuronas del nervio hipogástrico (H), que hacen sinápsis en el ganglio pélvico, promueven la continencia urinaria. Durante la micción estas eferentes son inhibidas, pero después son activadas por las aferentes del músculo pubococcígeo. Este modelo añade al conocimiento actual la identificación de los músculos estriados que participan en el reflejo de la micción, así como también el papel que juegan las aferentes del músculo pubococcígeo en la modulación de la contracción del detrusor.

## REFERENCIAS

- Albone, E.S. y S.G. Shirley (Eds., 1984). *Mammalian semiochemistry. The investigation of chemical signals between mammals*. John Wiley & Sons. Chichester.
- Barrington, F.J.F. (1921). The relation of the hind-brain to micturition. *Brain*, **44**: 23-53.
- Barrington, F.J.F. (1925). The effect of lesion of the hind- and mid-brain on micturition in the cat. *Quart. J. Exp. Physiol.* **15**: 81-102.
- Barrington, F.J.F. (1931). The component reflexes of micturition in the cat, I and II. *Brain*, **54**: 177-188.
- Barrington, F.J.F. (1941). The component reflexes of micturition in the cat, III. *Brain*, **64**: 239-243.
- Bahns, E.; U. Halsband y W. Jänig (1985). Functional characteristics of sacral afferent fibres from the urinary bladder, colon and anus. *Pflügers Arch.* **405**: Suppl. 2: R51.
- Bahns, E.; U. Halsband y W. Jänig (1987). Responses of sacral visceral afferents from the lower urinary tract, colon and anus to mechanical stimulation. *Pflügers Arch.* **410**: 296-303.
- Baron, R.; W. Jänig y W. Kollmann (1988). Sympathetic and afferent somata projecting in hindlimb nerves and the anatomical organization of the lumbar sympathetic nervous system of the rat. *J. Comp. Neurol.* **275**: 460-468.
- Beattie, J. y A.S. Kerr (1936). The effects of diencephalic stimulation on urinary bladder tonus. *Brain*, **59**: 302-314.
- Berg, I.A. (1944). Development of behavior: the micturition pattern in the dog. *J. Exp. Psychol.* **34**: 343-368.
- Blaivas, J.G.; H.P. Sinha; A.A.A. Zayed y K.B. Labib (1981). Detrusor external sphincter dyssynergia: a detailed electromyographic study. *J. Urol.* **125**: 545-548.
- Bors, E. (1952). Effect of electrical stimulation of the pudendal nerve on the vesical neck; its significance for the function of cord bladders: a preliminary report. *J. Urol.* **67**: 925-935.
- Brink, E.E. y D.W. Pfaff (1980). Vertebral muscles of the back and tail of the albino rat (*Rattus norvegicus albinus*). *Brain Behav. Evol.* **17**: 1-47.



- Bronson, F.H. y B. Macmillan (1983). Hormonal responses to primer pheromones. En: Vandenberg, J.G. (Ed.). **Pheromones and reproduction in mammals**. Academic Press, New York, pp. 175-197.
- Brown, R.E. (1979). Mammalian social odors: A critical review. *Adv. Study Behav.* 10: 103-162.
- Burden, H.W.; G.T. Price; R.H. Renegar y C.A. Hodson (1990). Effects of peripheral nerve lesions during pregnancy on parturition in rats. *Anat. Embryol.* 182: 499-501.
- Chancellor, M.B.; S.A. Kaplan y J.G. Blaivas (1990). Detrusor-external sphincter dyssynergia. En: The Ciba Foundation Symposium 151. **Neurobiology of Incontinence**. John Wiley & Sons, Chichester, pp. 195-213.
- Chung, S.K. y K.E. McKenna (1987). The autonomic innervation of the penis and clitoris of the rat. *Soc. Neurosci. Abstr.* 13: 272.
- Dagg, A.I. y D.E. Windsor (1971). Olfactory discrimination limits in gerbils. *Canadian J. Zool.* 49: 283-285.
- Dail, W.G.; K. Manzanares; M.A. Moll y N. Minorsky (1985). The hypogastric nerve innervates populations of penile neurons in the pelvic plexus. *Neurosci.* 16: 1041-1046.
- Dail, W.; D. Trujillo; D. de la Rosa y G. Walton (1989). Autonomic innervation of reproductive organs: analysis of the neurons whose axons project in the main penile nerve in the pelvic plexus of the rat. *Anat. Rec.* 224: 94-101.
- de Groat, W.C. (1987). Neural control of micturition. En: Adelman, G. (Ed.). **Encyclopedia of neuroscience**. Vol. II. Birkhäuser, Boston, pp. 667-668.
- de Groat, W.C. (1975). Nervous control of the urinary bladder of the cat. *Brain Res.* 87: 201-211.
- de Groat, W.C. (1986). Spinal cord projections of visceral afferent neurons. En: Cervero, F. y J.F.B. Morrison (Eds.). **Visceral sensation, progress in brain research**, Vol. 67. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, pp. 165-188.
- de Groat, W.C. (1990). Central neural control of the lower urinary tract. En: Bock, G y J. Whelan (Eds.). **Neurobiology of incontinence**. CIBA Foundation Symposium, 151. John Wiley & Sons, New York, pp. 27-56.
- de Groat, W.C. y A.M. Booth (1984). Autonomic systems to the urinary bladder and sexual organs. En: Dyck, P.J.; P.K. Thomas; E.H. Lambert y R. Bunge (Eds.). **Peripheral neuropathy**. Vol. 1. W.B. Saunders, Philadelphia, pp. 285-299.

de Groat, W.C. y W.D. Steers (1990). Autonomic regulation of the urinary bladder and sexual organs. En: Loewy, A.D. y K.M. Spyer (Eds.). **Central regulation of autonomic functions**. Oxford University Press. New York. pp. 310-333.

de Groat, W.C.; I. Nadelhaft; R.J. Milne; A.M. Booth; C. Morgan y K. Thor (1981). Organization of the sacral parasympathetic reflex pathways to the urinary bladder and large intestine. **J. Auton. Nerv. Syst.** **3**: 135-160.

Denny-Brown, D. y E.G. Robertson (1933). On the physiology of micturition. **Brain**. **56**: 149-190.

Dixon, J.S. y J.A. Goslin (1977). Light and electron microscopy observations on noradrenergic nerves and striated muscle cells of the guinea pig urethra. **Am. J. Anat.** **149**: 121-130.

Downie, J.W.; J.A. Champion y D.M. Nance (1984). A quantitative analysis of the afferent and extrinsic efferent innervation of specific regions of the bladder and urethra in the cat. **Brain Res. Bull.** **12**: 735-740.

Dubrovsky, B. y D. Filipini (1990). Neurobiological aspects of the pelvic floor muscles involved in defecation. **Neurosci. Biobehav. Rev.** **14**: 157-168.

Dubrovsky, B.; M. Martínez-Cómez y P. Pacheco (1985). Spinal control of pelvic floor muscles. **Exp. Neurol.** **88**: 277-287.

Eisenberg, J.F. y D.G. Kleiman (1972). Olfactory communication in mammals. **Ann. Rev. Ecol. System.** **3**: 1-32.

Elbadawi, A. (1982). Neuromorphologic basis of vesico-urethral function. I. histochemistry, ultrastructure, and function of intrinsic nerves of the bladder and urethra. **NeuroUrol. Urodyn.** **1**: 3-50.

Elbadawi, A. y E.A. Schenk (1974). A new theory of the innervation of bladder musculature, IV. Innervation of the vesicourethral junction and external urethral sphincter. **J. Urol.** **111**: 163-165.

Elliot, T.R. (1907). The innervation of the bladder and urethra. **J. Physiol. (Lond.)**. **35**: 368-445.

Fedan, J.S.; J.C. Besse; F.G. Carpenter y R.S. Teague (1977). Motor innervation of the smooth muscle of the rat seminal vesicle. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** **201**: 285-297.

Floyd, K.; V.E. Hick y J.F.B. Morrison (1976). Mechanosensitive afferent units in the hypogastric nerve of the cat. **J. Physiol.** **259**: 457-471.

Garry, R.C.; T. Roberts y J. Todd (1959). Reflexes involving the external urethral sphincter in the cat. **J. Physiol. (Lond.)**. **149**: 653-665.

Gerstenber, T.C.; R.J. Levin y G. Wagner (1990). Erection and ejaculation in man. assessment of the electromyographic activity of the bulbocavernosus and ischioavernosus muscels. *Br. J. Urol.* **65**: 395-402.

Gilpin, S.A.; J.A. Goslin; A.R.B. Smith y D.W. Warrel (1989). The pathogenesis of genitourinary prolapse and stress incontinence of urine. a histological and histochemical study. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* **96**: 15-23.

Greene, E.C. (1968). *Anatomy of the rat*. Hafner Publishing Co., New York.

Gruber, C.M. (1933). The autonomic innervation of the genito-urinary system. *Physiol. Rev.* **13**: 497-509.

Halpin, Z.T. (1980). Individual odors and individual recognition: review and commentary. *Biol. Behav.* **5**: 233-248.

Halpin, Z.T. (1986). Individual odors among mammals: origins and functions. *Adv. Study Behav.* **16**: 39-70.

Hart, B.L. y P.Y. Melese-D'Hospital (1983). Penile mechanisms and the role of the striated penile muscles in penile reflexes. *Physiol. Behav.* **31**: 807-813.

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

Hepper, P.G. (1990). Foetal olfaction. En: Macdonald, D.W.; D. Müller-Schwarze y S.E. Natynozuk (Eds.). *Chemical signals in vertebrates 5*. Oxford University Press. Oxford. pp. 282-288.

Hiraizumi, Y.; T. Hisamitsu; S. Ichikawa y E. Eujimaki (1987). Long term observation of micturition in spinal cord transected rabbits. *Physiol. Behav.* **41**: 331-339.

Holmes, G.M. y B.D. Sachs (1991). The ejaculatory reflex in copulating rats: normal bulbospongiosus activity without apparent urethral stimulation. *Neurosci. Lett.* **125**: 195-197.

Holmes, G.M.; W.D. Chapple; R.E. Leipheimer y B.D. Sachs (1991). Electromyographic analysis of male rat perineal muscles during copulation and reflexive erections. *Physiol. Behav.* **49**: 1235-1246.

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

Honda, C.N. (1985). Visceral and somatic afferent convergence onto neurons near the central canal in the sacral spinal cord of the cat. *J. Neurophysiol.* **53**: 1059-1078.

Jänig, W. y J.F.B. Morrison (1986). Functional properties of spinal visceral afferents supplying abdominal and pelvic organs, with special emphasis on visceral nociception. En: Cervero, F. y J.F.B. Morrison (Eds.). **Visceral sensation. progress in brain research**. Vol. 67. Elsevier Science Publishers. pp 87-114.

Jubelin, B.; C. Galeano; D. Ladouceur; S. Lemaire y M.M. Elhilali (1984). Effect of  $\epsilon$ -kephalin on the micturition cycle in the cat. **Life Sci.** 34: 2015-2027.

Kaada, B.R.; P. Andersen y J. Jansen (1954). Stimulation of amygdaloid nuclear complex in unanesthetized cats. **Neurology.** 4: 48-64.

Kabat, H.; H.W. Magoun y S.W. Ranson (1935). Stimulation of the hypothalamus with special reference to its effect on gastrointestinal motility. **Am. J. Physiol.** 12: 214-226.

Kalmus, H. (1955). The discrimination by the nose of the dog of individual human odours and in particular of the odours of twins. **Br. J. Anim. Behav.** 3: 25-31.

Klevmark, B. (1974). Motility of the urinary bladder in cats during filling at physiological rates. I. Intravesical pressure patterns studied by a new method of cystometry. **Acta Physiol. Scand.** 90: 565-577.

Korpela, S.R. y N.K. Sandnabha (1994). Gender-specific social experiences and the development of aggressive and sexual behavior in male mice. **Agress. Behav.** 20: 123-134.

Kremer, W.F. (1947). Autonomic and somatic reactions induced by stimulation of the cingular gyrus in dogs. **J. Neurophysiol.** 10: 371-379.

Kruse, M.N. y W.C. de Groat (1994). Consequences of spinal cord injury during the neonatal period on micturition reflexes in the rat. **Exp. Neurol.** 125: 87-92.

Kruse, M.N.; H. Noto; J.R. Roppolo y W.C. de Groat (1990). Pontine control of the urinary bladder and external urethral sphincter in the rat. **Brain Res.** 532: 182-190.

Kruse, M.N.; B.S. Mallory; H. Noto; J.R. Roppolo y W.C. de Groat (1991). Properties of the descending limb of the spinobulbospinal micturition reflex pathway in the cat. **Brain Res.** 556: 6-12.

Kuntz, A. y R.E. Morris (1946). Components and distribution of the spermatic nerves and the nerves of the vas deferens. **J. Comp. Neurol.** 85: 33-44.

Kuri, M. (1965). Nervous control of micturition. **Physiol. Rev.** 45: 425-494.

Kuru, M.; H. Ozaki y T. Kurati (1961). Effect of simultaneous stimulations of the bulbar vesico-constrictor and vesico-relaxer centers. *J. Comp. Neurol.* 116: 195-208.

Langley, J.N. y H.K. Anderson (1895). The innervation of the pelvic and adjoining viscera. *J. Physiol.* 19: 71-139.

Langworthy, O.R. (1965). Innervation of the pelvic organs of the rat. *Invest. Urol.* 2: 491-511.

Langworthy, O.R. y L.C. Kolb (1935). Demonstration of encephalic control of micturition by electrical stimulation. *Bull. Johns Hopkins Hosp.* 56: 37-49.

Langworthy, O.R. y L.C. Kolb (1936). An experimental study of micturition released from cerebral control. *Am. J. Physiol.* 115: 694-700.

Larsson, K. (1956). *Conditioning and sexual behavior in the male albino rat.* Almqvist & Wiksell. Stockholm.

Larsson, K. y G. Swedin (1971). The sexual behavior of male rats after bilateral section of the hypogastric nerve and removal of the accessory genital glands. *Physiol. Behav.* 6: 251-253.

Learmonth, J.R. (1931). A contribution to neurophysiology of the urinary bladder in man. *Brain.* 54: 147-176.

Lucio, R.A. (1992). *Participación del nervio pélvico en la conducta sexual de la rata macho.* Tesis de Maestría. Centro de Investigación en Reproducción Animal. UAT-CINVESTAV. Panotla, Tlax., México.

Lucio, R.A.; J. Manzo; M. Martínez-Gómez; B.D. Sachs y P. Pacheco (1994). Participation of pelvic nerve branches in male rat copulatory behavior. *Physiol. Behav.* 55: 241-246.

Lynch, M.J.; S.S. Raphael; L.D. Mellor; P.D. Spare y M.J.H. Inwood (1977). *Métodos de laboratorio.* Editorial Interamericana. México. pp. 1144-1167.

Mackel, R. (1979). Segmental and descending control of the external urethral and anal sphincters in the cat. *J. Physiol. (Lond.)* 294: 105-122.

Maggi, C.A.; S. Giuliani; P. Santicioli y A. Meli (1986a). Analysis of factors involved in determining urinary bladder voiding cycle in urethane-anesthetized rats. *Am. J. Physiol.* 251: R250-R257.

Maggi, C.A.; P. Santicioli, S. Giuliani; M. Furio y A. Mell (1986b). The capsaicin-sensitive innervation of the rat urinary bladder: further studies on mechanisms regulating micturition threshold. *J. Urol.* 136: 696-700.

Maggi, C.A.; S. Manzini; M. Parlani; B. Conte y A. Meli (1988). The effect of nifedipine on spontaneous, drug-induced and reflexly-induced contractions of the rat urinary bladder. *Gen. Pharmacol.* **19**: 73-81.

Maggi, C.A.; B. Conte; M. Furio; P. Santicoli; S. Giuliani y A. Meli (1989). Further studies on mechanisms regulating the voiding cycle of the rat urinary bladder. *Gen. Pharmacol.* **20**: 833-838.

Mahony, D.T.; R.O. Laferte y D.J. Blais (1977). Integral storage and voiding reflexes. neurophysiologic concept of continence and micturition. *Urology*. **9**: 95-106.

Mallory, B.S.; W.D. Steers y W.C. de Groat (1989). Electrophysiological study of micturition reflexes in rats. *Am. J. Physiol.* **257**: R410-R421.

Mallory, B.S.; J.R. Roppolo y W.C. de Groat (1991). Pharmacological modulation of the pontine micturition center. *Brain Res.* **546**: 310-320.

Manzo, J. (1992). **Estudio anatómico y electrofisiológico del nervio pélvico de la rata macho y su participación en la expresión de los reflejos peneanos.** Tesis de Maestría. Centro de Investigación en Reproducción Animal. UAT-CINVESTAV. Panotla, Tlax., México.

Martínez-Gómez, M.; J. Manzo-Denes; C. Beyer; B.R. Komisaruk y P. Pacheco (1988). Participation of rat's pelvic, pudendal and genitofemoral nerves in some perineal muscular reflexes. *Soc. Neurosci. Abstr.* **14**: 726.

Martínez-Gómez, M.; R. Chirino; C. Beyer; B.R. Komisaruk y P. Pacheco (1992). Visceral and postural reflexes evoked by genital stimulation in urethane-anesthetized female rats. *Brain Res.* **575**: 279-284.

Martins, T. y J.R. Valle (1948). Hormonal regulation of the micturition behavior of the dog. *J. Comp. Physiol. Psychol.* **44**: 301-311.

McKenna, K.E. y I. Nadelhaft (1986). The organization of the pudendal nerve in the male and female rat. *J. Comp. Neurol.* **248**: 532-549.

Morrison, J.F.B. (1981). Sensory processing in spinal afferent pathways from the bladder. En: Graystyan, E. y P. Molnar (Eds.), **Advances in physiological science, Vol. 16. Sensory functions.** Akadémiai Kiadó, Budapest. Pergamon Press. pp. 325-333.

McMahon, S.B. y J.F.B. Morrison (1982). Factors that determine the excitability of parasympathetic reflexes to the cat bladder. *J. Physiol.* **322**: 35-43.

Muellner, S.R. (1951). The physiology of micturition. *J. Urol.* **65**: 805-813.

Muellner, S.R. y F.G. Fleischer (1949). Normal and abnormal micturition: a study of bladder behavior by means of the fluoroscope. *J. Urol.* **61**: 233-238.

Mykityowycz, R. (1968). Territorial marking by rabbits. *Sci. Am.* 218: 116-126.

Nadelhaft, I. y A.M. Booth (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.

Nadelhaft, I.; P.L. Vera; J.P. Card y R.R. Miselis (1992). Central nervous system neurons labelled following the injection of pseudorabies virus into the rat urinary bladder. *Neurosci. Lett.* 143: 271-274.

Nishizawa, O.; S. Satoh; T. Harada; H. Nakamura; T. Fukuda; T. Tsukada y S. Tsuchida (1984). Role of the pudendal nerves on the dynamics of micturition in the dog evaluated by pressure flow emg and pressure flow plot studies. *J. Urol.* 132: 1036-1039.

Nishizawa, O.; T. Fukuda; A. Matsuzaki; I. Moriya; T. Harada y S. Tsuchida (1985). Role of the sympathetic nerves in bladder and urethral sphincter function during the micturition cycle in the dog evaluated by pressure flow EMG study. *J. Urol.* 134: 1259-1262.

Nishizawa, O.; T. Fukuda; A. Matsuzaki; I. Moriya; S. Satoh y S. Tsuchida (1986). Adrenergic influences on the voiding cycle of the decerebrated dog. *Neurorol. Urodynam.* 5: 505-513.

Norberg, K.A.; P.L. Risley y U. Ungerstedt (1967). Adrenergic innervation of the male reproductive ducts in some mammals. *Z. Zellforsch. Mikroskop. Anat.* 76: 278-286.

Noto, H.; J.R. Roppolo; W.D. Steers y W.C. de Groat (1989). Excitatory and inhibitory influences on bladder activity by electrical stimulation in the pontine micturition center in the rat. *Brain Res.* 492: 99-115.

Noto, H.; J.R. Roppolo; W.D. Steers y W.C. de Groat (1991). Electrophysiological analysis of the ascending and descending components of the micturition reflex pathway in the rat. *Brain Res.* 549: 95-105.

Oliver, J.E.; W.E. Bradley y T.F. Fletcher (1969). Spinal cord representation of the micturition reflex. *J. Comp. Neurol.* 137: 329-346.

Oliver, J.E.; W.E. Bradley y T.F. Fletcher (1970). Spinal cord distribution of the somatic innervation of the external urethral sphincter of the cat. *J. Neurol. Sci.* 10: 11-23.

Pacheco, P.; M. Martínez-Gómez; B. Whipple; C. Beyer y B.R. Komisaruk (1989). Somato-motor components of the pelvic and pudendal nerves of the female rat. *Brain Res.* 490: 85-94.

Peters, L.C.; M.B. Kristal y B.R. Komisaruk (1987). Sensory innervation of the external and internal genitalia of the female rat. *Brain Res.* 408: 199-204.

Petersen, I. y I. Stener (1970). An electromyographic study of the striated urethral sphincter, the striated anal sphincter, and the levator ani muscle during ejaculation. *Electromyog.* 1: 23-44.

Purinton, P.T.; T.F. Fletcher y W.E. Bradley (1973). Gross and light microscopic features of the pelvic plexus in the rat. *Anat. Rec.* 175: 697-706.

Purinton, P.T.; T.F. Fletcher y W.E. Bradley (1976). Innervation of pelvic viscera in the rat. evoked potentials in nerves to bladder and penis (clitoris). *Invest. Urol.* 14: 28-32.

Purinton, P.T.; J.E. Oliver y W.E. Bradley (1981). Differences in routing of pelvic visceral afferent fibers in the dog and cat. *Exp. Neurol.* 73: 725-731.

Roppolo, J.R.; I. Nadelhaft y W.C. de Groat (1985). The organization of pudendal motoneurons and primary afferent projections in the spinal cord of the rhesus monkey revealed by horseradish peroxidase. *J. Comp. Neurol.* 234: 475-488.

Rudy, D.C.; S.A. Awad y J.W. Downie (1988). External sphincter dyssynergia: An abnormal continence reflex. *J. Urol.* 140: 105-110.

Sachs, B.D. (1982). Role of striated penile muscles in penile reflexes, copulation, and induction of pregnancy in the rat. *J. Reprod. Fertil.* 66: 433-443.

Sachs, B.D. (1983). Potency and fertility: hormonal and mechanical causes and effects of penile actions in rats. En: Balthazart, J.; E. Prové y R. Gillis (Eds.). *Hormones and behavior in higher vertebrates*. Springer-Verlag, Berlin. pp. 86-110.

Sachs, B.D. y Y.-C. Liu (1992). Copulatory behavior and reflexive penile erection in rats after section of the pudendal and genitofemoral nerves. *Physiol. Behav.* 51: 673-680.

Sachs, B.D. y R.L. Meisel (1988). The physiology of male sexual behavior. En: Knobil, E. y J. Neill et al. (Eds.). *The physiology of reproduction*. Raven Press, Ltd. New York. pp. 1393-1485.

Sandnabba, N.K. (1990). Differences between aggressive and non-aggressive mice in odour signals and marking behavior. En: Macdonald, D.W.; D. Müller-Schwarze y S.E. Natynczuk (Eds.). *Chemical signals in vertebrates* 5. Oxford University Press. Oxford. pp. 459-464.



Sandnabba, N.K. (1993). Effects of early exposure to intermale aggression on the aggressiveness of adult male mice varying in their genetic disposition for aggressive behavior. *Aggress. Behav.* 19: 435-445.

Satchell, P. y C. Vaughan (1988). Hypogastric nerve activity to the feline bladder during slow filling. *J. Auton. Nerv. Syst.* 25: 41-47.

Sato, M.; M. Miyuno y A. Konishi (1978). Localization of motoneurons innervating perineal muscles: a hrp study in the cat. *Brain Res.* 140: 149-154.

Schroder, H.D. (1980). Organization of the motoneurons innervating the pelvic muscles of the male rat. *J. Comp. Neurol.* 192: 567-587.

Shearly, C.N. y T.L. Peele (1957). Studies on amygdaloid nucleus of cat. *J. Neurophysiol.* 20: 125-139.

Shelchyk, S.J. (1989). The effects of lumbosacral deafferentation on pontine micturition centre-evoked voiding in the decerebrate cat. *Neurosci. Lett.* 99: 175-180.

Sherrington, C.S. (1892). Notes on the arrangement of some motor fibres in the lumbosacral plexus. *J. Physiol.* 13: 672-675.

Sjöstrand, N.O. (1965). The adrenergic innervation of the vas deferens and the accessory male genital organs. *Acta Physiol. Scand.* Suppl. 257.

Talaat, M. (1937). Afferent impulses in the nerves supplying the urinary bladder. *J. Physiol.* 89: 1-13.

Tang, P.C. y T.C. Ruch (1956). Localization of brain stem and diencephalic areas controlling the micturition reflex. *J. Comp. Neurol.* 106: 213-245.

Torrens, M. y P. Abrams (1979). Urine flow studies. En: Turner-Warwick, R. y C.G. Whiteside (Eds). *Clinical urodynamics. The urological clinics of north america*, Vol. 6. W.B. Saunders. Philadelphia, pp. 71-78.

Uemura, E.; T.F. Fletcher y W.E. Bradley (1975). Distribution of lumbar and sacral afferent axons in submucosa of cat urinary bladder. *Anat. Rec.* 183: 579-588.

Walker, L.B. (1959). Neuromuscular spindles in the external anal sphincter of the cat. *Anat. Rec.* 133: 347.

Walter, J.S.; J.S. Wheeler; J. Robinson; T. Khan y R.D. Wurster (1989). Urethral responses to sacral stimulation in chronic spinal dog. *Am. J. Physiol.* 257: R284-R291.

Wang, S.C. y S.W. Ranson (1939). Autonomic responses to electrical stimulation of the lower brain stem. *J. Comp. Neurol.* 71: 437-455.

Wilson, E.O. (1980). *Sociobiología. la nueva síntesis*. Ediciones Omega. Barcelona.

Woolsey, C.N. y C.M. Brooks (1937). Factors influencing micturition volume in the unanesthetized cat. *Am. J. Physiol.* **119**: 423-424.

APENDICE

**THE ROLE OF PUBOCOCCYGEUS MUSCLE IN  
URINARY CONTINENCE IN THE MALE RAT**

Jorge Manzo<sup>1</sup>, Adriana Esquivel<sup>1</sup>, María Elena Hernández<sup>1</sup>, Porfirio Carrillo<sup>1</sup>, Margarita Martínez-Gómez<sup>2</sup>, and Pablo Pacheco<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Neurootología, Universidad Veracruzana, A.P. 566, Xalapa, Ver., 91000, México; <sup>2</sup>Centro de Investigaciones Fisiológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala, A.P. 262, Tlaxcala, Tlax., 90000, México;

<sup>3</sup>Departamento de Fisiología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, A.P. 70228, México, D.F. 04510, México.

**RUNNING HEAD:** Pubococcygeus muscle and urinary continence

**MAILING PROOFS TO:** Dr. Jorge Manzo, Instituto de Neurootología, Universidad Veracruzana, A.P. 566, Xalapa, Ver., 91000, México. Phone: 52 (28) 12-5748; Fax: 52 (28) 12-5746; E-mail: [jmanzo@bugs.invest.uv.mx](mailto:jmanzo@bugs.invest.uv.mx)

**KEY WORDS:** Micturition, Cystometrogram, Pelvic floor, External urethral sphincter

**ABSTRACT**

The role of the male rat pubococcygeus muscle (Pcm) in the micturition reflex was analyzed. Anatomical features of Pcm, electrical stimulation of its nerve, electrical recording and stimulation of the muscle and cystometrograms were carried out. Results showed that Pcm has fibers attached to the ventrolateral part of the external urethral sphincter, and that its activity contributes to hold the tail in the midline. Pcm shows activity during fluid expulsion in cystometrograms and spontaneous micturitions. This activity produced reflex inhibition of detrussor contraction and was not the cause of intravesical high frequency oscillations. Thus, it is proposed that Pcm activity produces the discharge of its afferents which in turn activates a spinal reflex to promote continence.

## INTRODUCTION

The pubococcygeus muscle (Pcm), together with the iliococcygeus (Icm) and coccygeus muscles, structure the pelvic floor in the rat. Brink and Pfaff<sup>1</sup> have described the anatomy of these muscles. Pcm has its origin at the inner face of the pelvic bone, inserts in the caudal vertebrae 3 and 4<sup>1</sup>, and is innervated by the somatomotor branch (Smb) of the pelvic nerve<sup>2,3</sup>. Smb carries afferent and efferent axons from both Pcm and Icm<sup>2</sup>, with the motoneurons innervating Pcm localized in the ventral nuclei of lamina IX in the lumbosacral transition zone of the spinal cord (unpublished observations).

In humans it has been reported that the denervation of Pcm is implicated in stress incontinence of urine<sup>4</sup>, that pelvic floor exercise is a helpful therapy for incontinence problems<sup>5</sup>, and that the activity of pelvic floor muscles seems to be crucial for fecal continence<sup>6</sup>. However, there are few animal studies analyzing the physiological role of pelvic floor muscles in the pelvic area. We have shown in the female rat, that in addition to its origin and insertion, the Pcm is also attached to the ventrolateral surface of the vaginal and urethral walls<sup>2</sup>, and that contraction of Pcm and Icm produced by electrical stimulation of the Smb increases intravaginal pressure, probably through this attachment. Also, these muscles are reflexively activated by mechanostimulation of the clitoral sheet, perineum or lower vagina<sup>2</sup>.

In a preliminar study in the male rat, we found that spontaneous micturition in anesthetized subjects reflexively activates Pcm, a reaction replicated in cystometrogram-induced micturition<sup>7</sup>. Using cystometrograms, Maggi et al.<sup>8</sup> and Mallory et al.<sup>9</sup> found that the

intravesical pressure during voiding is accompanied by high frequency oscillations provoked by the activity of striated muscle(s). In spite of this, the only muscle studied to date has been the external urethral sphincter that shows activity during continence in humans<sup>10</sup> and voiding in rats<sup>11</sup>.

Thus, as the influence of Pcm on genitourinary structures is poorly understood, we performed several experiments to study the role of this muscle in the micturition reflex of the male rat. Objectives of this research were: 1) to investigate the anatomical features of Pcm in the male rat, and its electromyographic activity during stimulation of Smb, 2) to further analyze the reflex activation of Pcm during the cystometrogram-induced micturition reflex, and 3) to determine the effect that Pcm activity has on detrussor contraction.

## MATERIALS AND METHODS

### *Subjects and housing*

Adult male Wistar rats (250-350 g bw) anesthetized with Urethane (Sigma Chemicals, USA) at the beginning of each experiment (1.6g/kg bw; 20% aqueous solution; i.p. administration) were used. As detailed below, some animals were deeply anesthetized with the Urethane (2-2.5g/kg bw). Five animals per cage (50x30x20) were kept in an animal room at a constant temperature  $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ , and on a light-dark cycle of 12-12 h (lights on at 2200 h). Food (Purina rodent chow, México) and water were available *ad libitum*.

### *Anatomical features of Pcm (n=10)*

After an abdominal midline longitudinal incision, the pelvic viscera were carefully pulled outwards to facilitate Pcm and Smb dissection on either side of the animal. Additionally, the symphysis pubis was carefully removed to expose the Pcm in its entire length. The Smb was localized using the procedure previously described for the female rat<sup>2</sup>, and Pcm was identified using the description by Brink and Pfaff<sup>1</sup>. Anatomical drawings and photographs of dissections were prepared using an Olympus surgical microscope and an Olympus SLR camera.

### *Smb electrical stimulation and Pcm electromyogram (EMG, n=10)*

After identification and careful dissection of Smb it was transected proximally. The distal Smb was then placed on a bipolar silver chloride electrode connected to a Grass stimulus isolation unit that was activated by a Grass S48 stimulator. Squared pulses of 1 ms duration at a variable



voltage and rate were used to stimulate the distal Smb. Simultaneous EMGs from the Pcm were recorded through 0.1 mm dia stainless steel wires insulated to the tip. One end of the wires was inserted into the muscle and the other connected to Grass 7P3 wide band preamplifiers. EMGs were recorded in two places, one close to Pcm origin and the other close to Pcm insertion. Stimulus threshold was defined as the voltage applied to the distal Smb evoking the first visible Pcm EMG response. Recordings were displayed on a Tektronix 2214 digital storage oscilloscope and saved on Grabber II waveform transfer software installed in an IBM-compatible computer.

*Cystometrogram (CMG) and Pcm EMG simultaneous recording (n=10)*

CMGs were performed using the technique described by Maggi et al.<sup>8</sup>. A 20 gauge needle was inserted into the bladder dome and saline solution at 37°C infused into the bladder at a constant rate (0.1 ml/min). In some experiments the infusion rate was increased ( $\geq 0.3$  ml/min). The same needle was also connected to a pressure transducer (Gould-Statham, USA) that served to record variations in intravesical pressure. The transducer was connected to a Grass 79E polygraph. Saline infusion was continuous and after an equilibration period of ten minutes, fifteen micturition reflexes were triggered in each animal. Simultaneously with CMGs, EMG electrodes were inserted in the anterior or posterior half of Pcm and connected to another channel of the polygraph, allowing CMG and EMG traces to be printed in parallel on the same chart paper.

*Bladder distention and Pcm direct stimulation (n=14)*

Animals were prepared for CMGs and EMGs as previously described. However, the EMG electrodes were used instead to directly stimulate the muscle at different intensities and/or frequencies. In this case, the threshold was defined as the first visible contraction of the muscle seen under the surgery microscope. In some animals (n=6) the bladder was distended using the CMG device but the flow of fluid stopped before triggering the micturition reflex. Pcm was then directly to determine effects on the intravesical pressure. On the other hand, Pcm was also directly stimulated in deeply anesthetized animals (n=8) during continuous infusion of fluid into the bladder. In these animals the CMG-induced micturition reflex was abolished, and fluid leakage occurred during the remaining contraction-relaxation wave (unpublished observations).

## RESULTS

### *Anatomical features of Pcm*

The Pcm has a reddish appearance and previous gross anatomical findings were confirmed. The muscle was fleshy in its complete length and at the insertion point it was possible to see the tendons that attach to the vertebrae. At its origin the muscle was wider than at its insertion, giving it a triangular shape (Fig. 1A). Due to its length the muscle could be divided into the anterior (origin half) and posterior (insertion half) Pcm. However, as the muscle fibers ran the complete length of the muscle (histological unpublished observations), this division is descriptive rather than anatomical. In the ventral part of the anterior Pcm, there were fibers that curved medially and became attached to the ventrolateral part of the external urethral sphincter, which covered the membranous urethra. In the posterior Pcm, close contact of the ventral part of the muscle with the bulbourethral or Cowper's gland was observed (Fig. 1B).

### *Smb electrical stimulation and Pcm EMG recording*

The EMG responses of Pcm evoked by stimulation of Smb were different depending on whether the record was from the anterior or posterior half. In the anterior Pcm the responses consisted of 2-3 spikes with a mean latency of 2.7 ms (Fig. 2A). In the posterior Pcm the responses consisted typically of one spike with a mean latency of 4.9 ms (Fig. 2B). The transection of Smb distal to the stimulation site eliminated the EMG activity of the muscle, even if stimuli were applied at intensities 10 times greater than threshold. During Pcm activity no visible movement of the bladder or other structures was seen. However, a

mechanical effect was observed when the tail was manually displaced from the midline contralateral to the stimulated side. In this situation the contraction of Pcm returned the tail to the midline.

#### *Simultaneous recording of CMG and Pcm EMG*

The recording of simultaneous CMG and EMG from either half of Pcm indicated that during bladder filling the muscle was quiescent. However, when voiding occurred the Pcm showed EMG activity reliably correlated with the expulsion high-frequency-oscillation phase (HFO) of the micturition reflex (Fig. 3A-D). Both the anterior (Fig. 3A-B) and posterior halves (Fig. 3C-D) showed the EMG response, even if more than one HFO period was indicated by changes in the intravesical pressure (Fig. 3C). Similar to the pacing of HFO in the intravesical pressure, the EMG activity also showed a paced phasic pattern of discharge of the same duration ( $6.53 \pm 0.25$  s) and frequency (6-8 Hz) as the HFO. If the intravesical pressure increased without triggering the micturition reflex, the Pcm was not activated (Fig. 3E). After increasing the infusion rate ( $\geq 0.3$  ml/min), CMGs showed a long plateau phase with several short-lasting HFO periods. In this case Pcm EMG was reliably recorded in correlation with each HFO period (Fig. 4).

In three animals it was possible to record EMG activity of Pcm during spontaneous micturition (no needle inserted into the bladder). The configurations of these EMGs are depicted in Fig. 5A-B. When urine was expelled in a spurt pattern, the Pcm showed contractions that were correlated with the phasic EMG activity. The phasic activity then stopped suddenly and tonic activity started. This tonic response was correlated

with the termination of urine expulsion. In one of these subjects, Pcm EMG activity was recorded during manual squeezing of the urinary bladder under conditions in which its distention was not enough to initiate spontaneous voiding. Gentle squeezing evoked high frequency tonic reflex activity that was maintained during stimulation (Fig. 5C), and when squeezing was enough to provoke voiding, the EMG showed the phasic activity (Fig. 5D). When the urinary bladder was released, the EMG activity and urine expulsion were no longer observed.

#### *Bladder distention and direct stimulation of Pcm*

The direct stimulation of Pcm had effects on detrusor contraction when 2-3 times above threshold in the anterior half or 6-8 times above threshold in the posterior part at 8-10 Hz frequency (minor intensities or frequencies did not provoke any effect). In this paradigm Pcm activity produced an inhibition of detrusor contraction in both the stopped fluid preparation and the deeply anesthetized continuous infusion preparations, and the detrusor activity began again some seconds after stimulus withdrawal (Fig. 6). During the inhibitory period, the fluid dripping in deeply anesthetized subjects was stopped.

A further finding from this experiment was that no matter the frequency or intensity of the stimuli used in the above paradigm, the activity of Pcm was not reflected in the intravesical record, and the stretch alone of the muscle had not effect on detrusor contraction.

## DISCUSSION

While the results support the anatomical organization of Pcm reported by Brink and Pfaff<sup>1</sup>, they also demonstrate attachment of this muscle to the external urethral sphincter and Cowper's gland. The former seems to represent an homologous attachment to that in females, which have the Pcm attached to the ventrolateral surface of the vaginal and urethral walls<sup>2</sup>, while the latter probably could account for the supply of striated muscle fibers existing in the septa and capsule of Cowper's gland<sup>12</sup>.

The EMG responses of Pcm during Smb stimulation suggest that this muscle is composed of striated fibers of different size, although the reddish appearance of Pcm suggests that it is mainly composed of small muscle fibers. Although smooth muscle fibers have been found in the human Pcm<sup>4</sup>, this is an issue that deserves more thorough investigation in the rat. On the other hand, in contrast to the suggestion of Brink and Pfaff<sup>1</sup> that Pcm could participate in the ipsilateral deviation of the tail, in this study the electrical stimulation of Smb indicated that Pcm contributes to holding the tail in the midline.

The surgical preparations for CMGs and Pcm EMGs showed that this muscle is activated during the voiding evoked by both CMGs and spontaneous micturition. The role of striated muscles in urine expulsion has been demonstrated in several species<sup>8,13,14</sup>, and although only the external urethral sphincter has been considered, here we demonstrate that Pcm is another muscle which is active during voiding in the male rat. Furthermore, considering that Sachs and Liu<sup>15</sup> found dramatic effects on urine expulsion after transection of the motor branch of the

puddental nerve, probably the external urethral sphincter and Pcm are just two of several striated muscles that influence the passage of urine from the bladder through the whole urethra.

In bladder-distention and Pcm direct-stimulation experiments, the activity of Pcm evoked by direct stimulation relaxed the bladder detrussor muscle for a period of time which extended beyond stimulus withdrawal. As Pcm was quiescent when the bladder was filling and its activity started right at the beginning of voiding, our explanation for this result is that Pcm activity probably produces the discharge of some of its afferents which in turn become integrated at spinal cord levels to modulate the intensity of bladder detrussor contraction. Furthermore, this integration seems to require a 8-10 Hz frequency (a frequency similar to the high frequency oscillations seen during the CMC-induced micturition<sup>8,9</sup>), because the tonic afferent discharge provoked by Pcm stretch was not effective in inducing the effect. The lumbosacral spinal cord is known to be involved in the complex integration of visceral and somatic afferents from the pelvic region<sup>16</sup> and that it can activate selectively the different muscles of the pelvic floor<sup>17</sup>. It therefore seems likely that the activity of Pcm triggers some continence process through the reflexive modulation of detrussor tension.

Finally, as even high intensity Pcm stimulation was not reflected in oscillations in the intravesical pressure, the intravesical high frequency oscillations recorded during voiding in rats<sup>8,9</sup> must be produced by the activity of other muscle(s) with the external urethral sphincter as the main candidate. Furthermore, as the stimulation of various nerves of the pelvis has been used as a therapy for the treatment of urinary and fecal

incontinence in humans<sup>19</sup>, the direct muscle stimulation used in this study could be useful for the investigation of those muscles having nerves which are difficult to reach and stimulate, as is the case for the nerves of a number of muscles in the pelvic area.



### CONCLUSIONS

The extent to which the neuromuscular system or somatic control participate in the physiology of micturition has been discussed for several years<sup>4,11,13,14</sup>. The participation of the somatic nervous system is commonly regarded as the activity of the external urethral sphincter<sup>11,18</sup> and to a lesser extent of the pelvic floor<sup>4,5</sup>. In this study we provide further information indicating the role of the striated Pcm in these processes. The results suggest a role for Pcm in the continence process, a finding that would be consistent with the report of incontinence problems in humans with denervation of Pcm<sup>4</sup>. Considering that pelvic floor muscles are related to fecal continence function<sup>6</sup>, maintenance of continence could be a general role of some muscles at the pelvic region, the Pcm being one of them.

## REFERENCES

1. Brink, E.E. and Pfaff, W.D.: Vertebral muscles of the back and tail of the albino rat (Rattus norvegicus albinus). Brain Behav. Evol., **17**: 1, 1980.
2. Pacheco, P., Martínez-Gómez, M., Whipple, B., Beyer, C. and Komisaruk, B.R.: Somato-motor components of the pelvic and pudendal nerves of the female rat. Brain Res., **490**: 85, 1989.
3. Lucio, R.A., Manzo, J., Martínez-Gómez, M., Sachs, B.D. and Pacheco, P.: Participation of pelvic nerve branches in male rat copulatory behavior. Physiol. Behav., **55**: 241-246, 1994.
4. Gilpin, S.A., Goslin, J.A., Smith, A.R.B. and Warrel, D.W.: The pathogenesis of genitourinary prolapse and stress incontinence of urine. A histological and histochemical study. Br. J. Obstet. Gynaecol., **96**: 15, 1989.
5. Wishaw, M.K. and Fonda, D. Is there a role for drug therapy in the treatment of urinary incontinence in the elderly?. Med. J. Australia, **160**: 430, 1994.
6. Dubrovsky, B. and Filipini, D.: Neurobiological aspects of the pelvic floor muscles involved in defecation. Neurosci. Biobehav. Rev., **14**: 157, 1990.

7. Manzo, J., Esquivel, A., Vázquez, M.I., Cruz, Y. and Pacheco, P.: Striated muscle activity during the micturition reflex in the rat and micturition patterns in a sexual context. Soc. Neurosci. Abstr., **20**: 1754, 1994.
8. Maggi, C.A., Giuliani, S., Santicoli, P. and Meli, A.: Analysis of factors involved in determining urinary bladder voiding cycle in urethane-anesthetized rats. Am. J. Physiol., **251**: R250, 1986.
9. Mallory, B.S., Steers, W.D. and de Groat, W.C.: Electrophysiological study of micturition reflexes in rats. Am. J. Physiol., **257**: R410, 1989.
10. de Groat, W.C. and Steers, W.D.: Autonomic regulation of the urinary bladder and sexual organs. In: Central Regulation of Autonomic Functions. Edited by A.D. Loewy and K.M. Spyer. New York: Oxford University Press, pp. 310-333, 1990.
11. Kruse, M.N., Noto, H., Roppolo, J.R. and de Groat, W.C.: Pontine control of the urinary bladder and external urethral sphincter in the rat. Brain Res., **532**: 182, 1990.
12. Setchell, B.P., Maddocks, S. and Brooks, D.E.: Anatomy, vasculature, innervation, and fluids of the male reproductive tract. In: The Physiology of Reproduction. Edited by E. Knobil and J. Neill. New York: Raven Press, Ltd. 2nd Edition, pp. 1063-1176, 1994.

13. Kuru, M.: Nervous control of micturition. *Physiol. Rev.*, **45**: 425, 1965.
14. Nishizawa, O., Satoh, S., Harada, T., Nakamura, H., Fukuda, T., Tsukada, T. and Tsuchida, S.: Role of the pudendal nerves on the dynamics of micturition in the dog evaluated by pressure flow EMG and pressure flow plot studies. *J. Urol.*, **132**: 1036, 1984.
15. Sachs, B.D. and Liu, Y.-C.: Copulatory behavior and reflexive penile erection in rats after section of the pudendal and genitofemoral nerves. *Physiol. Behav.*, **51**: 673, 1992.
16. Honda, C.N: Visceral and somatic afferent convergence onto neurons near the central canal in the sacral spinal cord of the cat. *J. Neurophysiol.*, **53**: 1059, 1985.
17. Dubrovsky, B., Martínez-Gómez, M. and Pacheco, P.: Spinal control of pelvic floor muscles. *Exp. Neurol.*, **88**: 277, 1985.
18. Elbadawi, A. and Schenk, E.A.: A new theory of the innervation of bladder musculature, IV. innervation of the vesicourethral junction and external urethral sphincter. *J. Urol.*, **111**: 163, 1974.

19. Brindley, G.S.: Treatment of urinary and faecal incontinence by surgically implanted devices. In: Neurobiology of incontinence (Ciba Foundation Symposium 151). Chichester: Wiley, pp.267-282, 1990.

## LEGENDS

FIG. 1. Diagram of the topographic organization of the pubococcygeus muscle. A: after removing the symphysis pubis it is possible to see the entire length of the muscle as well as the origin and insertion. B: shows the close contact of the muscle with the bulbourethral gland, and the fibers attached to the external urethral sphincter.

FIG. 2. Electromyograms of the pubococcygeus muscle during stimulation of its nerve. A: responses recorded from the origin half. B: responses recorded from the insertion half. Stimulus to the nerve was applied at the beginning of each trace. Arrows show the first response of the muscle. Subsequent responses have latencies which depend of the site of recording. T = threshold values of stimuli.

FIG. 3. Simultaneous cystometrograms and pubococcygeus muscle electromyograms. A-D: muscle activity recorded during voiding high-frequency-oscillation phase of the micturition reflex. A-B: EMG records from the origin half. C-D: EMG records from the insertion half. E: shows that when detrussor contractions did not trigger the micturition reflex the EMG activity of the pubococcygeus muscle was not present. Cystometrogram infusion rate = 0.1 ml/min.

## LEGENDS

FIG. 1. Diagram of the topographic organization of the pubococcygeus muscle. A: after removing the symphysis pubis it is possible to see the entire length of the muscle as well as the origin and insertion. B: shows the close contact of the muscle with the bulbourethral gland, and the fibers attached to the external urethral sphincter.

FIG. 2. Electromyograms of the pubococcygeus muscle during stimulation of its nerve. A: responses recorded from the origin half. B: responses recorded from the insertion half. Stimulus to the nerve was applied at the beginning of each trace. Arrows show the first response of the muscle. Subsequent responses have latencies which depend of the site of recording. T = threshold values of stimuli.

FIG. 3. Simultaneous cystometrograms and pubococcygeus muscle electromyograms. A-D: muscle activity recorded during voiding high-frequency-oscillation phase of the micturition reflex. A-B: EMG records from the origin half. C-D: EMG records from the insertion half. E: shows that when detrussor contractions did not trigger the micturition reflex the EMG activity of the pubococcygeus muscle was not present. Cystometrogram infusion rate = 0.1 ml/min.

FIG. 4. Simultaneous cystometrogram and pubococcygeus muscle activity recorded during a long plateau phase of the micturition reflex. EMG responses are reliably correlated with the several voiding high frequency oscillation phases of the reflex. Dashes indicate voiding periods. Cystometrogram infusion rate  $\geq 0.3$  ml/min.

FIG. 5. Pubococcygeus muscle activity recorded during spontaneous micturition. A-B: phasic EMG response correlated with urine expulsion. After emptying of the bladder the phasic response stopped. C: tonic EMG during gentle squeezing of the bladder and no micturition reflex. D: phasic EMG during the micturition reflex provoked by stronger squeezing of the bladder. Lines below EMG traces in C and D represent duration and intensity of squeezing.

FIG. 6. Cystometrograms obtained from a distended bladder in a stopped fluid preparation. Upper trace represents the pacing of detrusor contraction. Lower trace shows the immediate inhibitory effect produced by the direct electrical stimulation of the pubococcygeus muscle at the level of its insertion half. Bar indicates the stimulation period with 8T and 10 Hz.



FIG. 4. Simultaneous cystometrogram and pubococcygeus muscle activity recorded during a long plateau phase of the micturition reflex. EMG responses are reliably correlated with the several voiding high-frequency-oscillation phases of the reflex. Dashes indicate voiding periods. Cystometrogram infusion rate  $\geq 0.3$  ml/min.

FIG. 5. Pubococcygeus muscle activity recorded during spontaneous micturition. A-B: phasic EMG response correlated with urine expulsion. After emptying of the bladder the phasic response stopped. C: tonic EMG during gentle squeezing of the bladder and no micturition reflex. D: phasic EMG during the micturition reflex provoked by stronger squeezing of the bladder. Lines below EMG traces in C and D represent duration and intensity of squeezing.

FIG. 6. Cystometrograms obtained from a distended bladder in a stopped fluid preparation. Upper trace represents the pacing of detrusor contraction. Lower trace shows the immediate inhibitory effect produced by the direct electrical stimulation of the pubococcygeus muscle at the level of its insertion half. Bar indicates the stimulation period with 8T and 10 Hz.

**ACKNOWLEDGMENTS**

This study was supported by grants from PADEP-UNAM 030375, 030329 and 030320 (J.M.); Universidad Veracruzana (J.M.); and CONACYT PhD scholarship Reg. 84385 (J.M.).

We wish to thank Dr. Robyn Hudson for her kind revision of the manuscript and her excellent guidance in the written English.

**ADDRESS REPRINT REQUEST:**

Dr. Jorge Manzo. Instituto de Neurootología, Universidad Veracruzana, A.P. 566, Xalapa, Ver., 91000, México.

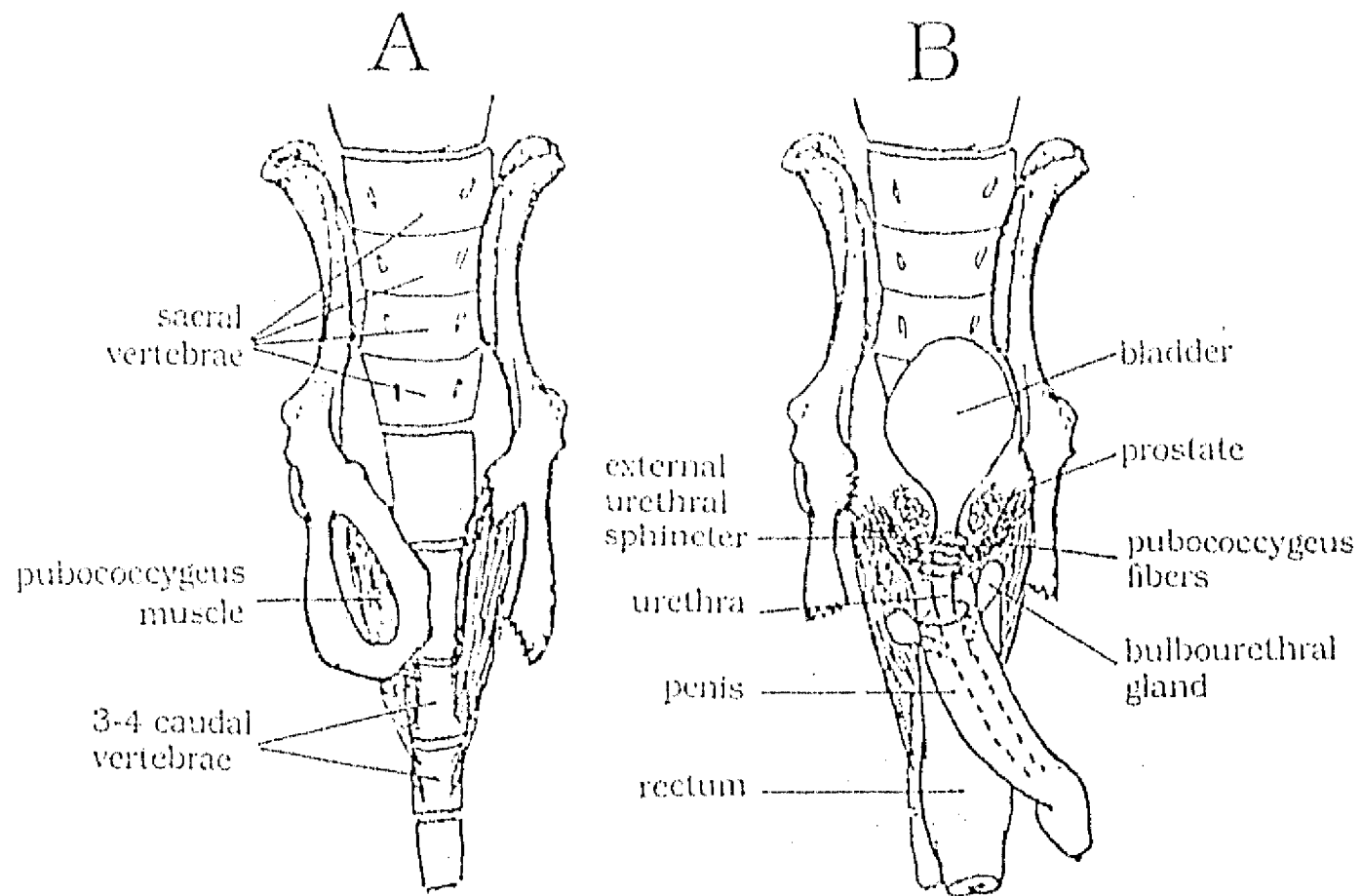


FIG. 1

Pubococcygeus EMG

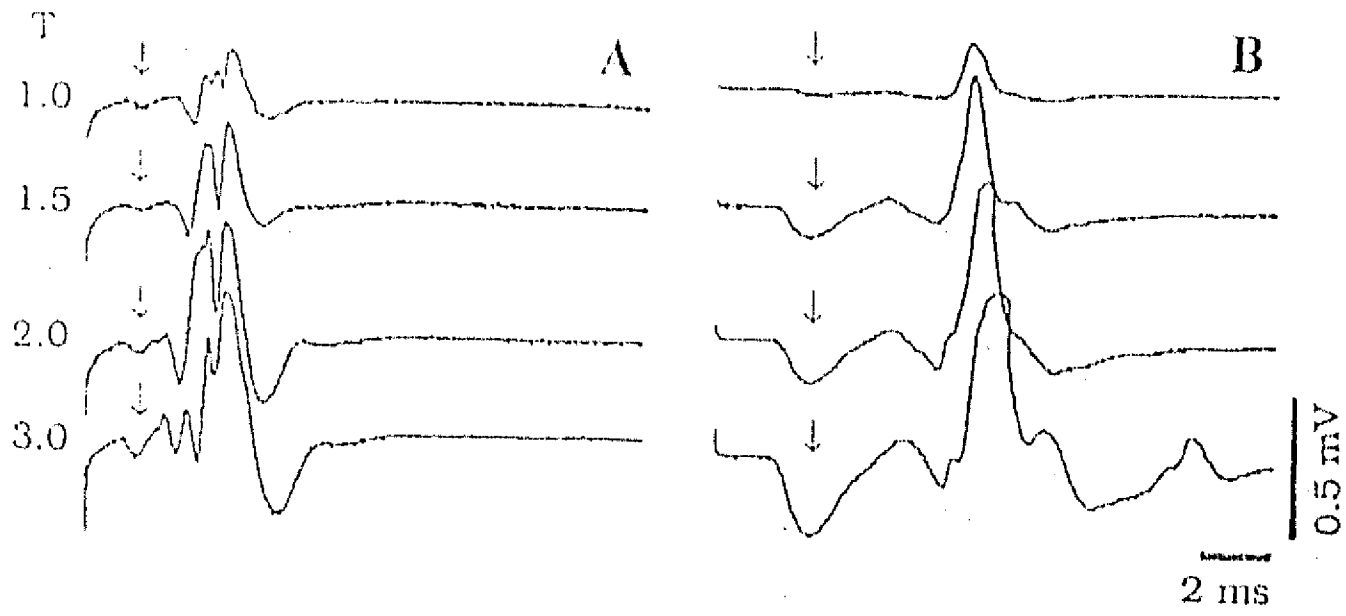


FIG. 2

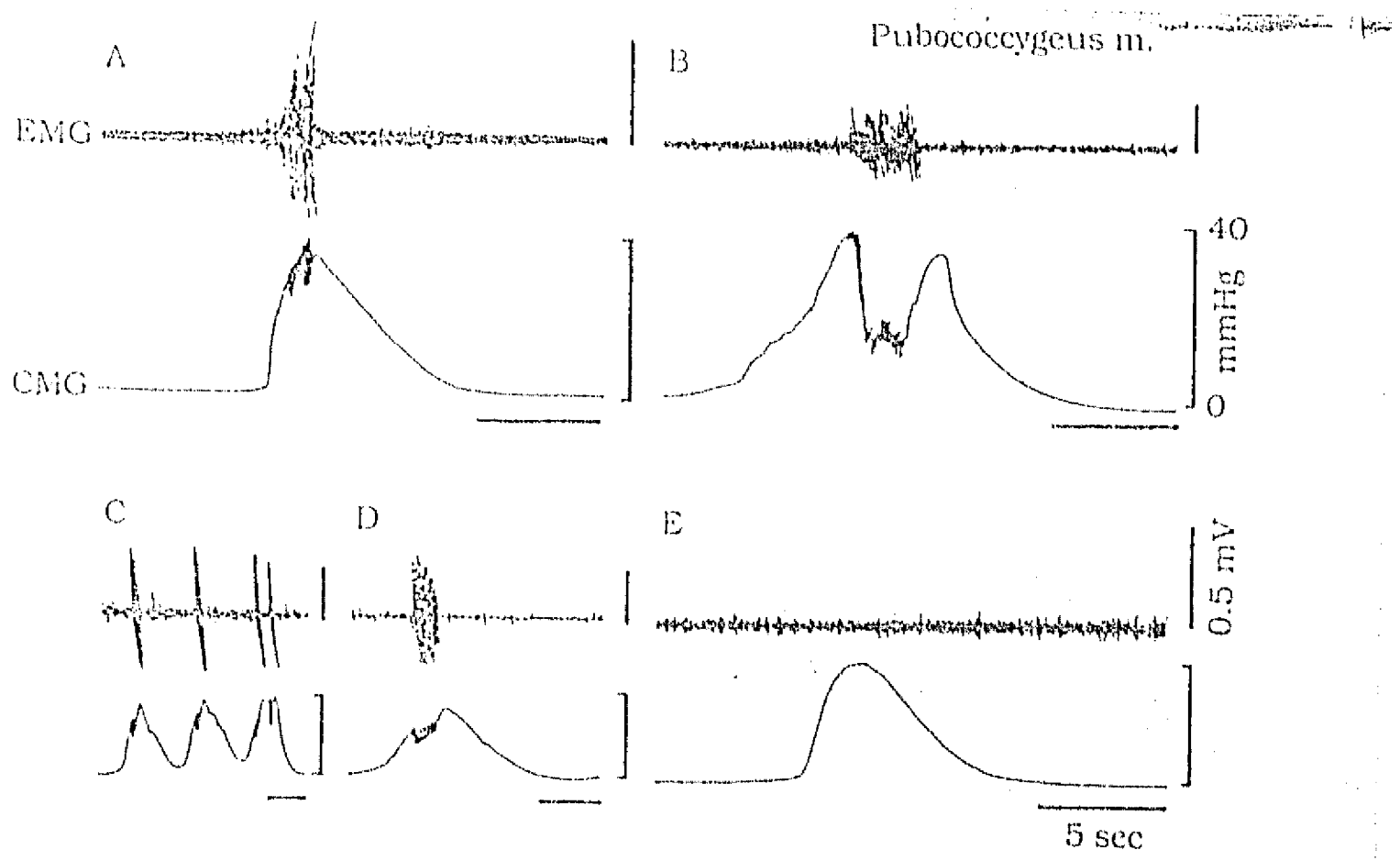


FIG. 3

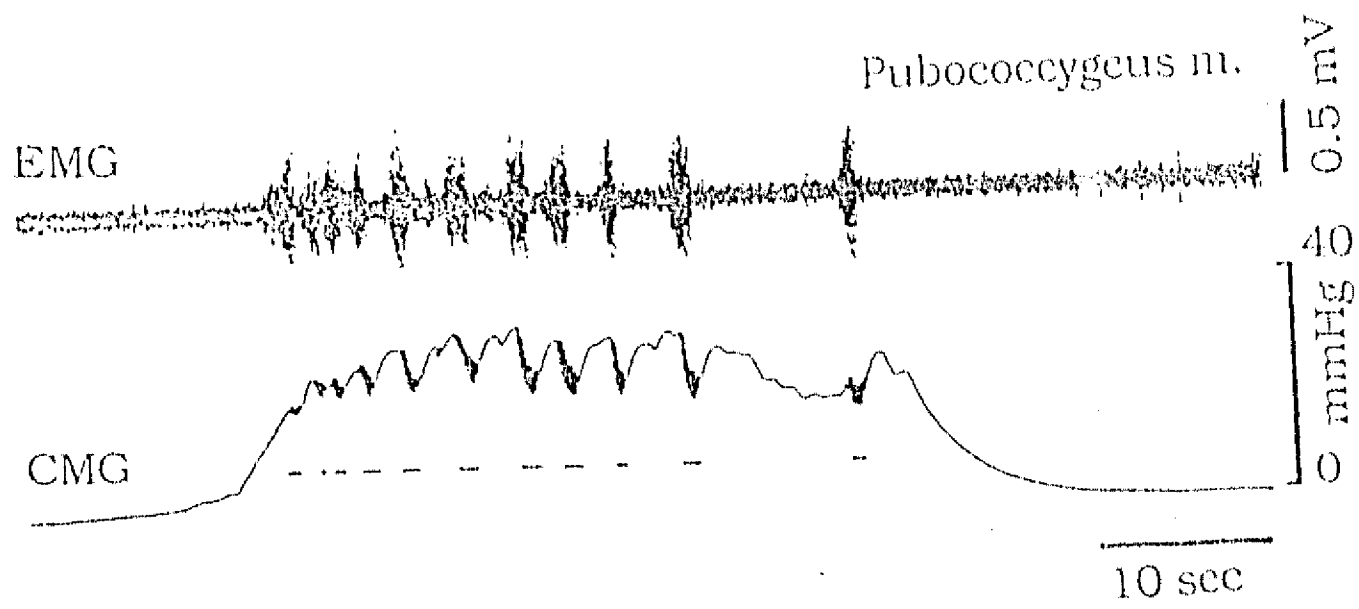


FIG. 4

Pubococcygeus EMG

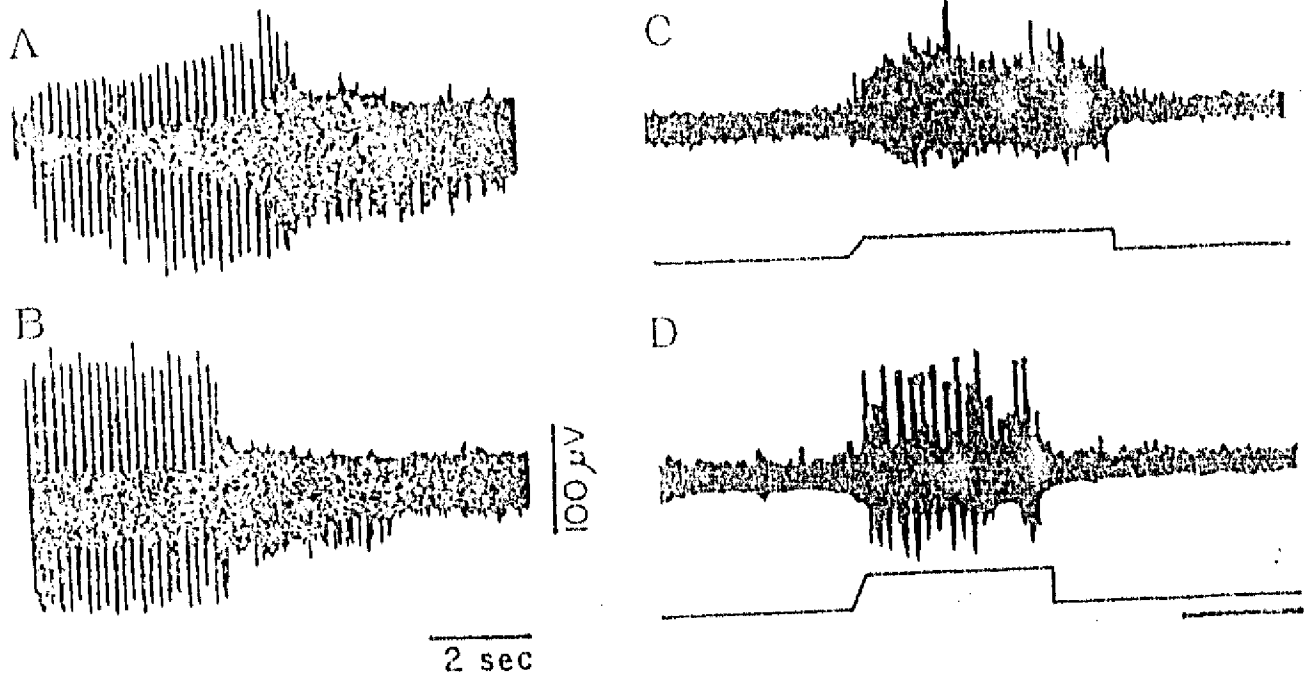


FIG. 5

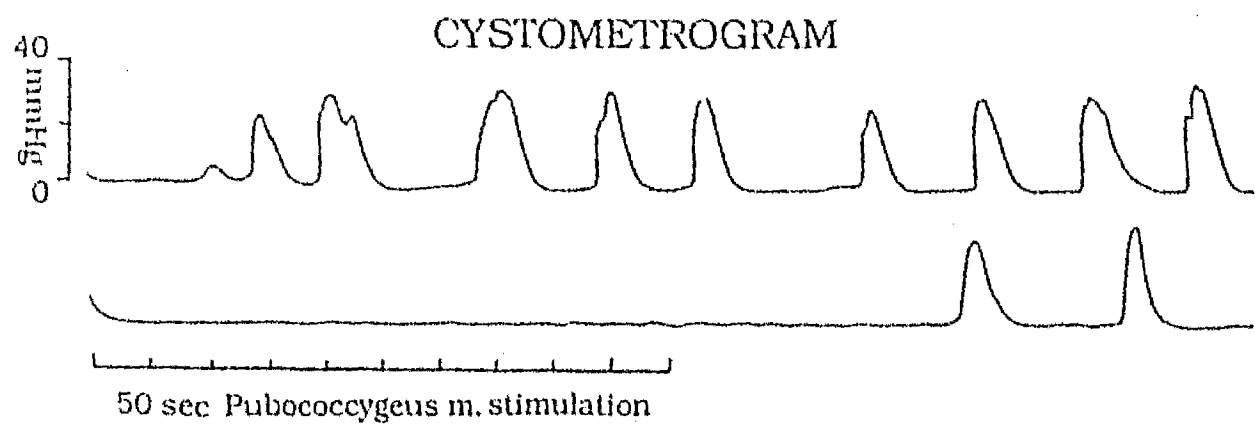


FIG. 6



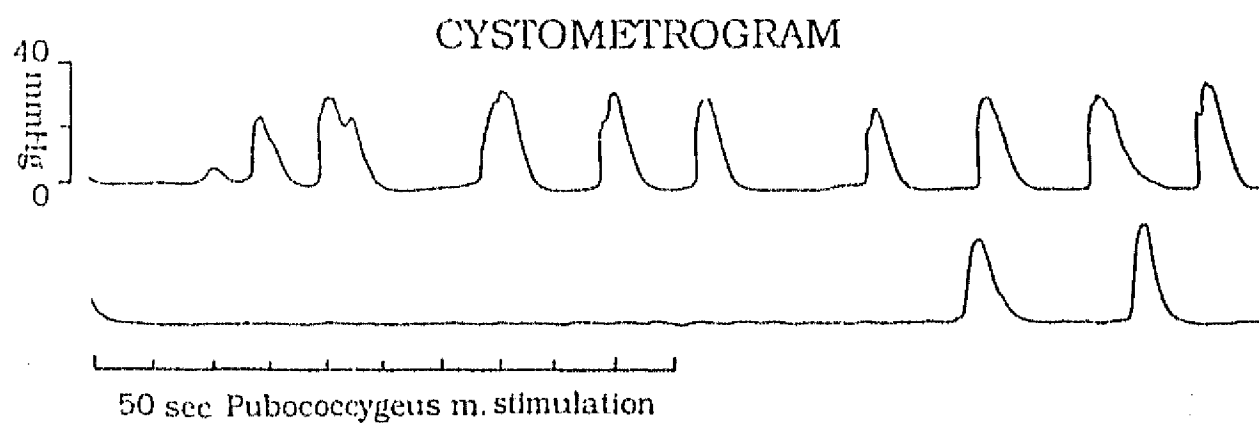


FIG. 6