

Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas



Estimulación eléctrica inalámbrica del nervio
bulboesponjoso en la coneja doméstica
(*Oryctolagus cuniculus*) añosa múltipara

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

Diego Arturo Zacapa López

Codirectores

Dra. Margarita Martínez Gómez

Dr. Mario Romero Ortega

Tutores

Dr. Ismael Jiménez Estrada

Dra. Dora Luz Corona Quintanilla

Tlaxcala, Tlax. enero de 2024

Índice

Resumen.....	5
Introducción	7
Micción e incontinencia urinaria.....	8
Terapéutica de la IU: Neuromodulación	10
Capítulo primero: Técnica quirúrgica para la implantación de micro estimuladores en los nervios del piso pélvico.....	13
Antecedentes	14
Estudios del piso pélvico en modelos animales	14
Justificación	15
Objetivo general.....	15
Objetivos específicos.....	15
Material y Métodos.....	15
Animales	15
Abordaje y técnica quirúrgica	16
Análisis estadístico.....	16
Resultados	17
Abordaje quirúrgico del nPc	17
Abordaje quirúrgico del mBe y de los nBe y nCli	19
Morfometría de los nervios perineales y pélvicos.....	21
Discusión	23
Conclusiones	25
Capítulo segundo: Estimulación eléctrica alámbrica aguda.....	26
Antecedentes	27
La coneja como modelo de estudio de estimulación de MPP	27
Justificación	28
Hipótesis.....	29
Objetivo general.....	29
Objetivos específicos.....	29
Material y métodos.....	29
Animales	29

.....	30
Determinación del umbral de estimulación de los nPc y nBe	30
Presión vaginal perineal	33
Presión uretral	34
Determinación de fuerza de contracción muscular	35
Análisis estadístico	35
Resultados	36
Umbral de estimulación eléctrica	36
Presión vaginal perineal	38
Presión uretral	40
Fuerza de contracción muscular	42
Discusión	44
Conclusiones	46
Capítulo tercero: Estimulación eléctrica inalámbrica crónica.....	47
Antecedentes	48
Neuromodulación de nervios periféricos específicos.....	48
Justificación	50
Hipótesis.....	51
Objetivo general.....	51
Objetivos específicos.....	51
Material y métodos	52
Animales	52
Condición de multiparidad	52
Prueba del pañal	52
Implante del estimulador inalámbrico NeuroClip	54
Estudios urodinámicos	56
Colecta de tejidos	56
Análisis estadístico.....	57
Resultados	58
Discusión	65
Conclusiones	67
Bibliografía	68

Anexos	73
1. Introduction	76
2. Materials and methods	77
2.6 Non-survival surgery	80
2.6.1 Functional cystometry analysis	80
2.7 Statistical analysis.....	81
3. RESULTS.....	81
3.1 Voiding Spot Assay	81
3.2 Urodynamic variables.....	82
3.3 Morphometric variables.....	82
4. DISCUSSION.....	82
5. Figure legends	84
.....	85
.....	86
.....	87
6. Conflict of Interest.....	91
Author Contributions	91
7. Funding and acknowledgments	91
8. References.....	92
Deciphering and hacking the pelvic floor code: What have we learned from the women of Tlaxcala?	94
The study of UI in non-human models	98
The female rabbit as a model in pelvic floor studies	101
Hacking the pelvic floor: the neurostimulation	103
Lessons from women of Tlaxcala	104
Conclusions	105
Perspectives	106

Resumen

El estudio del piso pélvico ha cobrado relevancia en las últimas décadas, posiblemente, como consecuencia del conocimiento actual sobre el efecto que tiene la experiencia reproductiva (embarazo y parto) y el envejecimiento sobre los componentes que forman dicha estructura. Los trastornos del piso pélvico femenino afectan a una mayor proporción de la población femenina y se proyecta que en algunas décadas serán de las enfermedades de mayor prevalencia a nivel global.

Dentro de la amplia gama de problemas a investigar, algunos estudios se han orientado hacia la terapéutica de los trastornos del piso pélvico, tales como la incontinencia urinaria y el prolapso de órganos pélvicos. Actualmente, se disponen de una gran variedad de terapias para tratar los principales síntomas del tracto urinario, desde modificaciones conductuales, reeducación vesical, tratamientos farmacológicos, tratamientos quirúrgicos y más recientemente, la neuromodulación, a través de dispositivos implantables, intravaginales o percutáneos. Varios de los dispositivos utilizados, han sido aprobados por la FDA (Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos) para su uso en seres humanos, con ventajas y desventajas propias de los implantes bioelectrónicos, por ejemplo el tamaño que aún es grande con respecto a los sitios anatómicos en donde se implantan, la necesidad de recambios de batería, la migración de los dispositivos, la falla durante el tratamiento, algunos efectos colaterales y quizá uno de los menos considerados, la falta de especificidad en los órganos diana a estimular. A partir de esa problemática y de algunos estudios anatomofuncionales de un modelo de estudio, como la coneja doméstica, surgen varias preguntas y objetivos, como el efecto que tiene la estimulación eléctrica de nervios específicos que regulan la contracción de músculos particulares del piso pélvico; además si la estimulación eléctrica modifica o reduce algunos de los signos y los síntomas más comunes de los trastornos del piso pélvico, especialmente dentro del amplia prevalencia de la incontinencia urinaria femenina.

El objetivo general de la presente tesis fue determinar el efecto de la estimulación eléctrica inalámbrica del nervio bulboesponjoso en la coneja doméstica añosa múltipara. Para ello, el documento fue dividido en tres capítulos, como se detalla a continuación.

En el primer capítulo se examinaron diversos accesos quirúrgicos para diseccionar a los músculos pubococcígeo, bulboesponjoso y sus nervios homónimos que los controlan (nPc, nBe y nCli como control) en la coneja doméstica, destacando las ventajas y desventajas de cada acceso en relación al tamaño y la forma del dispositivo a implantar.

En el segundo capítulo se evaluaron los cambios en la presión vaginal y uretral durante la estimulación alámbrica de los nervios pubococcígeo, bulboesponjoso y clitoral en el modelo de coneja doméstica. Así mismo se describen las características de la estimulación y morfometría de cada nervio, así como la fuerza de contracción generada por cada uno de los músculos en respuesta de la estimulación de sus respectivos nervios.

Para el tercer capítulo se implantó un electrodo miniaturizado de activación inalámbrica para probar en un grupo de conejas añosas multíparas un protocolo de estimulación eléctrica en el nervio bulboesponjoso y los cambios que ocasiona tanto en la conducta de micción y en las variables urodinámicas. Los resultados de este tratamiento fueron el incremento en el volumen de expulsión de orina, en los periodos intermicción y la duración de la micción y reducción en el número de pérdidas de orina. Sugerimos que estos hallazgos, tienen un efecto sobre las propiedades estructurales de la vejiga urinaria, debido a que al final del tratamiento aumentó el peso de la misma, lo que puede estar mediado por efectos directos sobre la musculatura perineal o quizá mediante mecanismos neuroplásticos que inciden en los reflejos que han sido estudiados previamente.

Los anteriores resultados confirman la idea de que se pueden establecer y utilizar tratamientos de neuromodulación de alta especificidad para la de ciertas estructuras, como los músculos del piso pélvico y con un futuro impacto para los múltiples trastornos del piso pélvico.

Introducción

El aparato urinario en humanos está constituido por los riñones, los uréteres, la vejiga urinaria y la uretra. La vejiga urinaria y la uretra son órganos que están en estrecha relación con el aparato reproductor debido a los elementos anatómicos compartidos y a su ubicación. Ambos órganos se localizan dentro de la cavidad pélvica, que esta delimitada por huesos y por un “piso de musculatura estriada”, que parece formar un diafragma, denominado “músculos del piso pélvico” (MPP) (Hall, 2009).

Los MPP incluyen al complejo muscular elevador del ano (*Levator ani*) compuesto a su vez por los músculos puborrectal, iliococcígeo (mIlc) y pubococcígeo (mPc). Asimismo, en la parte más distal se localizan los músculos perineales como el transverso del periné, el bulboesponjoso (mBe) y el isquiocavernoso (mIsc) (Bharucha, 2006). Este conjunto de músculos estriados tiene la función de contener las vísceras pélvicas y participar de forma activa en procesos de micción, defecación, durante el coito y, en mujeres, durante el proceso de parto.

El origen de los MPP es a partir de las somitas toracoabdominales del dominio abaxial (Seeley, R. Stephens, T. Tate, 2001). Sin embargo, otros autores refieren que los músculos del diafragma pélvico (*Levator ani* y *coccígeo*) y, probablemente, los músculos estriados del ano y de los órganos sexuales (Moore, Persaud, & Torchia, 2016) (perineales) derivan de las somitas tercera sacra a primera coccígea (Hamilton & Mossman, 1972). El adecuado desarrollo e integridad de dicha musculatura, así como de vías nerviosas que regulan su función, resulta de gran importancia para evitar alteraciones reproductivas (prolapso de vísceras genitales) (Iglesia & Smithling, 2017), de continencia (incontinencia fecal, urinaria (IU), retención urinaria) (Lien, Mooney, Delancey, & Ashton-Miller, 2004; Shin, Toto, & Schey, 2015) y trastornos de la micción (enuresis, tenesmo vesical, nocturia, polaquiuria, poliuria (Carvalho Pereira et al., 2014).

Micción e incontinencia urinaria

El aparato urinario lleva a cabo funciones de almacenamiento y expulsión de orina, que son de gran importancia para mantener el estado dinámico de la homeostasis (Hall, 2009). La micción se define como el proceso por el cual la vejiga urinaria expulsa a la orina, que periódicamente se almacena. Las dos fases de este proceso son: almacenamiento y expulsión. Durante la fase de almacenamiento el esfínter externo de la uretra (EEU) se contrae para que la presión en la uretra incremente y se lleve a cabo el cierre uretral, lo que contribuye a la continencia urinaria. Mientras, en la fase de expulsión el EEU se relaja, disminuye la presión en la uretra y el músculo liso vesical se contrae para favorecer la salida de la orina a través de la uretra. Ambos procesos son coordinados por el sistema nervioso y endócrino (Fowler, Griffiths, & De Groat, 2008).

Durante el ciclo de vida de las hembras de clase *mammalia*, los procesos naturales de reproducción (gestaciones y partos) y el envejecimiento provocan cambios morfo-fisiológicos en el complejo neuromuscular (nervios, unidades neuromusculares y músculos estriados) del piso pélvico. Es posible, que en cada parto o la suma de éstos promueva modificación en el complejo neuromuscular y se propicien prolapsos de órganos pélvicos y disfunciones del aparato urinario inferior, tales como urgencia miccional, retención urinaria no obstructiva o vejiga hiperactiva e IU (Carvalho Pereira et al., 2014).

La IU se puede definir desde tres perspectivas clínicas, como: 1) Síntoma, la queja de cualquier pérdida involuntaria de orina; 2) Signo, la observación de la pérdida de orina durante la exploración médica y 3) Condición, la evidencia diagnóstica obtenida mediante estudios de urodinamia (Abrams et al., 2003). De esta manera, las distintas alteraciones que subyacen a la IU determinan el grado de severidad y complejidad de la misma.

La International Continence Society clasifica a la IU en 3 categorías:

A. La IU de esfuerzo, definida como la queja de pérdida involuntaria de orina durante un evento que ocasione incremento de presión intraabdominal, por ejemplo al estornudar o toser.

B. La IU por urgencia, se define como la queja de la pérdida involuntaria de orina acompañada por (o inmediatamente precedida de) urgencia miccional y un deseo impostergable y repentino de orinar.

C. La IU mixta se define como la queja de pérdida involuntaria de orina asociada con urgencia y con esfuerzo (Abrams et al., 2003).

La IU constituye un problema médico y social importante; si bien no es un proceso de riesgo vital, si deteriora significativamente la calidad de vida de los pacientes, limita su autonomía y reduce su autoestima (Secretaría de Salud, 2009).

A pesar de que en México los estudios sobre la prevalencia de la IU en mujeres han sido pocos, las cifras de su prevalencia en nuestro país son alrededor de 14 - 50 % en poblaciones de 15 a 85 años (Cuevas-Romero et al., 2017; Espinoza et al., 2006; García-Pérez, Harlow, Sampsel, & Denman, 2013). Mientras que en países europeos, la prevalencia de IU es 10 - 35% en mujeres mayores de 18 años (Hannestad, Rortveit, Sandvik, & Hunskaar, 2000; Hunskaar, Lose, Sykes, & Voss, 2004), con una tendencia a la alza correspondiente con la edad a partir de los 55 años (Hannestad et al., 2000; Hunskaar et al., 2004). En el ámbito mundial la prevalencia de la IU estimada para 2018 en hombres y mujeres mayores de 20 años fue de 302, 919, 365 casos, de los cuales las mujeres representan el 71.5 %. La IU de esfuerzo representó el 50% de todos los casos en mujeres, seguida por la IU mixta y finalmente la IU de urgencia (Irwin, Kopp, Agatep, Milsom, & Abrams, 2011). En concordancia con otros estudios, a nivel mundial la IU incrementa con la edad, siendo que en personas >70 años, el 40% de ellas padecen algún tipo de IU (Irwin et al., 2011). Además de la edad existen otros factores que facilitan la presencia de la IU, incluidos la obesidad y la paridad (Wilson, Herbison, & Herbison, 1996). Los cambios fisiológicos que tienen lugar en el organismo de la mujer embarazada se asocian con una prevalencia elevada de IU (42%), hasta los 2 meses posteriores al parto en un 38% (Mørkved & Bø, 1999). Lo anterior indica que además del componente mecánico durante el embarazo, existen alteraciones sobre el sustrato anatómico de los componentes del piso pélvico (músculos y nervios) que subyacen a la elevada prevalencia de IU postparto y en grupos de edad avanzada (Carvalho Pereira et al., 2014; Wilson et al., 1996).

Terapéutica de la IU: Neuromodulación

Para tratar alteraciones del aparato urinario inferior las guías de salud para el diagnóstico y tratamiento de la IU en México, es recomendable iniciar con modificaciones del estilo de vida, entrenamiento vesical y rehabilitación de MPP, seguido por tratamientos farmacológicos específicos (Secretaría de Salud, 2009) y, como última opción, los tratamientos quirúrgicos como la uretropexia retropúbica, suspensión pubovaginal con colocación de mallas o anclajes vesicales, o colporrafia anterior (Norton & Brubaker, 2006).

Uno de los tratamientos más recientes utilizados en la práctica para IU de urgencia y en algunos casos de IU de esfuerzo y mixta es la terapia de neuromodulación. A pesar de que su mecanismo de acción permanece incierto hasta el día de hoy, los resultados con algunos dispositivos de estimulación sacral y transvaginal ha hecho que su uso en humanos haya sido aprobado por la FDA. Así, se ha reportado que en mujeres de ≥ 25 años con evidencia urodinámica de IU de esfuerzo, IU de urgencia o IU mixta, posterior a 8 semanas de recibir estimulación eléctrica transvaginal, disminuyó el número de mujeres que presentaron IU de urgencia (caracterizada por hiperactividad vesical) desde un 54% pretratamiento hasta 27% postratamiento (Brubaker, Benson, Bent, Clark, & Shott, 1997).

Scheepens y colaboradores (2002) determinaron en mujeres y hombres de 53 años de edad promedio con IU y/o retención urinaria, utilizaron un implante sacral con el objetivo de evaluar a largo plazo su eficiencia y seguridad. Los datos obtenidos de los diarios vesicales mostraron una disminución en frecuencia de micción, número de accidentes (pérdidas involuntarias de orina) y número de toallas sanitarias usadas. En los pacientes con retención urinaria disminuye el volumen de orina residual; así como la necesidad de colocación de catéteres para drenar la vejiga (Scheepens, Van Koevinge, De Bie, Weil, & Van Kerrebroeck, 2002).

Groen y colaboradores (2005), mostraron que en mujeres con IU de urgencia idiopática (hiperactividad vesical refractaria diagnosticada por urodinamia) y con un mini-estimulador adyacente al nervio pudiendo, después de 6 meses de estimulación determinaron que se redujo el número de episodios de IU y aumentó el volumen de orina por micción (Groen, Amiel, & Bosch, 2005).

En otro estudio, 43 pacientes (hombres y mujeres) con IU de urgencia refractarios a tratamientos con anticolinérgicos, mediante electrodos transcutáneos recibieron estímulos eléctricos en el nervio tibial posterior. Los resultados al final del primer mes indicaron una mejoría en el 53% de los participantes, ya que aumentó su capacidad vesical. Sin embargo, existen pocos estudios sobre el mecanismo de acción de este tipo de tratamiento. El efecto de la estimulación del nervio tibial posterior se podría explicar por el hecho de que el nervio lleva información sensorial hacia médula espinal L4-S3 y segmentos espinales donde se regulan funciones vesicales, como S2-S3 (Ammi et al., 2014).

Es evidente que los nuevos tratamientos de neuromodulación han reportado una reducción de signos y síntomas de la IU de urgencia, sobre todo, donde las terapias conservadoras como la farmacológica o la conductual han fracasado. Sin embargo, los estudios realizados en seres humanos, solamente, se han centrado en el tratamiento de IU de urgencia, a pesar de que la IU de esfuerzo es la más frecuente de todas. Por otro lado, las características técnicas de los dispositivos y métodos de neuromodulación hasta la fecha aprobadas son muy limitadas para su aplicación en seres humanos. Los efectos secundarios y los riesgos colaterales a su uso siguen coartando la masificación de estas opciones terapéuticas.

Otra opción que resulta relevante es el uso de modelos animales para determinar los mecanismos que subyacen desórdenes del piso pélvico, como la IU de esfuerzo; así como la posibilidad de explorar e innovar en el campo de la biomedicina para el desarrollo de nuevas técnicas de neuromodulación que sean menos invasivas, más específicas, cómodas de portar y utilizar, y que presenten la menor cantidad de efectos secundarios a nivel micro y macroscópico en los portadores.

La presente tesis está organizada en tres capítulos, el primero describe los aspectos quirúrgicos del abordaje neuromuscular del piso pélvico, principalmente músculo y nervio del bulboesponjoso, órganos blanco de de nuestro estudio. En el segundo capítulo se caracterizaron los parámetros de estimulación eléctrica alámbrica del nBe, nPc y nCli, así como el efecto de la estimulación eléctrica sobre la presión vaginal, uretral y la fuerza de contracción de las estructuras musculares que controlan. Para el último capítulo se describen los pormenores de la implantación y estimulación inalámbrica sub crónica del nBe, además

de los efectos de estimulación crónica del nBe sobre la conducta de micción y parámetros urinarios en el modelo de coneja múltipara.

Capítulo primero:

Técnica quirúrgica para la implantación de
micro estimuladores en los nervios del piso
pélvico

Antecedentes

Estudios del piso pélvico en modelos animales

Realizar estudios de investigación que dentro de sus objetivos requieren el desarrollo de procedimientos quirúrgicos sin modelos animales es inviable debido a la naturaleza intrínseca de dichos estudios. Dentro del campo de la biomedicina se ha tratado de disminuir el número de animales *in vivo* para ser utilizados en procedimientos experimentales, principalmente, en países desarrollados (Simkin, Greene, Jung, Sacks, & Fessler, 2017). Sin embargo, de acuerdo con los últimos datos, en México continúa siendo la opción más viable y económica para realizar actividades de investigación científica, a pesar de su disminución en una década (Taylor & Alvarez, 2019).

Las ventajas en las características de crianza y manutención de pequeñas y medianas especies, así como el desarrollo y publicación del código de Núremberg en 1947 y la declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial en 1964, así como otras convenciones y declaraciones han sido algunas de las principales razones que justifican el uso de modelos animales para la experimentación quirúrgica (Cámara de Diputados del H. Congreso de la Unión, 2014).

Estudios anatómicos y fisiológicos del área pélvica han sido practicados en modelos animales. La coneja ha sido utilizada por nuestro grupo de trabajo desde hace más de 26 años (Martínez-Gómez, Lucio, Carro, Pacheco, & Hudson, 1997). A partir de aquellos notables descubrimientos, estudios más especializados en electrofisiología y urodinamia se han realizado de manera sostenida hasta la fecha (Hernández-Bonilla et al., 2023).

Al día de hoy, utilizando la búsqueda específica [“bulbospongiosus nerve” anatomy] en la literatura científica, sólo un resultado es mostrado (Hernandez-Reynoso et al., 2021), sin embargo, no hay una descripción pormenorizada de la técnica quirúrgica.

Justificación

Las metodologías y las técnicas quirúrgicas concretas utilizadas por nuestros colegas durante ya varios años han sido expuestas de manera sucinta y adaptadas a las preguntas de investigación específicas de esos estudios, sin embargo para nuestros objetivos particulares no se adaptan, no existe una técnica quirúrgica sistematizada que permita el abordaje anatómico al nervio del mBe, por ello es relevante la sistematización y descripción de la misma.

Objetivo general

Implementar y estandarizar la técnica quirúrgica para la implantación del estimulador inalámbrico en nervios específicos del piso pélvico de la coneja nulípara.

Objetivos específicos

- Describir dos abordajes quirúrgicos para identificar y exponer al mBe y mPc en el modelo animal de coneja nulípara.
- Describir las características morfométricas de los nervios nBe, el nPc y el nCli en el modelo animal de coneja nulípara.

Material y Métodos

Animales

Se utilizaron 18 conejas adultas de raza Chinchilla (*Oryctolagus cuniculus*) de 12 meses de edad, divididas en tres grupos (n = 6, cada grupo): 1) Nervio Pubococcígeo (nPc), 2) Nervio Bulboesponjoso (nBe) y 3) Nervio Clitoral (nCli), como grupo control.

Los animales de los tres grupos se mantuvieron alojados en jaulas individuales de acero inoxidable (50 x 60 x 40 cm), bajo condiciones de bioterio en el Centro Tlaxcala de Biología

de la Conducta (Universidad Autónoma de Tlaxcala) con un ciclo de luz/oscuridad de 16/8 h, a temperatura de 24 ± 2 °C, con 200 gramos de alimento (Purina Coneja Chow) al día y agua *ad libitum*.

Abordaje y técnica quirúrgica

Bajo anestesia general con uretano al 20%, corroborando la profundidad de la misma mediante la ausencia de reflejo de retiro ante estímulo álgico, se exploraron diferentes abordajes quirúrgicos para la colocación del implante inalámbrico de segunda generación (NeuroClip). Para acceder al mPc y nPc se exploraron accesos quirúrgicos ventrales y dorsales según la disposición anatómica del mPc y de su nervio específico (Cruz, Corona-Quintanilla, Juárez, & Martínez-Gómez, 2010).

A diferencia de los accesos del mPc y nPc, la disposición anatómica descrita previamente del mBe y del nCli (Cruz et al., 2010; Cruz, Hudson, Pacheco, Lucio, & Martínez-Gómez, 2002) solo justifican el acceso ventral. Las incisiones realizadas para acceder a ambas estructuras anatómicas se exploraron según las líneas de tensión de la piel de la zona genital.

Análisis estadístico

Los datos fueron expresados como media \pm error estándar (EE) y fueron sometidos a una prueba de normalidad de Shapiro-Wilks. Para determinar si hay diferencias significativas se consideró el valor de $P \leq 0.05$. Los datos se analizaron con la ayuda del paquete de análisis estadístico Sigma Plot 12.

Resultados

Abordaje quirúrgico del nPc

Para disecar y exponer al mPc y al nPc según los diagramas anatómicos publicados por Cruz y cols en 2010, 2017 se exploró primero un acceso dorsal; para ello con el animal en decúbito ventral y previa administración de uretano al 20% por vía I.P., se realizó tricotomía y asepsia de la zona toracolumbar hasta el primer tercio de la cola. Se realizó una incisión de 30 mm longitudinal a la línea media y a la altura de la espina iliaca, aproximadamente a la mitad de la distancia entre la cresta iliaca y la tuberosidad isquiática, ~15 mm lateral a la tercera vértebra coccígea (Cc3) (Figura 1). Después se cortaron los músculos glúteos y se disecó el músculo coccígeo, seguido de la separación de las fibras musculares en dirección a la espina iliaca hasta llegar a la zona de tejido adiposo que rodea al paquete neurovascular por donde corre la rama del nPc y otras ramas de los nervios sacros 3 y 4.



Figura 1. Abordaje quirúrgico posterior. El animal se colocó en decúbito prono y se identificaron referencias anatómicas (izquierda) por donde pasa el paquete neurovascular del plexo sacro de cual derivan las ramas nerviosas al nPc (derecha).

La segunda vía de acceso es a través de la pared ventral del clítoris. La incisión se realizó en sentido oblicuo de medial a lateral de ~30 mm de longitud, justo en la línea de tensión que forma el surco clitoral siguiendo el borde del ángulo infra púbico (Figura 2). Con esta incisión se evita lastimar las venas pudendas, que están paralelas al cuerpo clitoral y evitar la posible lesión del nCli. Posteriormente, se disecó por planos hasta localizar la inserción tendinosa del mIsc con el arco isquiático y se desinsertó para acceder al hueco pélvico. Se realizó una incisión longitudinal en sentido cráneo-caudal sobre el tejido adiposo y conectivo, justo en el borde craneal de la glándula bulbouretral. De esta manera, se accedió a la porción media del mPc que corre oblicuo en sentido craneocaudal y lateromedial adosado al mIlc. Se incidió la aponeurosis y se disecó el resto de tejido conectivo, se observó la separación anatómica entre los músculos y se disecó el tejido adiposo con cautela para evitar romper los vasos sanguíneos y el nPc (Figura 3).



Figura 2. Abordaje quirúrgico anterior. El animal se colocó en decúbito supino y se identificaron referencias anatómicas del borde inferior de la sínfisis púbica y el arco isquiático. En la imagen se representan los huesos de la cadera, en línea roja punteada el sitio y la trayectoria de la incisión.

En ambos accesos quirúrgicos se comprobó la inervación del mPc, a través de la estimulación del nPc, mediante la colocación de un par de electrodos de gancho de plata de 0.2 mm de diámetro y aplicación de pulsos cuadrados de estimulación eléctrica de 0.4 mA con corroboración visual de la contracción del músculo ipsilateral y el desplazamiento lateral de la cola en el mismo sentido.

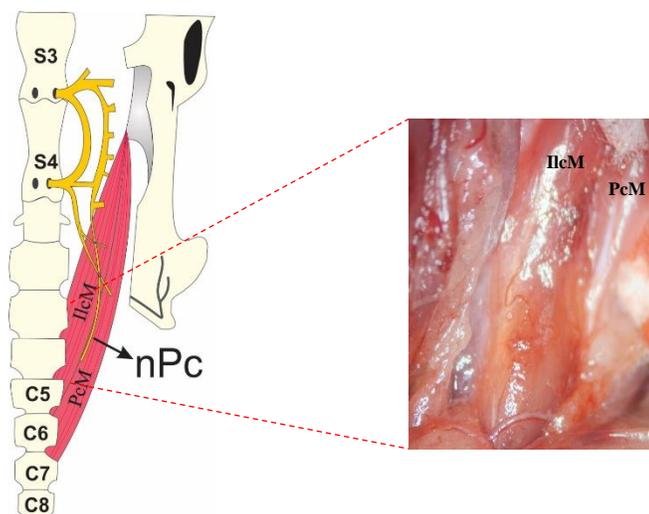


Figura 3. Abordaje quirúrgico anterior del mPc. Representación gráfica de la disposición de los músculos Pubococcígeo (PcM) e Ileococcígeo (IlcM) en la coneja. Se observa además el recorrido del nervio pubococcígeo (nPc) y una fotografía tomada con microscopio estereoscópico

Abordaje quirúrgico del mBe y de los nBe y nCli

Para el mBe y sus nervios relacionados (nBe y nCli) se utilizó una vía de acceso ventral mediante una incisión en la piel en la línea media del cuerpo clitoral de 20mm de longitud a partir del borde inferior de la sínfisis del pubis (Figura 4). Se disecó el tejido conectivo y por planos se expuso al mBe. Se disecó uno de los bordes siguiendo el trayecto de las venas pudendas para identificar el nCli, una vez identificado se procedió a disecar el nCli que corre oblicuo, craneocaudal en sentido latero-medial debajo del borde inferior de la sínfisis púbica. Como mayor referencia se puede seguir el trayecto de los vasos sanguíneos pudendas que corren paralelos al mBe en sentido cráneo-caudal. El nCli es el nervio de mayor calibre en esa zona. Se sigue el trayecto del nervio en dirección craneal hasta encontrar una rama que

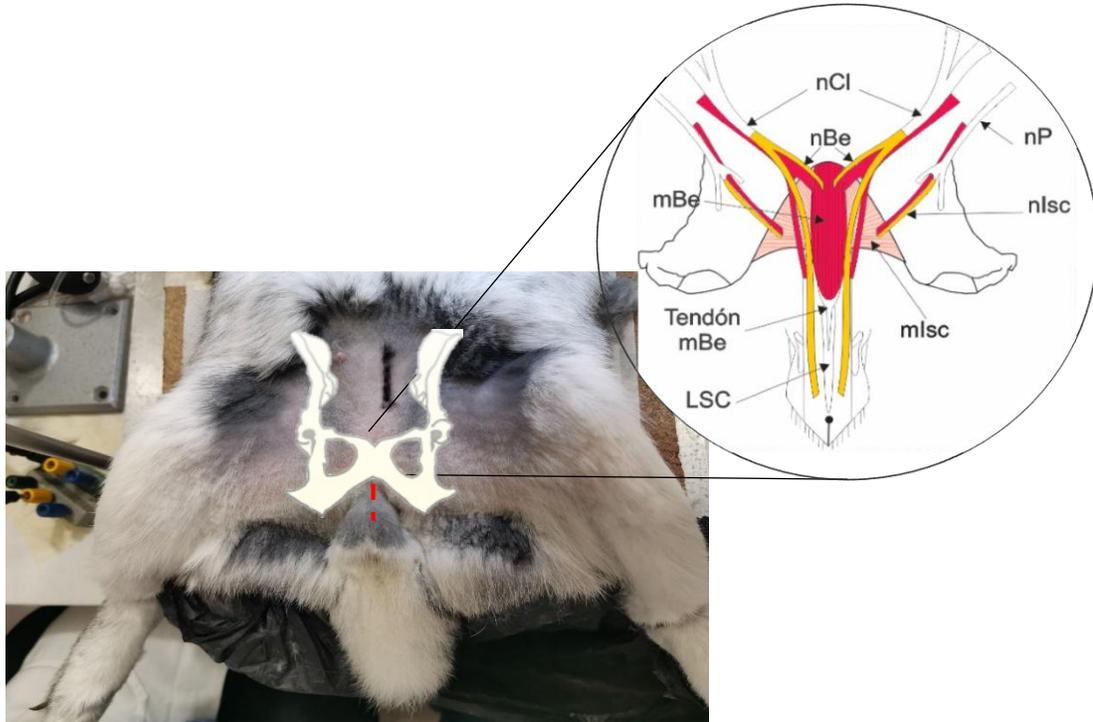


Figura 4. Esquema anatómico del abordaje quirúrgico anterior. Se señala con una línea punteada roja la incisión a nivel de la base del clítoris y se magnifica la anatomía de los músculos perineales y su innervación. Nervio clitoral (nCl), nervio bulboesponjoso (nBe), músculo bulboesponjoso (mBe), nervio pudendo (nP), nervio isquiocavernoso (nIsc), músculo isquiocavernoso (mIsc), ligamento suspensorio del clítoris (LSC).

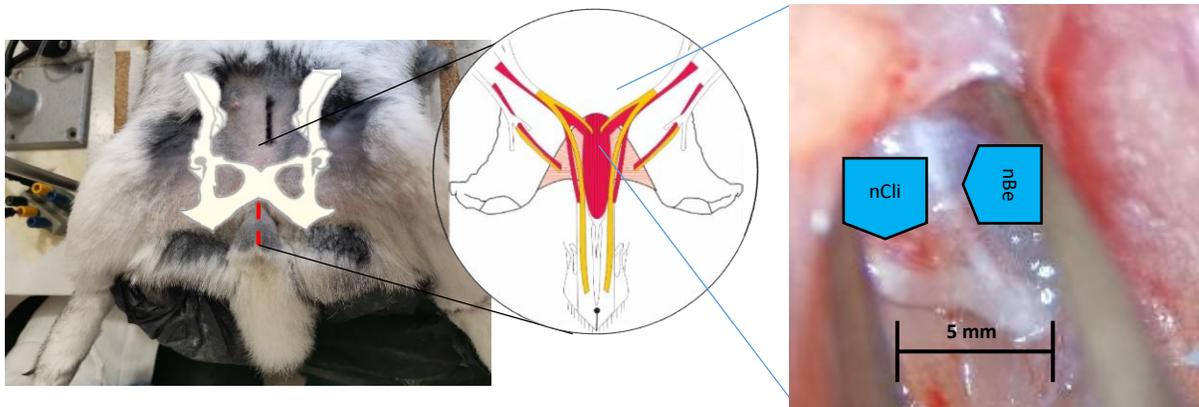


Figura 5. Incisión de acceso anterior medial para abordaje del nBe y nCli. Se indica la bifurcación donde se separa el nBe del nCl.

discurre perpendicular a la región más craneal del mBe, esta rama es varias veces más delgada que el nCli y al seguir su trayectoria se observa que penetra lateralmente al músculo. Esta rama es el nBe (Figura 5). Una vez disecados y expuestos los nervios (nBe y nCli) se

colocaron de forma individual sobre un par de electrodos de plata de 0.2 mm de diámetro. Se aplicaron pulsos cuadrados de corriente eléctrica de 0.4mA para verificar la contracción del mBe o de toda la vulva cuando se estimula el nCli.

Los datos obtenidos sobre las características morfométricas de los nervios, así como su umbral de estimulación eléctrica fueron obtenidos y analizados con un ANOVA de una vía.

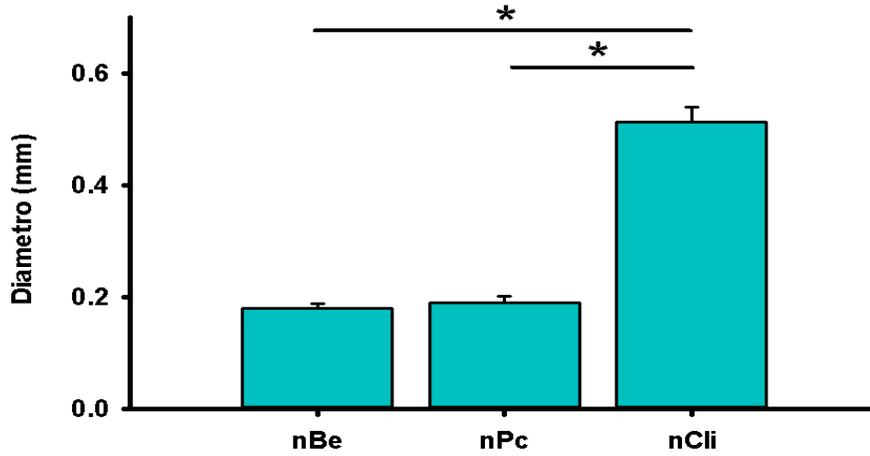
Morfometría de los nervios perineales y pélvicos

La estadística descriptiva muestra que el diámetro del nPc es de 0.190 ± 0.012 mm, mientras que para el nBe el diámetro es de 0.180 ± 0.008 mm. Finalmente el nCli tuvo un diámetro de 0.513 ± 0.026 mm (Tabla 1, Gráfica 1, Figura 6).

Diámetro de los nervios					
Nervio	Número	Faltantes	Promedio	Error estándar	I.C. del promedio
nBe	6	0	0.180	0.00894	0.0230
nPc	6	0	0.190	0.0121	0.0311
nCli	6	0	0.513	0.0263	0.0676
Nervio	Max	Min	25%	75%	
nBe	0.220	0.160	0.170	0.190	
nPc	0.240	0.150	0.180	0.200	
nCli	0.630	0.450	0.460	0.520	
Nervio	K-S Dist.	K-S Prob.	SWilk W	SWilk Prob	
nBe	0.343	0.026	0.814	0.078	
nPc	0.201	0.534	0.942	0.672	
nCli	0.292	0.114	0.870	0.228	

Tabla 1. Resultados del análisis estadístico descriptivo del diámetro de los nervios pélvicos (nPc) y perineales (nBe, nCli) del piso pélvico de la coneja. La tabla se tradujo del archivo original.

Diámetro de los nervios del piso pélvico y perineales



Grafica 1. Diámetro de los nervios pélvicos (nPc) y perineales (nBe, nCli) del piso pélvico de la coneja. No se observaron diferencias significativas entre los nBe y nPc. * ($P=0.003$).

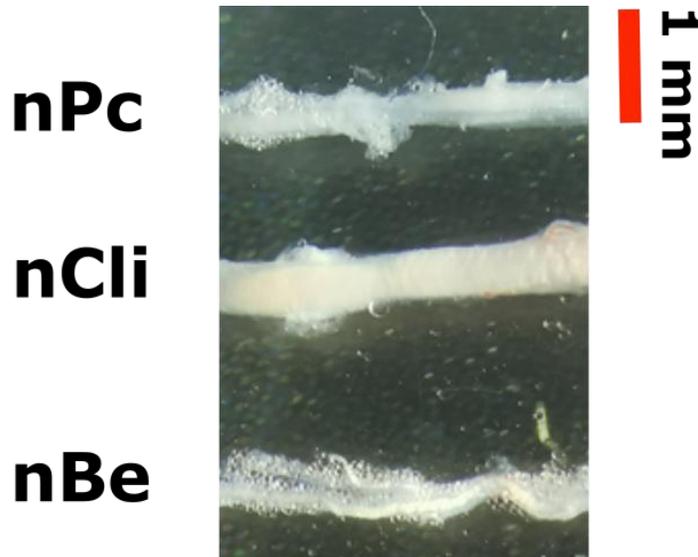


Figura 6. Microfotografía comparativa del diámetro de los diferentes nervios de las estructuras del piso pélvico en conejas. Algunos de ellos mantienen restos de tejido adiposo y tejido conectivo. nPc, nervio pubococcígeo; nCli, nervio clitoral; nBe, nervio Bulboesponjoso.

Discusión

Los resultados de este primer capítulo demuestran la complejidad de las características anatómicas del área pélvica en relación con algunos de los músculos y nervios que la conforman. Muchos estudios del área pélvica han sido desarrollados para responder a las más diversas preguntas de investigación, algunos han sido realizados en modelos animales sencillos de mantener como la rata, en los cuales se explora y se caracterizan estructuras musculares importantes en los procesos de micción en machos (Langdale, Hokanson, Sridhar, & Grill, 2017; Lehtoranta et al., 2006). Sin embargo, nuestra pregunta se fundamenta en los trastornos del piso pélvico de hembras, otros modelos muestran desventajas debido que en la rata hembra, algunos músculos, como el mBs, son vestigiales, es decir no se encuentran desarrollados, por lo que otros modelos animales domésticos, como la coneja, ofrecen mayores similitudes comparadas con el ser humano (Gill, Moore, & Damaser, 2010).

En nuestro grupo de investigación se han realizado diferentes estudios del área pélvica desde hace ya varios años (Corona-Quintanilla, Castelán, Fajardo, Manzo, & Martínez-Gómez, 2009; Cruz et al., 2010; Hernández-Bonilla et al., 2023; Hernandez-Reynoso et al., 2021; López-Juárez et al., 2017; Martínez-Gómez et al., 1997). Sin embargo, en ninguno de ellos se describe la ubicación de las estructuras nerviosas que controlan a los mBe, mIsc o mPc. Muy a pesar de la eficaz descripción y diagramas realizados por Martínez-Gómez y colaboradores en 1997 sobre las estructuras musculares y nerviosas relacionadas con el tracto vaginal de conejas (Cruz et al., 2017; Martínez-Gómez et al., 1997).

De acuerdo con nuestro estudio, los nervios específicos que controlan los músculos mPc y mBe son nervios de calibre muy pequeño, en promedio 200 micrómetros, lo mismo que un par de cabellos humanos. Éste hecho hace especialmente difícil la manipulación de estas estructuras tomando en cuenta el plano de incisión desde el cual se trabaja y las estructuras vasculares que se encuentran adyacentes.

Se ha probado ya de manera aguda la implantación de un electroestimulador en el nBe (Hernandez-Reynoso et al., 2021), utilizando nuestra técnica y acceso quirúrgico descritos en este trabajo. Los resultados que se publicaron indican que la implantación aguda del dispositivo permite provocar contracción del mBe y con ello un incremento de la presión

uretral, ambos hallazgos indican que el acceso y la técnica quirúrgica es viable para lograr la implantación de este tipo de dispositivos estimuladores inalámbricos miniaturizados.

Por otra parte, la exploración quirúrgica de la colocación de estos estimuladores (NeuroClip) nos ha permitido confirmar que el dispositivo a pesar de ser un elemento de dimensiones consideradas miniatura (Hernandez-Reynoso et al., 2021) sigue siendo grande para las dimensiones de las estructuras nerviosas (200 micras en promedio). Por ello, es importante enfatizar en las futuras actualizaciones del hardware del dispositivo para facilitar la colocación del mismo y asegurar el correcto acoplamiento con los nervios a estimular, sobre todo pensando en terapias de estimulación de varias semanas de duración.

Conclusiones

El acceso quirúrgico posterior es viable para la disección y localización del nPc y el mPc; pero genera daño a músculos y arterias glúteas, lo que dificulta una adecuada implantación del electro-estimulador inalámbrico.

El acceso quirúrgico anterior también encontró un impedimento anatómico para la implantación del electro-estimulador debido al área quirúrgica reducida ($\sim 2\text{cm}^2$), sobre todo cuando el acceso se considera conservador (sin desinsertar la musculatura isquiática), bajo esas condiciones solo se visualiza de forma parcial el mPc, pero no se logró observar su nervio.

Las ventajas del acceso posterior o dorsal son la cercanía del mPc y su rama nerviosa del plano de la piel, $\sim 15\text{mm}$. Sin embargo, es necesario incidir a los músculos glúteos y sus arterias, así como separar el músculo coccígeofemoral para acceder a la cavidad pélvica. Esta separación de las fibras musculares permite respetar la anatomía del mPc, aunque es necesario realizar una disección cuidadosa para evitar dañar el paquete neuromuscular ciático, además la separación de las fibras musculares implica el desgarramiento accidental de algunas de ellas y de pequeñas arterias que irrigan a dicho músculo lo que complica la visualización correcta de las estructuras anatómicas cuando el campo quirúrgico se llena de sangre. Las ventajas del acceso quirúrgico anterior son la preservación (cuando es conservador) de todas las estructuras musculares.

Con respecto al abordaje del nBe y el nCli. Se pudo realizar por la parte ventral del animal sin mayor complicación debido a que tanto el mBe, como el nBe y el nCli son estructuras inmediatas inferiores a la piel del clítoris. Realizando una disección cuidadosa se logra identificar sin lesionar a las estructuras nerviosas más pequeñas. Lo anterior justifica el acceso quirúrgico anterior como la mejor opción para la colocación del NeuroClip en el nBe.

Capítulo segundo:

Estimulación eléctrica alámbrica aguda

Antecedentes

La coneja como modelo de estudio de estimulación de MPP

El acceso quirúrgico posterior es viable para la disección y localización del nPc y el mPc; pero genera daño a músculos y arterias glúteas, lo que dificulta una adecuada implantación del electro-estimulador inalámbrico.

El acceso quirúrgico anterior también encontró un impedimento anatómico para la implantación del electro-estimulador debido al área quirúrgica reducida ($\sim 2\text{cm}^2$), sobre todo cuando el acceso se considera conservador (sin desinsertar la musculatura isquiática), bajo esas condiciones solo se visualiza de forma parcial el mPc, pero no se logró observar su nervio.

Las ventajas del acceso posterior o dorsal son la cercanía del mPc y su rama nerviosa del plano de la piel, $\sim 15\text{mm}$. Sin embargo, es necesario incidir a los músculos glúteos y sus arterias, así como separar el músculo coccígeofemoral para acceder a la cavidad pélvica. Esta separación de las fibras musculares permite respetar la anatomía del mPc, aunque es necesario realizar una disección cuidadosa para evitar dañar el paquete neuromuscular ciático, además la separación de las fibras musculares implica el desgarramiento accidental de algunas de ellas y de pequeñas arterias que irrigan a dicho músculo lo que complica la visualización correcta de las estructuras anatómicas cuando el campo quirúrgico se llena de sangre. Las ventajas del acceso quirúrgico anterior son la preservación (cuando es conservador) de todas las estructuras musculares.

Con respecto al abordaje del nBe y el nCli. Se pudo realizar por la parte ventral del animal sin mayor complicación debido a que tanto el mBe, como el nBe y el nCli son estructuras inmediatas inferiores a la piel del clítoris. Realizando una disección cuidadosa se logra identificar sin lesionar a las estructuras nerviosas más pequeñas. Lo anterior justifica el acceso quirúrgico anterior como la mejor opción para la colocación del NeuroClip en el nBe.

Justificación

Los hallazgos antes comentados y el objetivo de nuestra investigación basado en la estimulación selectiva de los nervios que controlan a los músculos estriados pélvicos (mPc) y perineales (mBe), hacen inviable el uso de los modelos roedores ya que en éstos la musculatura perineal (mBe e mIsc) es vestigial en la rata hembra (Gill et al., 2010). Animales de talla mediana como los perros o los cerdos, requieren de condiciones especiales de cuidado y manejo, que no son viables para la infraestructura de nuestro centro de investigación. Lo mismo sucede con los homínidos no humanos como los monos ardilla, quizá sea mayor la similitud con el ser humano en relación con la estructura anatómica de la pelvis y sus componentes neuromusculares (Kramer et al., 2006; Pierce et al., 2003), pero su manejo y mantenimiento resulta más complejo. El conejo doméstico (*Oryctilagus cuniculus*) es una opción adecuada a utilizar debido a que como se menciona el capítulo anterior, se caracteriza por tener un complejo muscular estriado muy similar al del ser humano (Martínez-Gómez et al., 1997), además de que se ha ya estudiado la participación de los MPP en el proceso de micción (Corona-Quintanilla et al., 2009, 2014).

Para este estudio resulta de mayor importancia determinar los parámetros de corriente eléctrica a utilizar para provocar la contracción muscular de los mBe y mPc, información necesaria para adecuar el funcionamiento de los electro-estimuladores inalámbricos (NeuroClip) para tratamientos no agudos que sean seguros e inocuos para los animales. En conjunto con lo anterior, es necesario demostrar la capacidad de estimular de manera específica a los nervios que controlan las estructuras musculares homónimas y de corroborar el efecto que esta estimulación tiene sobre la presión vaginal y uretral en el modelo de coneja doméstica.

Hipótesis

La estimulación eléctrica alámbrica selectiva de los nPc, nBe y nCli influye de forma diferencial en la presión vaginal y uretral.

Objetivo general

Determinar el efecto de la estimulación eléctrica alámbrica selectiva de los nPc, nBe y nCli sobre la presión de la vagina perineal, la presión uretral y la fuerza de contracción de los mPc y mBe.

Objetivos específicos

1. Determinar la cantidad de corriente eléctrica necesaria para provocar contracción del mPc y mBe en conejas jóvenes nulíparas.
2. Determinar la presión vaginal perineal, uretral y fuerza de contracción muscular durante la estimulación eléctrica alámbrica del nPc, nBe y nCli.

Material y métodos

Animales

Los animales utilizados para este estudio fueron los mismos animales que se utilizaron para el experimento del capítulo primero. Las mismas condiciones de agrupamiento, alimentación y alojamiento aplican para este apartado (Figura 1).

Metodología

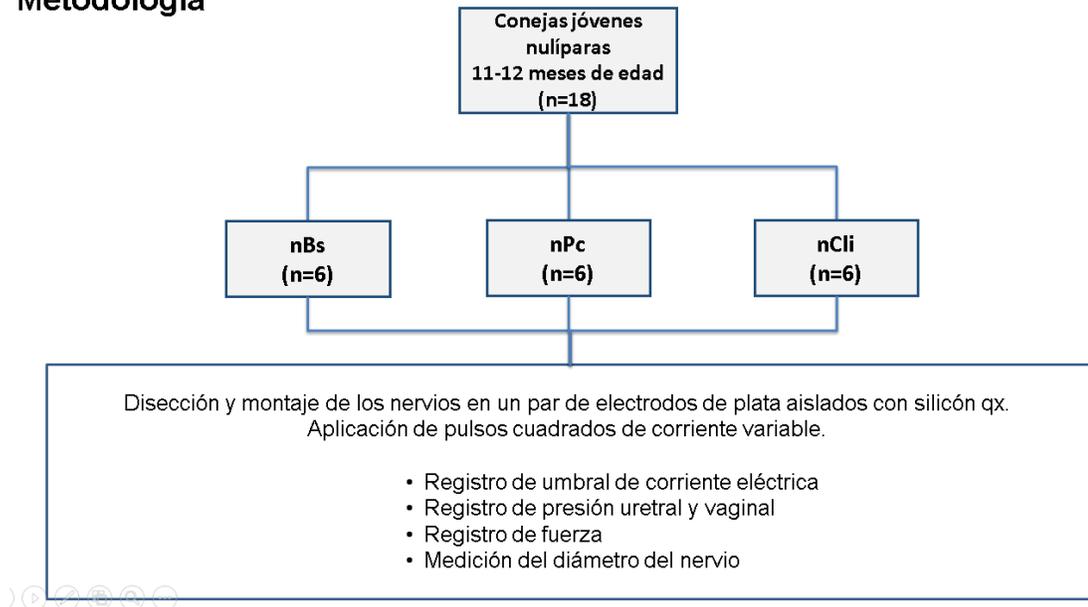


Figura 1. Metodología utilizada en el capítulo primero y segundo con la finalidad de reducir la cantidad de animales utilizados.

Determinación del umbral de estimulación de los nPc y nBe

Para cada grupo experimental, los animales fueron anestesiados con Uretano al 20% a una dosis ponderal de 1.5 g/Kg de peso corporal, inyectados por vía intraperitoneal. Una vez corroborado el estado anestésico por ausencia del reflejo palpebral y álgico se realizó la tricotomía en el área perigenital, seguido del vaciamiento vesical a través de aplicar presión digital sobre el área abdominal inferior.

Para el grupo del nPc se realizó el abordaje quirúrgico anterior descrito en el capítulo previo, hasta localizar la porción media del mPc. Se disecó el resto de tejido conectivo hasta localizar y observar el nPc. Una vez disecado y expuesto el nPc se colocó sobre un par de electrodos de gancho de plata de 0.2 mm de diámetro. Se realizó una estimulación eléctrica de prueba para verificar la correcta colocación de los electrodos y una vez confirmado lo anterior se fijaron y aislaron con ayuda de silicón de grado quirúrgico Kwik-cast®. Sobre el músculo se coloca un par de electrodos de aguja de acero inoxidable para registrar EMG (Figura 2).

Para los nBe y nCli se realizó la misma técnica quirúrgica descrita en el capítulo primero. Una vez desecados y expuestos los nervios (ya sea el nBe o el nCli) se colocaron sobre un par de electrodos de plata de 0.2 mm de diámetro. Se aplicaron estímulos de corriente eléctrica para verificar la correcta identificación y colocación de los nervios. Se fijaron y aislaron los electrodos con silicona Kwik-cast®. En el grupo de estimulación del nBe, también se coloca un par de electrodos de acero inoxidable de aguja sobre el tercio medio del mBe, de manera ipsilateral al nervio que se estimuló. Estos electrodos sirven como electrodos de registro de EMG (Figura 2) conectados a un osciloscopio Tektronix TDS2024C™.

La estimulación del nCli provoca contracción de toda la vulva por lo que es fácilmente identificable a simple vista; sin embargo, no parece haber ningún músculo específico al cual se puedan colocar electrodos de registro para corroborar la actividad electromiográfica, por lo tanto los resultados de estimulación para el nCli indican la cantidad de corriente eléctrica necesaria para provocar la contracción de la vulva y no son estrictamente comparables con los resultados de los nPc y nBe.

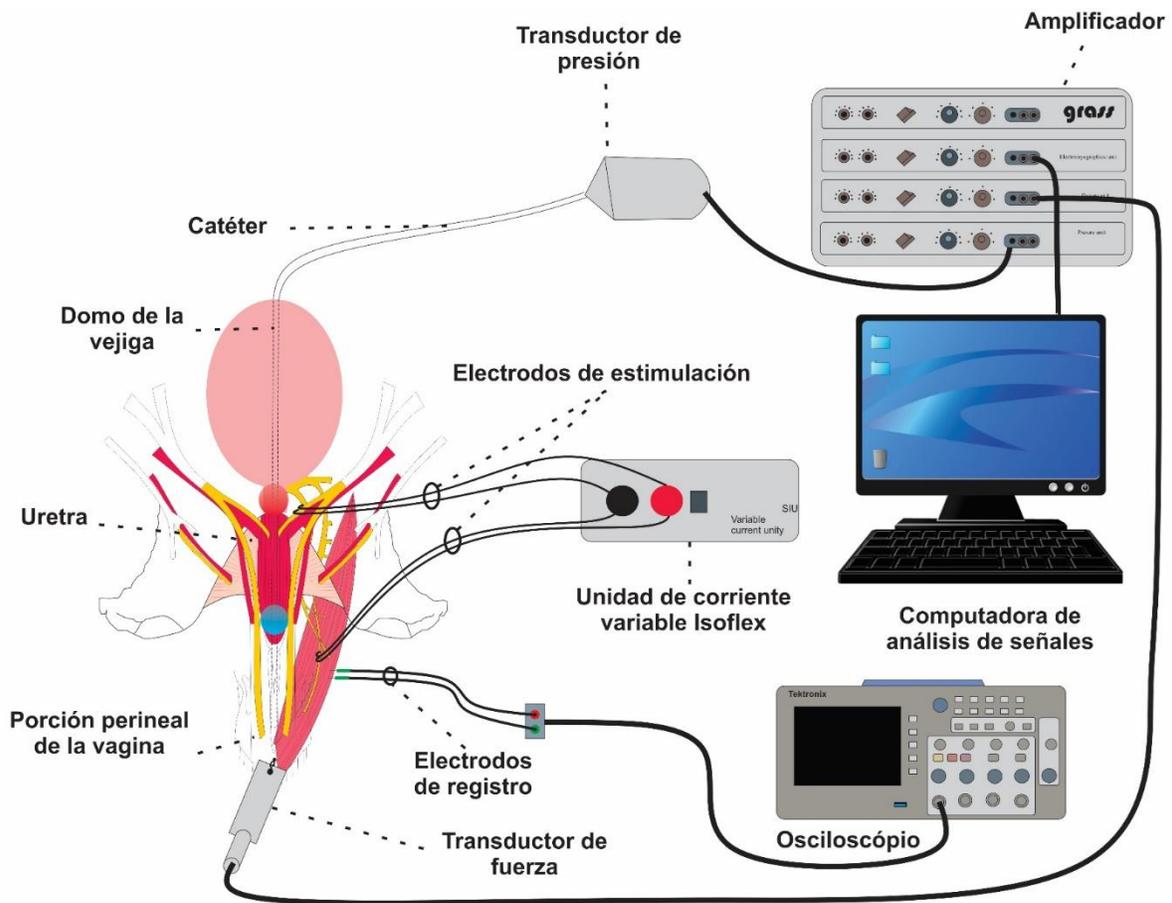


Figura 2. Configuración del equipo de medición de presión, el estimulador de corriente variable y el equipo de registro (Osciloscopio y Pc). El círculo de color rojo indica la ubicación de la sonda de presión en la uretra y el círculo de color azul en la vagina perineal.

Una vez montado todo el sistema de registro se procedió a medir el umbral de estimulación eléctrica de forma alámbrica dando pulsos cuadrados de 1 Hz de frecuencia a corriente variable y ascendente a partir de 0 mA, hasta observar en el osciloscopio actividad eléctrica del músculo inervado por su respectivo nervio. Cuando se detectó la primera deflexión, el valor de corriente se consideró como el primer umbral. Posterior a ello, se incrementó de forma lineal la corriente eléctrica hasta alcanzar el valor de 4 veces el umbral. Se corroboró la actividad electromiográfica cambiando la polaridad de la estimulación y la consecuente inversión del artefacto en el monitor del osciloscopio (Figura 3).

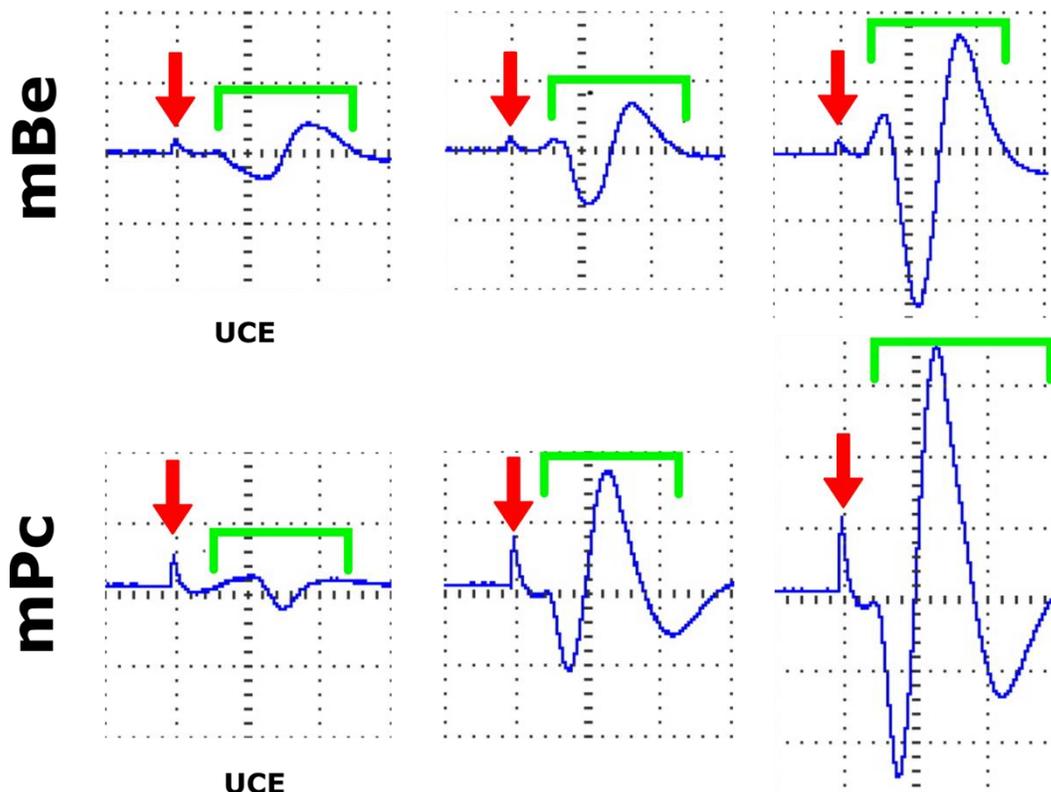


Figura 3. Capturas de pantalla del osciloscopio donde se muestra la mínima corriente eléctrica necesaria para provocar actividad electromiográfica (Umbral de corriente eléctrica UCE) en el mBe y el mPc. Las flechas rojas indican el artefacto del pulso eléctrico. Las barras en verde delimitan la actividad electromiográfica. Cada cuadro = 25ms.

Presión vaginal perineal

Para la determinación de la presión vaginal durante la estimulación eléctrica alámbrica de los nPc, nBe y nCli, una vez montado el sistema de estimulación descrito en la sección anterior (Figura 2) se configuró el sistema barométrico, para ello se realizó sobre la piel una incisión longitudinal de 3cm de longitud en la línea media infra-abdominal, por arriba del borde superior de la sínfisis del pubis. Se disecó por planos hasta acceder a la cavidad abdominal y se expuso la vejiga urinaria. Se drenó la orina residual de la vejiga urinaria por compresión digito-digital y se realizó una pequeña incisión en el ápice vesical, para introducir un catéter semirrígido con el extremo inferior atado a un globo de látex. Se deslizó con ayuda de aceite mineral a través del tracto urinario inferior hasta su salida por el introito vaginal. Se retrajo en sentido contrario ~2 cm a partir de la entrada vaginal para colocarlo justo en la

porción perineal de la misma. Finalmente se suturó anclando el catéter al domo de la vejiga con un punto en costal de café. Se suturó la pared abdominal por capas y el extremo superior del catéter se derivó a través de la pared abdominal anterior hasta conectarlo a un transductor de presión Statham Hato Rey, P23BC®, mismo que se conectó a un amplificador (Grass 7P1 DC®) y éste a un polígrafo (Grass 7DA®) que envía las señales al programa Poliview 2.5® Grass™ para mostrar en tiempo real los cambios de presión.

Aplicando estímulos de corriente eléctrica a 4 veces umbral se realizó la determinación de la presión vaginal para cada nervio y con 10 frecuencias distintas: 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 y 80 Hz. Cada medición se realizó con frecuencias aleatorizadas y dejando un periodo de descanso de 3 minutos entre una y otra. Los estímulos fueron pulsos cuadrados monofásicos de 4 segundos de duración.

Presión uretral

Para la determinación de la presión uretral durante la estimulación eléctrica alámbrica de cada uno de los grupos experimentales se realizó el mismo procedimiento para instalación del sistema barométrico antes detallado. Sin embargo, el catéter introducido por vía vesical se deslizó con ayuda de aceite mineral a través del tracto urinario inferior, hasta su salida por el introito vaginal. Se reintrodujo ~5.5 cm a partir de la entrada vaginal para colocarlo en la uretra (Figura 3), una vez en la posición deseada se infundió 1 ml de solución salina dentro del globo de látex. Finalmente se suturó anclando el catéter al domo vesical. Se suturó la pared abdominal por capas y el extremo superior del catéter se derivó a través de la pared abdominal anterior hasta conectarlo a un transductor de presión Statham Hato Rey, P23BC®, mismo que se conecta a un amplificador (Grass 7P1 DC®) y éste a un polígrafo (Grass 7DA®) que envía las señales al programa Poliview 2.5® Grass™ para mostrar en tiempo real los cambios de presión uretral.

Se aplicaron pulsos de corriente eléctrica a 4 veces el umbral para cada nervio y con 10 frecuencias distintas. Cada medición se realizó con las mismas frecuencias aleatorizadas anteriores y dejando un periodo de descanso de 3 minutos entre una y otra. Los estímulos fueron pulsos cuadrados monofásicos de 4 segundos de duración.

Determinación de fuerza de contracción muscular

Al final de cada experimento de presión vaginal se realizó también una determinación de fuerza de contracción para los mPc y mBe. Cada uno se desinsertó de sus estructuras caudales para colocarse sobre un gancho unido a un transductor de fuerza que a su vez se conecta al amplificador de señales GRASS™ (Figura 2). Se siguió el mismo protocolo de estímulos a diferentes frecuencias que en la determinación de presión vaginal y uretral.

Análisis estadístico

Los datos serán expresados como media \pm error estándar (EE) y fueron sometidos a una prueba de normalidad de Shapiro-Wilks. Para determinar si hay diferencias significativas se consideró el valor de $P \leq 0.05$. Los datos se analizaron mediante una prueba de ANOVA de una vía para el umbral de corriente eléctrica y ANOVA de dos vías para las presiones vaginal y uretral y fuerza de contracción. Todo lo anterior con la ayuda del paquete de análisis estadístico Sigma Plot 12.

Resultados

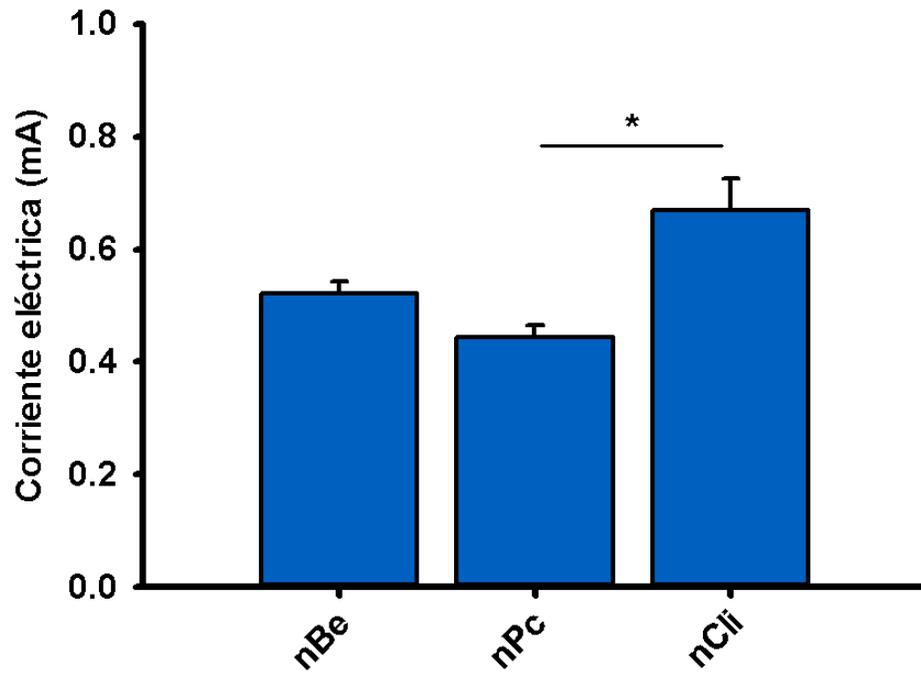
Umbral de estimulación eléctrica

Nuestros resultados muestran que la corriente eléctrica mínima para que el nPc provoque una contracción muscular evidenciada por electromiografía fue de $0.44 \pm 0.02\text{mA}$ para el nPc y de $0.52 \pm 0.02\text{mA}$ para el nBe. Para el nCli el valor mínimo de corriente fue de $0.67 \pm 0.05\text{mA}$ (Tabla 1 y Gráfica 1), durante la estimulación del nCli se observó una contracción de toda la vulva.

Umbrales de estimulación eléctrica alámbrica					
Nervio	Número	Faltantes	Promedio	Error estándar	I.C. del promedio
nBe	6	0	0.522	0.0203	0.0460
nPc	6	0	0.444	0.0205	0.0463
nCli	6	0	0.670	0.0564	0.127
Nervio	Max	Min	25%	75%	
nBe	0.680	0.460	0.480	0.520	
nPc	0.520	0.330	0.420	0.500	
nCli	1.000	0.460	0.520	0.800	
Nervio	K-S Dist.	K-S Prob.	SWilk W	SWilk Prob	
nBe	0.312	0.006	0.779	0.008	
nPc	0.211	0.229	0.912	0.295	
nCli	0.200	0.295	0.932	0.465	

Tabla 1. Resultados del análisis estadístico descriptivo del umbral de estimulación eléctrica de los nervios pélvicos (nPc) y perineales (nBe, nCli) del piso pélvico de la coneja. La tabla se tradujo del archivo original.

Umbral de corriente eléctrica



Grafica 1. Umbral de corriente eléctrica aplicada a los nervios pélvicos (nPc) y perineales (nBe, nCli) del piso pélvico de la coneja. No se observaron diferencias significativas entre los nBe y nPc, sin embargo, si hubo diferencias significativas entre el nPc y el nCli * (P=0.002).

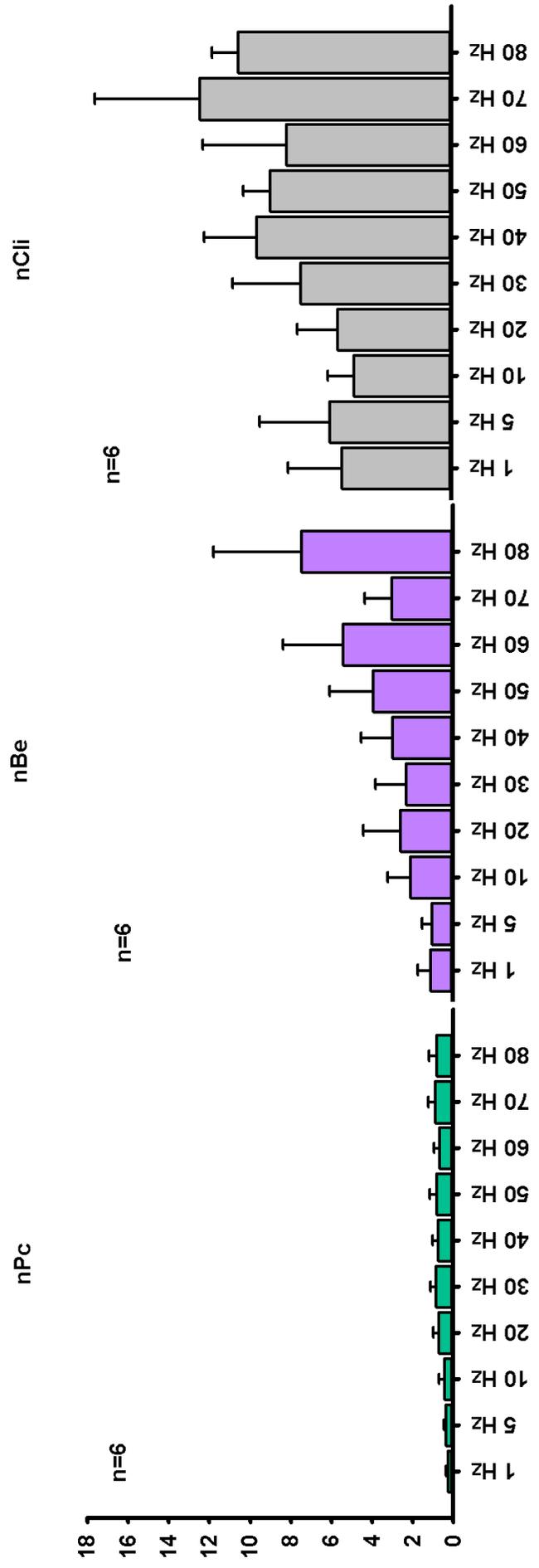
Presión vaginal perineal

La estimulación eléctrica del nPc aumentó la presión vaginal, el aumento de la presión es proporcional con el aumento de la frecuencia de estimulación. La mayor presión que se produjo es de 0.87 ± 0.35 mmHg a 70 Hz (Gráfica 2). Por otro lado, la estimulación del nBe también muestra una tendencia a incrementar la presión de la vagina perineal conforme se aumenta la frecuencia de estimulación, obteniendo como valor medio de presión máximo 6.34 ± 3.66 mmHg a 80 Hz (Gráfica 2).

La estimulación del nCli produce incrementos de presión en la vagina perineal de forma no lineal con el incremento de la frecuencia de estimulación. A pesar de lo anterior se evidencia la similitud de los valores de presión vaginal con los del nBe. En este caso la presión más grande fue de 11.85 ± 1.24 a los 80Hz (Gráfica 2).

Presiones vaginales								
Nervio estimulado			nPc		nBe		nCli	
Columna	Tamaño	Faltantes	Promedio	Error estándar	Promedio	Error estándar	Promedio	Error estándar
1Hz	6	0	0.268	0.074	1.007	0.545	6.455	1.528
5Hz	6	0	0.357	0.117	0.852	0.440	5.052	1.668
10Hz	6	0	0.447	0.263	1.762	0.956	6.878	1.305
20Hz	6	0	0.698	0.313	2.195	1.516	7.510	1.706
30Hz	6	0	0.858	0.265	1.965	1.270	9.578	2.389
40Hz	6	0	0.745	0.290	2.543	1.323	10.443	2.187
50Hz	6	0	0.803	0.368	3.375	1.816	8.913	0.720
60Hz	6	0	0.667	0.304	4.595	2.524	8.117	2.076
70Hz	6	0	0.870	0.357	2.630	1.155	10.968	2.612
80Hz	6	0	0.818	0.397	6.347	3.667	11.853	1.246

Tabla 2. Promedios y errores estándar de las presiones medidas en la vagina perineal con la estimulación de los tres distintos nervios.



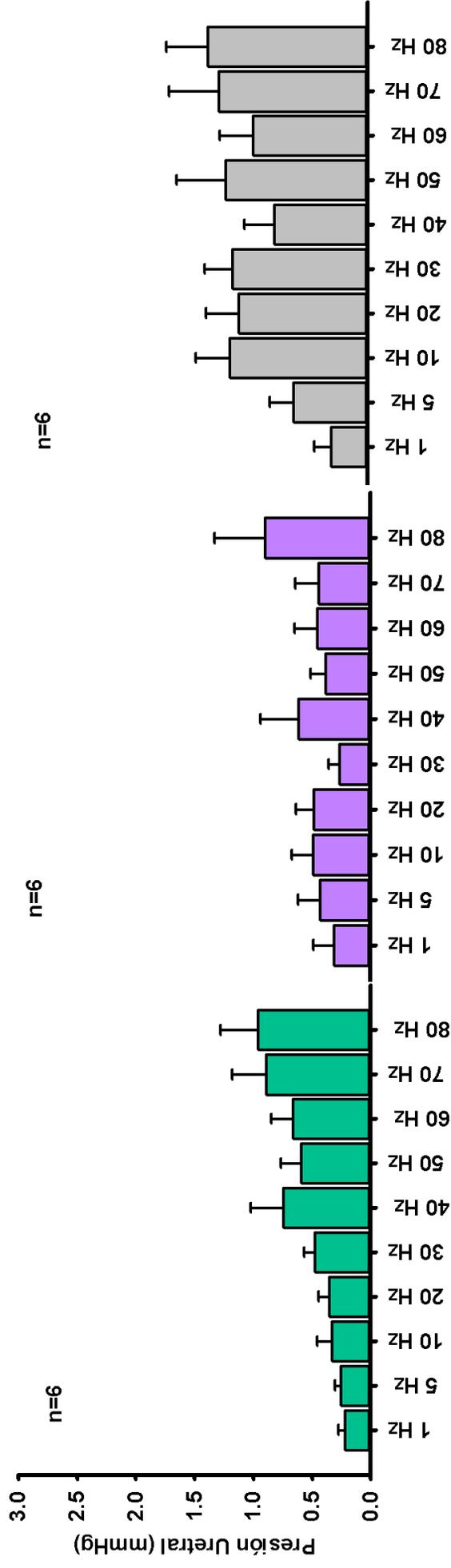
Grafica 2. Presión vaginal provocada por estimulación de los nPc, nBe y nCli a diferentes frecuencias. El ANOVA de dos vías indica diferencias entre los nervios ($P=0.003$) y entre las frecuencias ($P<0.001$). No existe una interacción estadísticamente significativa entre Frecuencias y nervio. ($P=0.909$)

Presión uretral

La presión uretral provocada por la estimulación del nPc sigue la misma tendencia de aumentar conforme se incrementa la frecuencia de estimulación. Para este caso la presión uretral máxima censada fue de ~1 mmHg a 80 Hz (Figura 6). Comparada con la presión uretral al estimular el nBe, se observa una presión máxima de 1.016 mmHg a 80 Hz (figura 6 y 7). Por otro lado, la presión máxima que se observó al estimular el nCli fue de 1.8 mmHg a 80 Hz (Figura 7).

Data source: Presiones uretrales								
Nervio estimulado			nPc		nBe		nCli	
Columna	Tamaño	Faltantes	Promedio	Error estándar	Promedio	Error estándar	Promedio	Error estándar
1hz	6	0	0.220	0.0537	0.303	0.176	0.310	0.145
5hz	6	0	0.250	0.0559	0.423	0.187	0.632	0.205
10hz	6	0	0.330	0.125	0.480	0.181	1.172	0.293
20hz	6	0	0.350	0.0948	0.472	0.152	1.100	0.278
30hz	6	0	0.477	0.0938	0.260	0.0935	1.152	0.241
40hz	6	0	0.740	0.285	0.600	0.326	0.797	0.254
50hz	6	0	0.592	0.172	0.377	0.124	1.208	0.419
60hz	6	0	0.662	0.186	0.445	0.193	0.973	0.286
70hz	6	0	0.887	0.291	0.432	0.198	1.265	0.427
80hz	6	0	0.960	0.317	0.882	0.425	1.363	0.356

Tabla 3. Promedios y errores estándar de las presiones medidas en la uretra con la estimulación de los tres distintos nervios a diferentes frecuencias.



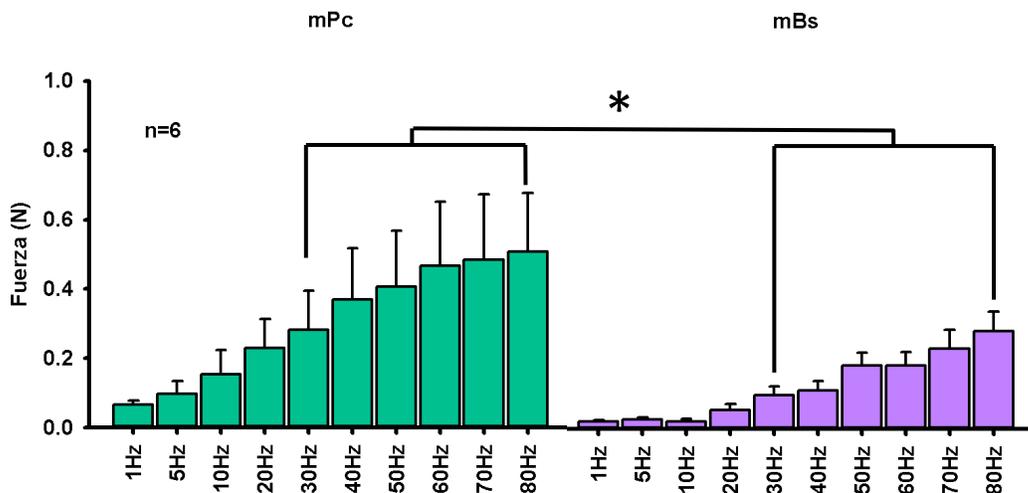
Grafica 3. Presión uretral provocada por la estimulación eléctrica de los diferentes nervios a diferente frecuencias Entre las frecuencias como entre los nervios hay una diferencia estadísticamente significativa ($P = <0,001$). No existe una interacción estadísticamente significativa entre Frecuencias y nervio. ($P=0.935$)

Fuerza de contracción muscular

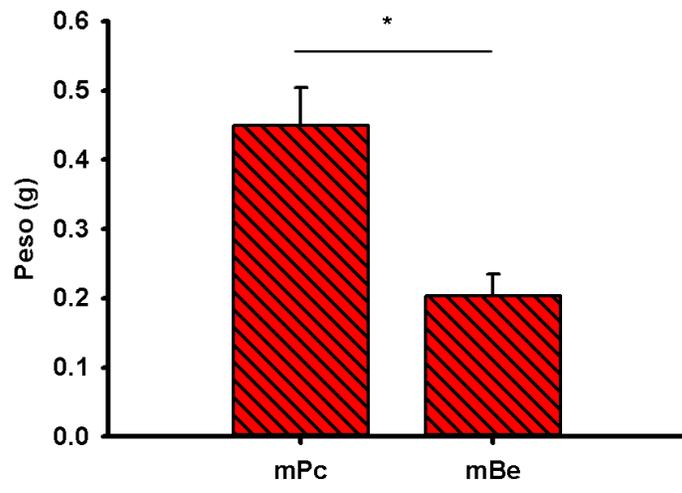
En relación a la fuerza de contracción muscular durante la estimulación del nPc se observa que la fuerza de contracción del Pc varía directamente con la frecuencia de estimulación eléctrica. La fuerza máxima de contracción fue de 51.84 ± 17.17 g de carga y se observó a 80Hz (Figura 8). La fuerza de contracción generada por estimulación del nBe aumenta de forma directa con el incremento de la frecuencia. La fuerza máxima desarrollada por el músculo Bs fue de 25.80 ± 5.73 g a 80 Hz (Tabla y Grafica 4).

Fuente de los datos: Fuerza de contracción muscular Pc y Be							
Columna	Tamaño	Faltantes	mPc		mBe		
			Promedio	Error estándar	Promedio	Error estándar	
1hz	6	0	6.715	1.355	2.119	0.351	
5hz	6	0	9.915	3.776	2.688	0.567	
10hz	6	0	15.660	7.118	2.162	0.591	
20hz	6	0	23.389	8.567	5.146	1.522	
30hz	6	0	28.728	11.489	9.049	2.333	
40hz	6	0	37.668	15.064	10.583	2.574	
50hz	6	0	41.449	16.562	17.306	3.477	
60hz	6	0	47.574	18.824	17.135	3.743	
70hz	6	0	49.393	19.181	21.467	5.159	
80hz	6	0	51.845	17.172	25.806	5.738	

Tabla 4. Promedios y error estándar de la fuerza muscular generada por estimulación de los nervios nPc y nBe para sus respectivos músculos. Las magnitudes están expresadas como unidades de peso (g).



Grafica 4. Fuerza de contracción del mPc y mBe a diferentes frecuencias de estimulación. El ANOVA de dos vías reporta diferencias significativas entre los músculos ($P < 0.035$) a partir de la frecuencia 30 – 80Hz.



Grafica 5. Peso húmedo de los mPc y mBe. El análisis de t de Student indica diferencias significativas entre los músculos ($P = 0.001$)

Discusión

Investigadores de nuestro equipo han trabajado con estimulación nerviosa (Castelán et al., 2018; Cruz et al., 2010; Hernandez-Reynoso et al., 2021, 2019) y muscular (Corona-Quintanilla et al., 2014; Hernández-Bonilla et al., 2023; López-Juárez et al., 2017) aplicando corrientes que van desde los $0.08\mu\text{A}$ cuando se estimulan nervios hasta 4 mA en el caso de estímulos a músculos. En nuestro estudio nos enfocamos a describir la cantidad de corriente eléctrica necesaria para generar una respuesta electromiográfica en los mPc y mBe. Esta cantidad de energía (0.5 mA) es suficiente para desencadenar una contracción muscular apenas visible y que al incrementar en un 100% logra generar una franca contracción muscular. Además de ello se demostró con nuestro estudio que niveles mayores a 2mA de corriente eléctrica no generan mayor respuesta muscular por lo que al considerar establecer una terapia de electroestimulación se sugiere utilizar los niveles más bajos de corriente eléctrica con la seguridad de que se estará generando una contracción muscular efectiva.

En relación con la cantidad de corriente necesaria para la activación del nCli, encontramos que a pesar de que hay una clara diferencia de tamaño entre los nervios, no hay un cambio en el umbral de corriente eléctrica necesaria para provocar una contracción. Sin embargo, para el nCli no podemos asegurar que se cumpla la misma condición debido principalmente a que el nCli es un nervio con un componente sensorial importante, pero también a que el nervio clitoral parece generar una respuesta motora refleja que se evidencia por el retraso en la contracción muscular de la vulva que se mantiene por un par de segundos más una vez que ha finalizado el estímulo eléctrico.

Por otra parte, se ha demostrado que tanto el mPc como el mBe participan de manera directa en el establecimiento de la presión de la vagina perineal y de la presión uretral, sin embargo, es importante resaltar que su papel es distinto para ambas presiones: el nPc que estimula a su músculo ipsilateral homónimo parece tener un papel igual de relevante en la presión uretral pero no así en la vaginal. Este hecho se puede explicar por la disposición anatómica profunda del mismo con una relación más estrecha a nivel estructural con el movimiento de lateralización de la cola, lo que ya se comentó en el capítulo anterior de este trabajo. Debido a ello la participación que puede tener en el cierre de la vagina es limitada

puesto que el canal vaginal se encuentra anterior a los sitios de anclaje del músculo. Sin embargo, para el caso del nBe, la participación más importante parece estar en la presión vaginal. Esto como consecuencia de su estrecha relación anatómica, donde el mBe se encuentra prácticamente adosado a la pared anterior del tercio distal de la vagina.

Finalmente podemos reconocer que el mPc es un músculo de mayor tamaño que el mBe, y sin embargo sigue teniendo un papel más conservador sobre la presión vaginal comparado con el mBe.

Es necesario realizar más investigaciones para desvelar el papel que pudiera tener el nervio clitoral en los fenómenos de elevación tanto de la presión vaginal como de la presión uretral, puesto que como se demostró en nuestros resultados anteriores, es por lo menos igual de importante que el mBe y el mPc.

Conclusiones

La cantidad de corriente eléctrica necesaria para desencadenar una contracción en los músculos homónimos del nPc y el nBe es de 0.44 y 0.52 mA respectivamente. No hubo diferencias significativas en el umbral de estimulación eléctrica entre los nPc y nBe $P = 0.40$. La contracción ipsilateral ocurrió de manera inmediata a la aplicación del estímulo para ambos nervios. Con frecuencias de estimulación mayores a 30Hz se observó contracciones tetánicas de los mismos.

La estimulación del nCli no se puede comparar con la del nPc y el nBe debido a que no se realizaron mediciones electromiográficas en músculos de la vulva. A pesar de ello pudimos observar contracción de la musculatura vulvar ligeramente después de cada pulso eléctrico, misma que se mantenía algunos segundos posteriores al final de cada estímulo.

Con la estimulación eléctrica de los nPc, nBe y nCli se observaron cambios de presión en la vagina perineal y en la uretra. Sin embargo la presión vaginal se incrementó especialmente cuando se estimuló el nCli y el nBe. Para el nPc, aunque el incremento de presión sigue un patrón similar a los dos previos, la magnitud de cambio es más baja.

En la presión uretral los cambios fueron parecidos como la presión vaginal, sin embargo en esta variable la estimulación del nPc generó cambios similares con los del nBe y del nCli. Aunque esos cambios no siguen un patrón completamente lineal en los nBe y nCli.

Finalmente, el mPc controlado por su nervio homónimo es el músculo que mayor fuerza ejerce. Este hecho coincide con ser también el músculo de mayor peso.

Capítulo tercero:
Estimulación eléctrica inalámbrica crónica

Antecedentes

Neuromodulación de nervios periféricos específicos

La investigación básica y el desarrollo tecnológico basados en modelos animales han ofrecido resultados positivos en el campo de los dispositivos para implantes. Por ejemplo, con el electrodo (intramuscular) inalámbrico NuStim®, dispositivo implantado en el músculo esquelético del tríceps en el modelo de perro, se evaluaron los cambios histológicos que ocasionaba la estimulación sobre el tejido muscular. La electroestimulación no produjo hipertrofia de las fibras musculares esqueléticas en comparación con las fibras del músculo contralateral que no recibieron estimulación. El electrodo inalámbrico permaneció hasta por tres meses, sin evidencia de necrosis o lesión tisular (Huang et al., 2017).

Dispositivos más específicos como el micro-electrodo MicroCuff de AirRay Research™ fue implantado directamente sobre el nervio pélvico en ratas que recibieron prostaglandina E₂ (PGE₂) dentro de la vejiga para simular hiperactividad vesical y disminuir la capacidad vesical. Los resultados indican que la estimulación del nervio pélvico incrementó la actividad electromiográfica del EEU. Como resultado de ello, aumentó la capacidad vesical de los animales, volviendo a los valores previos a la infusión de PGE₂ (Langdale et al., 2017).

Se han probado también los implantes del nervio tibial con el IPG® (Moazzam, Duke, & Yoo, 2016) en gato y el eTENS® (Kovacevic, Lin, & Yoo, 2017) en rata. Con el primero se mostró un incremento en la capacidad vesical cuando se estimuló el nervio tibial con frecuencias ≥ 6 Hz y, de manera contraria, se generó contracción del músculo detrusor cuando se estimuló con frecuencias de 2Hz. En el segundo caso, la estimulación del nervio tibial se realizó para probar su eficacia en un modelo de vejiga hiperactiva. Los resultados indican que el umbral de activación del detrusor disminuyó 2.6 veces cuando se estimulaba el nervio, comparado con el grupo control.

Estudios en ovejas con el implante de InterStim ® M3889 a nivel sacro muestran aumento, de hasta el 60 %, de la capacidad vesical en comparación con el grupo control no estimulado (Brink, Zimmerman, Mattson, Su, & Nelson, 2015). Otro estudio en cerdos de guinea combinó el implante sacro y tibial, con el PINS® de Pins Medical™ Para alterar la

función vesical, las vejigas fueron infundidas con ácido acético; durante la infusión se estimularon las raíces sacras y el nervio tibial y se encontró un aumento en la capacidad vesical (Li, Liao, Chen, Wang, & Deng, 2017).

Incluso se han realizado simulaciones de implantes como el FINE o Cuff electrodos (Kent & Grill, 2013) en el nervio pudendo humano, para comparar el nivel de respuesta del nervio pélvico en dos arreglos del electrodo. Uno donde se rodeó el perímetro total del nervio y otro donde se comprimió el nervio entre dos caras del electrodo a manera de emparedado. Los resultados indican que la mayor cantidad de fascículos nerviosos se estimula con el arreglo circular que rodea el perímetro del nervio.

Recientemente se ha probado un electro estimulador inalámbrico miniaturizado en el nBe de conejas domésticas con resultados que continúan abonando al uso de este tipo de tecnologías como alternativa para el tratamiento de alteraciones del piso pélvico(Hernandez-Reynoso et al., 2021). El dispositivo ha sido desarrollado por el equipo del Dr. Mario Romero Ortega, de la Universidad de Houston, Texas. Este dispositivo es un circuito que consiste en una bobina de alambre de cobre para recibir energía inductiva, un condensador para sintonizar la bobina a una frecuencia particular, un diodo para rectificar la señal de

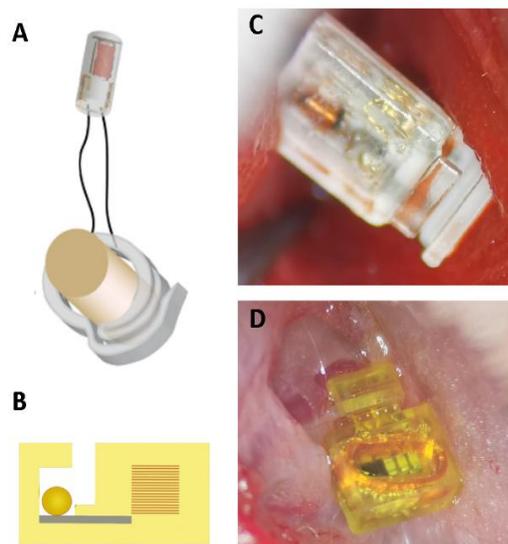


Figura 1. Concepto y evolución del electro estimulador panel A (EP-Cuff) panel B (NeuroClip). Panel C (NeuroClip primera generación) y Panel D (NeuroClip Segunda generación). Estos últimos implantados en nBs de la coneja. La figura del panel A ha sido tomada y modificada de: Ana G Hernandez-Reynoso et al 2019 J. Neural Eng. 16 046002

radiofrecuencia y dos electrodos para proporcionar corriente (Hernandez-Reynoso et al., 2019) (Figura 1).

Justificación

Como ha sido ya ampliamente demostrado, la multiparidad causa desórdenes en la función del piso pélvico a través de diversos mecanismos que incluyen lesiones neuromusculares. Estos efectos se han logrado demostrar en modelos animales como la coneja, tanto en la actividad muscular refleja como en parámetros urodinámicos por nuestro equipo de trabajo (Castelán et al., 2018; Corona-Quintanilla et al., 2009; López-Juárez et al., 2017).

Se ha comprobado que la terapia con electro-estimulación es una alternativa viable para el tratamiento de algunas de estas disfunciones urinarias. Sin embargo a pesar de que existe la aprobación por la FDA para los implantes sacros como alternativa terapéutica del síndrome de vejiga hiperactiva, IU de urgencia o incontinencia fecal, los efectos secundarios como infección de la herida quirúrgica, la necesidad de cambiar las baterías, la migración del dispositivo, la falta de sistematización de los parámetros de estimulación, entre otras, han sido factores que limitan la masificación en el uso de los mismos. Las opciones existentes en la actualidad se limitan a ofrecer tratamientos poco selectivos en relación con el número de dianas a la que se dirige la estimulación eléctrica. Además, los desórdenes urinarios a los cuales se dirige el tratamiento se limitan solo a IU de urgencia.

Debido al crecimiento del campo de la bioingeniería y la biomedicina, el desarrollo de dispositivos cada vez más específicos ha estado buscando establecer terapias con menos efectos secundarios en los seres humanos y con las ventajas que las nuevas tecnologías pueden aportar. En este sentido Hernández y colaboradores (2019) reportan los resultados de la electropatle-cuff (EP-C), un micro-electrodo implantable, que no utiliza batería y que por su tamaño reducido (~1 mm) puede ser colocado en nervios periféricos específicos que controlan un músculo esquelético a la vez. Este dispositivo aporta las ventajas de la miniaturización, la ausencia de una batería que lo alimente y la posibilidad de controlarlo a distancia por radiofrecuencias. Estas ventajas sobre otros dispositivos estimuladores hacen de la EP-C una opción adecuada para determinar los fundamentos de las terapias de electro-

estimulación selectiva y coordinada de nervios del piso pélvico, ya que se podría modular una actividad sincrónica de los MPP para incrementar la función urodinámica en animales sin alteración de la misma, o reestablecer dicha función en aquellos que tengan alteración en alguna de las fases de la micción como las hembras multíparas. Así, este es el propósito general del presente capítulo, donde se trata de responder la pregunta de si la estimulación eléctrica inalámbrica permite modular la actividad selectiva del mBe, restaurando la función urodinámica en conejas jóvenes multíparas. El motivo de estimular solo al nBe y no al nPc es debido a los resultados del primer capítulo de esta tesis donde se describen las limitaciones del acceso quirúrgico al nPc y su músculo homólogo, entre ellas debido a la profundidad de dichas estructuras respecto al sitio de incisión, así como el espacio tan reducido que no permite la colocación del NeuroClip entre los mPc y mIlc.

Hipótesis

La estimulación eléctrica inalámbrica crónica (4 semanas) y selectiva del nervio bulboesponjoso mejora la micción en conejas añosas multíparas.

Objetivo general

Evaluar el efecto de la estimulación eléctrica inalámbrica y selectiva del nBe durante cuatro semanas sobre la conducta de micción y los parámetros urodinámicos en conejas añosas multíparas.

Objetivos específicos

1. Determinar el efecto de la estimulación eléctrica inalámbrica crónica y selectiva del nBe en la conducta de micción a través de la prueba del pañal en conejas añosas multíparas.
2. Evaluar el efecto de la estimulación eléctrica inalámbrica crónica y selectiva del nBe sobre los parámetros urodinámicos de conejas añosas multíparas.
3. Evaluar el efecto de la estimulación eléctrica inalámbrica crónica y selectiva del nBe sobre el peso de la vejiga urinaria y del mBe en conejas añosas multíparas.

Material y métodos

Animales

Se utilizaron 12 conejas multíparas de la raza chinchilla (*Oryctolagus cuniculus*) de por lo menos 48 meses de edad, se dividieron en dos grupos: a) Añosas multíparas con implante (OM+NClip) y b) añosas multíparas control (OMSh). Los animales se mantendrán alojados en jaulas individuales de acero inoxidable (50 x 60 x 40 cm), bajo condiciones de bioterio en el Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta (Universidad Autónoma de Tlaxcala) con un ciclo de luz/oscuridad de 16/8 h, a temperatura de 24 ± 2 °C, con 200 gramos de alimento (Purina Coneja Chow) al día y agua *ad libitum*.

Condición de multiparidad

En ambos grupos la condición de multiparidad se obtendrá en las hembras de ~12 meses que hayan cumplido con 4 partos previos. Para ello, a los seis meses de edad las conejas serán apareadas con machos reproductores durante 4 o 5 series eyaculatorias, a fin de conseguir que queden preñadas; 24 horas posteriores a cada parto (los primeros 3 partos) se volverán a aparear bajo las mismas circunstancias. En los primeros tres partos las crías serán destetadas a los 20 días. En el último parto las crías se sacrificarán en las primeras 24 horas para evitar que la madre entre en periodo de lactancia.

Prueba del pañal

Para la evaluación conductual de la micción se diseñó la prueba del pañal, en ella los animales fueron privados del consumo de agua durante 4 horas. Cumplido ese periodo se colocó bajo el piso de sus cajas de alojamiento un pañal seco previamente pesado y se rotuló con el identificador de la coneja, la fecha y el peso del pañal. Se le colocó una botella dispensadora con 250mL de agua a cada animal y se dejó correr la prueba por 5 horas. Al final de las 5 horas se retiró el pañal y se tomó una fotografía panorámica para evaluar el sitio de micción y el número de manchas o micciones en el mismo. También se pesó el pañal y se cuantificó el volumen de agua consumido por el animal. Se colocó un nuevo pañal seco y

previamente pesado y se rellenó nuevamente la botella con 250mL de agua potable. El pañal fue retirado, fotografiado y pesado transcurridas 15 horas.

Esta prueba fue realizada una semana previa a las cirugías de implantación del NeuroClip (basal) y al final de cada semana de estimulación eléctrica inalámbrica (Figura 2). Las variables que se cuantificaron fueron: peso de orina expulsada (diferencia del peso del pañal mojado menos el peso del pañal seco en gramos, matutino y vespertino), número de micciones (número de manchas de orina en el pañal > 30mm matutino y vespertino), ingesta de agua (suma del volumen de agua ingerido en los periodos matutino y vespertino en mililitros) y número de pérdidas (perdidas de orina < 30mm aisladas de las micciones más grandes).

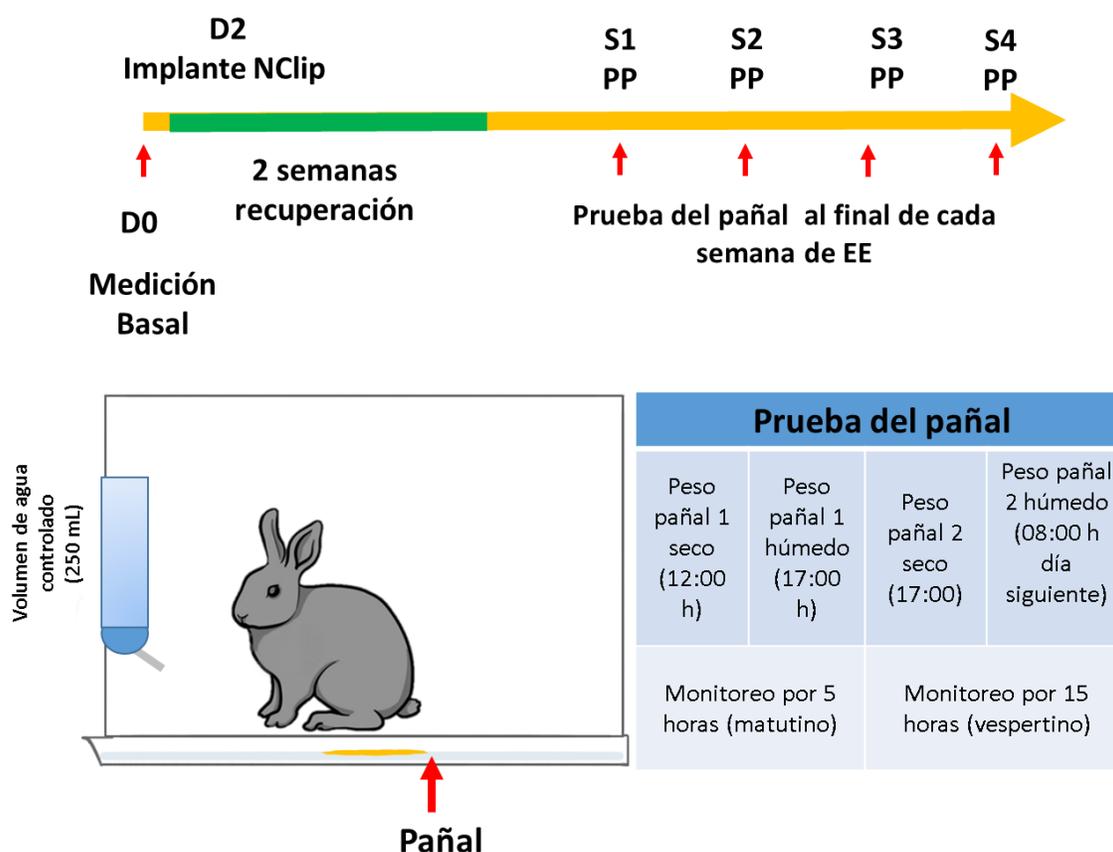


Figura 2. Metodología de la prueba del pañal. La prueba pre-implante del NeuroClip se realizó en el día cero (D0) inmediatamente después de la implantación o de la cirugía en el grupo OMS_h se dejó 2 semanas de recuperación. Al final de cada semana de tratamiento de estimulación eléctrica (EE) (S1, S2, S3, S4) se realizó una prueba del pañal (PP)

Implante del estimulador inalámbrico NeuroClip

Una vez estandarizado el procedimiento quirúrgico se procedió a la colocación del NeuroClip en el grupo de conejas añosas multíparas con implante (OM+Nclip; n=6). Para las hembras añosas multíparas sin implante que se utilizaron como grupo control (OMSh; n=6) solo se realizó la cirugía sin implantar el NeuroClip. Todos los animales fueron anestesiados con una inducción de ketamina + xilazina 1:1, una vez sedadas se realizó la tricotomía del área perimetral genital. Se profundizó la anestesia con isoflurano inhalado (2%) en mezcla con oxígeno a un volumen de 1 litro por minuto. Con un plano anestésico adecuado (revisión de reflejos palpebral y cutáneo abolidos) (AgrovvetMarket, 2019), se realizó la técnica quirúrgica antes descrita para ambos grupos experimentales (Figura 2). Para el grupo OMSH se realizaron las incisiones tal como se describen arriba disecando por planos hasta encontrar y diseccionar el paquete neurovascular, sin embargo no se montó ningún NeuroClip, se procedió a cerrar por planos hasta llegar a la síntesis de la piel.

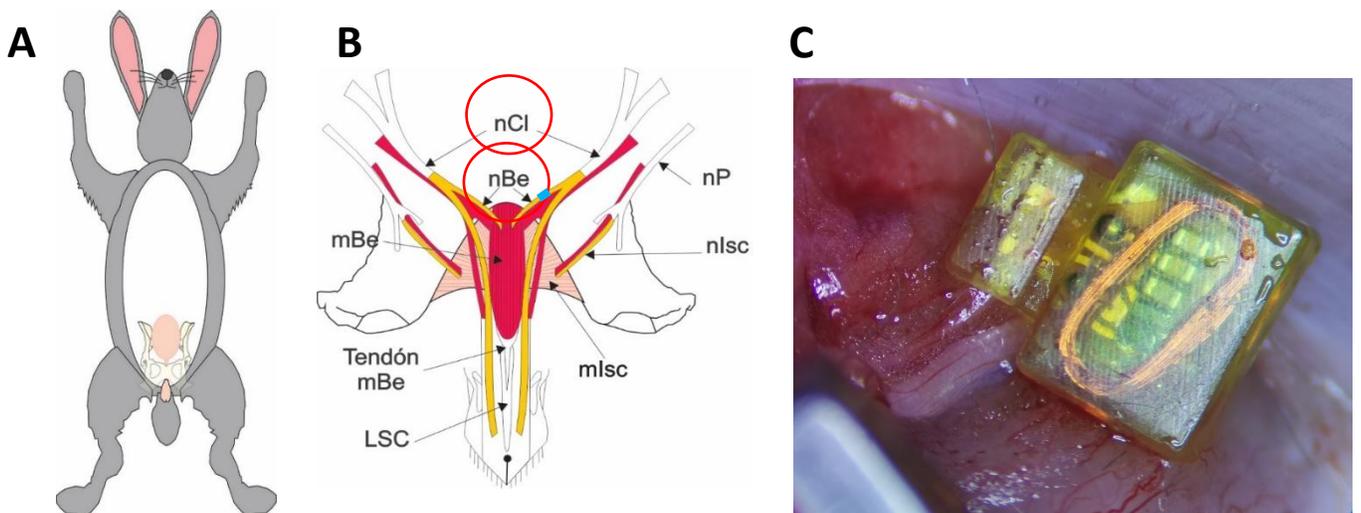


Figura 2. Esquema anatómico del sitio quirúrgico (panel A), localización del nBe en la coneja, sitio donde se implantó el estimulador NeuroClip en rectángulo azul (panel B). NeuroClip implantado en el nBe (Panel C).

Durante y al final del procedimiento quirúrgico se mantuvieron los animales en una plancha térmica, con monitoreo de signos vitales hasta su recuperación. Se administró una

dosis de antibiótico (Enrofloxacina) I.M. para prevenir la infección de la herida quirúrgica, además se aplicó una dosis de Buprenorfina I.M. para asegurar la analgesia posquirúrgica. Todos los días de la primera semana se revisó la evolución y el estado general de los animales.

Tras dos semanas de recuperación de la cirugía todos los animales recibieron un tratamiento diario de 4 ciclos de estimulación, cada ciclo de 15 segundos encendido y 120 segundos apagado, 4 veces por semana, durante 4 semanas (Figura 3). El tratamiento se realizó en diferentes horarios para evitar la habituación del animal.



Figura 3. Configuración del equipo de estimulación inalámbrica del NeuroClip. A través de una laptop se establecieron los parámetros de estimulación en la interfaz gráfica del emisor de radiofrecuencia que genera las ondas RF que son incrementadas luego por el potenciador RF para ser emitidas finalmente en la antena colocada justo sobre el sitio del implante.

Estudios urodinámicos

Los estudios urodinámicos se realizaron en los animales de ambos grupos al final de las 4 semanas de tratamiento de estimulación eléctrica inalámbrica. Todos los animales fueron anestesiados con uretano al 20% administrado por vía intraperitoneal (1.5g/Kg de peso corporal). Una vez anestesiados se les realizó tricotomía infra abdominal, luego fueron colocadas en posición decúbito supino y se realizó una incisión sobre la piel y músculos en la línea media infra abdominal, 30mm por arriba del borde superior de la sínfisis del pubis hasta exponer la vejiga urinaria. Una vez expuesta la vejiga urinaria, se drenó por compresión dígito-digital. Después, se realizó una pequeña incisión en el ápice de la vejiga urinaria por donde se introdujo un catéter semirrígido de 1.2mm de diámetro para administrar una infusión constante de 0.8 ml/min de solución salina al 0.9% a 39 °C. Finalmente se suturó por planos hasta la piel abdominal. El catéter se conectó a una bomba de infusión (Kd Scientific 210®) y a un transductor de presión (Statham Hato Rey, P23BC®), el cual censa las variaciones de la presión intravesical. El transductor se conectó a un amplificador (Grass 7P1 DC®) y éste a un polígrafo (Grass 7DA®) que envía las señales al programa Poliview 2.5® Grass™ para capturar y almacenar la información para su posterior análisis (Figura 2, Capítulo segundo).

De los CMG se midieron los siguientes parámetros: intervalo entre contracciones, IIC (periodo de tiempo entre una fase de expulsión y la siguiente, minutos); duración de la micción, DM (Promedio de la duración de una micción en segundos); volumen umbral, VU (volumen de solución salina que desencadena la fase de expulsión, mililitros); volumen expulsado, VE (cantidad de solución salina expulsada por el meato urogenital durante la fase de expulsión, mililitros); volumen residual, VR (volumen administrado - volumen expulsado, en mililitros); y presión máxima, Pmax (presión máxima del detrusor generada durante una micción).

Colecta de tejidos

Posterior al registro de presión vaginal y de CMG se perfundieron todas las conejas con solución salina heparinizada y formalina al 10%, se colectaron muestras de mPc y mBe y sus

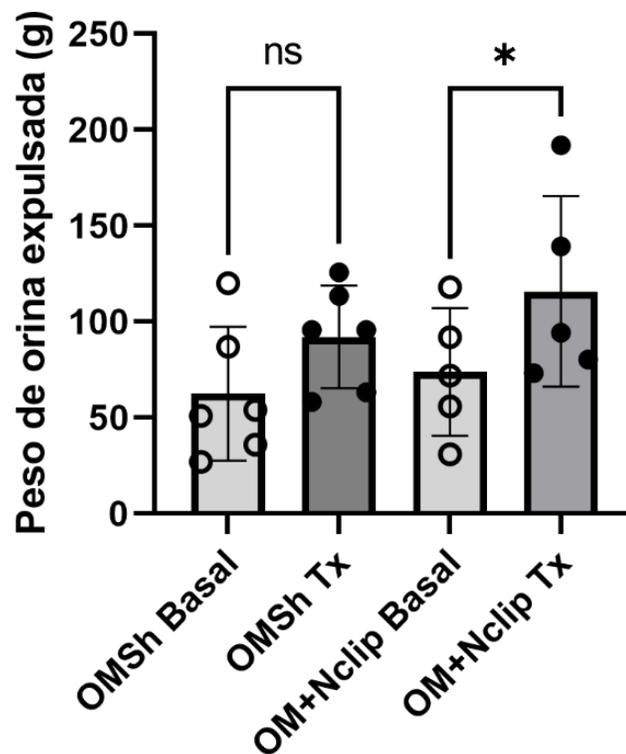
respectivos nervios, además del nCli. Se colectó y pesó también la vejiga urinaria, haciendo los cortes justo en el cuello de la vejiga para todos los animales. Se pesaron y midieron músculos y vejigas. La evaluación histomorfométrica de los nervios se realizará *a posteriori*.

Análisis estadístico

Los datos serán expresados como media \pm error estándar (EE). Para determinar si hay diferencias significativas se considera el valor de $P \leq 0.05$. Los datos urodinámicos se evaluarán por una t de Student entre OMSH *versus* OM+Nclip, Para la prueba del pañal se realizará una ANOVA de una vía comparando a OMSH basal, OMSH+Tratamiento (OMSH Tx), OM+Nclip basal y OM+Nclip+Tx (OM+Nclip Tx). Los datos se analizarán con la ayuda del paquete de análisis estadístico GraphPad Prism 9.0.2 (161) TM.

Resultados

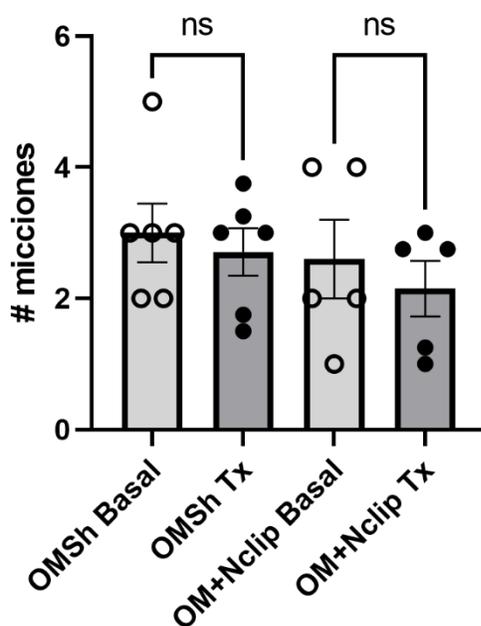
Para nuestros resultados de la prueba del pañal no se valoraron los datos de una hembra debido a que se registraron de manera parcial y nos fue imposible recuperar la mayoría de ellos. Debido a esto, los datos del grupo OMSH quedó con una n=6, mientras que los de OM+Nclip fue con una n=5. El peso de la orina expulsada fue de 62.5 ± 14.23 g para la prueba basal del grupo OMSH y 92.04 ± 10.95 g después de las 4 semanas de tratamiento con estimulación eléctrica inalámbrica. Por otro lado el peso de la orina expulsada en la prueba basal del grupo OM+Nclip fue de 73.8 ± 14.89 g, mientras que para el mismo grupo al final del tratamiento fue de 115.8 ± 22.24 g. Nuestro análisis estadístico de ANOVA modelo mixto indica diferencias significativas ($P=0.0136$) entre los grupos (Grafica 1).



Gráfica 1. Peso de la orina expulsada tras 20 horas de monitoreo (suma del pañal matutino y vespertino) para los dos grupos OMSH y OM+Nclip antes (Basal) y después del tratamiento con estimulación eléctrica inalámbrica (Tx).

Con la prueba *post hoc* de comparaciones múltiples de Tukey no hubo diferencias significativas entre ambas condiciones ($P=0.1005$) del grupo OMSH, sin embargo el peso de orina expulsado posterior a las cuatro semanas de tratamiento en el grupo OM+Nclip fue significativamente mayor comparado con el resultado de la prueba basal del mismo grupo ($P=0.032$) (Gráfica 1).

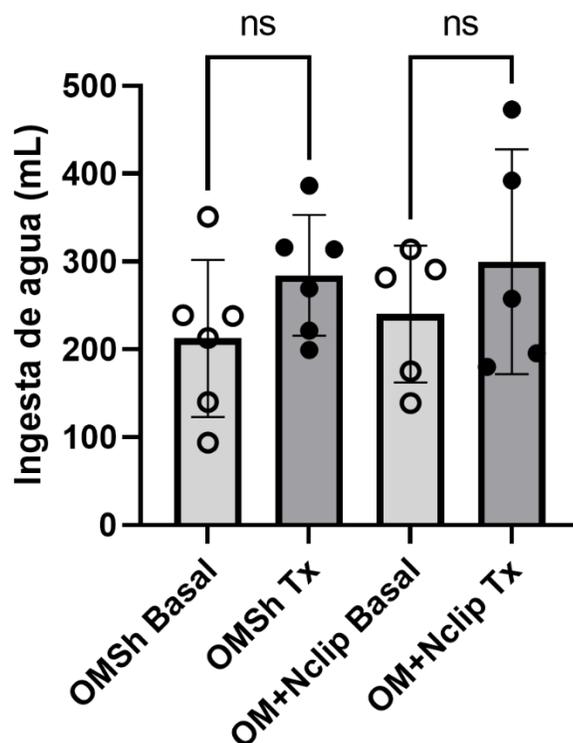
Acerca del número de expulsiones de orina contabilizadas antes del tratamiento para el grupo OMSH fue de 3 ± 0.44 micciones, mientras que posterior a las cuatro semanas de tratamiento fue de 2.7 ± 0.36 micciones. Para el grupo OM+Nclip antes del tratamiento el número fue de 2.6 ± 0.6 micciones y de 2.1 ± 0.42 micciones posterior al tratamiento. El ANOVA de modelo mixto no reporta diferencias significativas entre los grupos ($P=0.629$) (Gráfica 2).



Gráfica 2. Número de expulsiones de orina tras 20 horas de monitoreo (suma del pañal matutino y vespertino) para los dos grupos OMSH y OM+Nclip antes (Basal) y después del tratamiento con estimulación eléctrica inalámbrica (Tx).

Con respecto a la ingesta de agua antes del tratamiento para el grupo control OMSH fue de 212.5 ± 36.44 mL de agua y de 284.5 ± 28.12 mL tras las cuatro semanas de tratamiento. Para el grupo con el NeuroClip (OM+Nclip) antes del tratamiento la ingesta de agua fue de

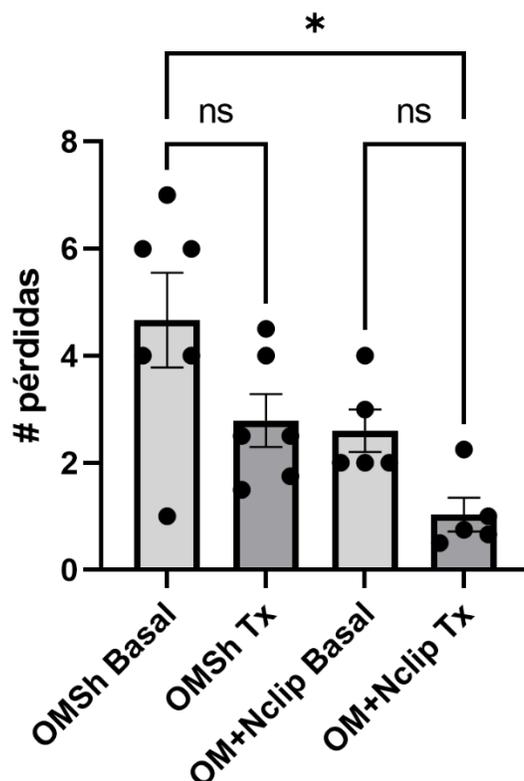
240.2±34.83 y de 299.80±57.22 tras las cuatro semanas de tratamiento. El análisis estadístico de ANOVA de modelo mixto no reporta diferencias significativas entre ninguno de los 4 grupos (P=0.073) (Grafica 3).



Gráfica 3. Ingesta total de agua tras 20 horas de monitoreo para los dos grupos OMSH y OM+Nclip antes (Basal) y después del tratamiento con estimulación eléctrica inalámbrica (Tx).

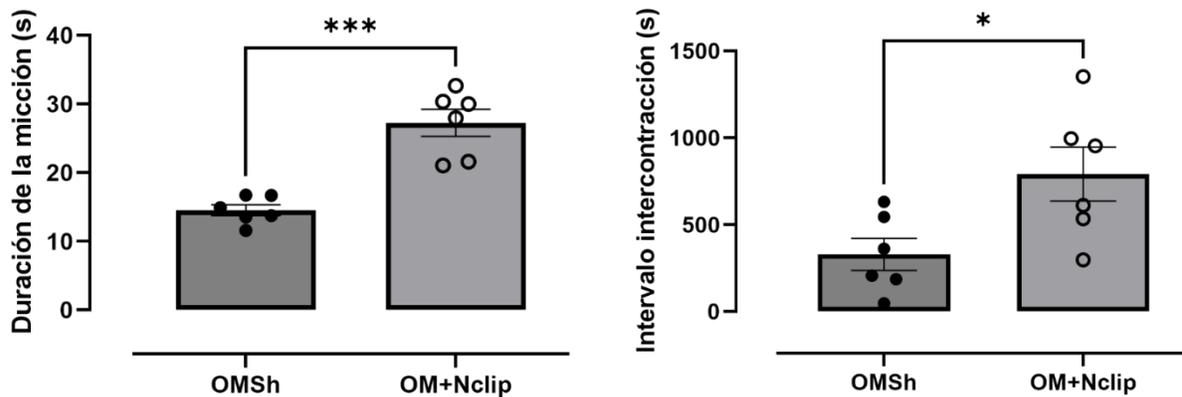
Finalmente en relación con el número de pérdidas de orina cuantificadas en los pañales, nuestros resultados indican que para el grupo OMSH antes del tratamiento fue de 4.66 ± 0.88 manchas, y de 2.79 ± 0.49 manchas tras las cuatro semanas de tratamiento. Para el grupo OM+Nclip los resultados antes del tratamiento fueron de 2.60 ± 0.40 y de 1.03 ± 0.31 después de las cuatro semanas de tratamiento. El ANOVA de modelo mixto reporta diferencias significativas entre los grupos (P=0.018). La prueba *post hoc* Holm-Sídák muestra que el número de pérdidas de orina es estadísticamente menor entre el grupo OM+Nclip después del tratamiento *versus* OMSH (P=0.016) (Grafica 4).

Los resultados de los parámetros urodinámicos reportaron que la DM de la micción en el grupo OMSH al final del tratamiento fue de 14.54 ± 0.81 segundos, mientras que para el grupo OM+Nclip al final del tratamiento fue de 27.27 ± 1.98 segundos. El análisis estadístico de t de Student reporta diferencias significativas entre ambos grupos ($P < 0.0001$).



Gráfica 4. Pérdidas de orina cuantificadas tras 20 horas de monitoreo para los dos grupos OMSH y OM+Nclip antes (Basal) y después del tratamiento con estimulación eléctrica inalámbrica (Tx).

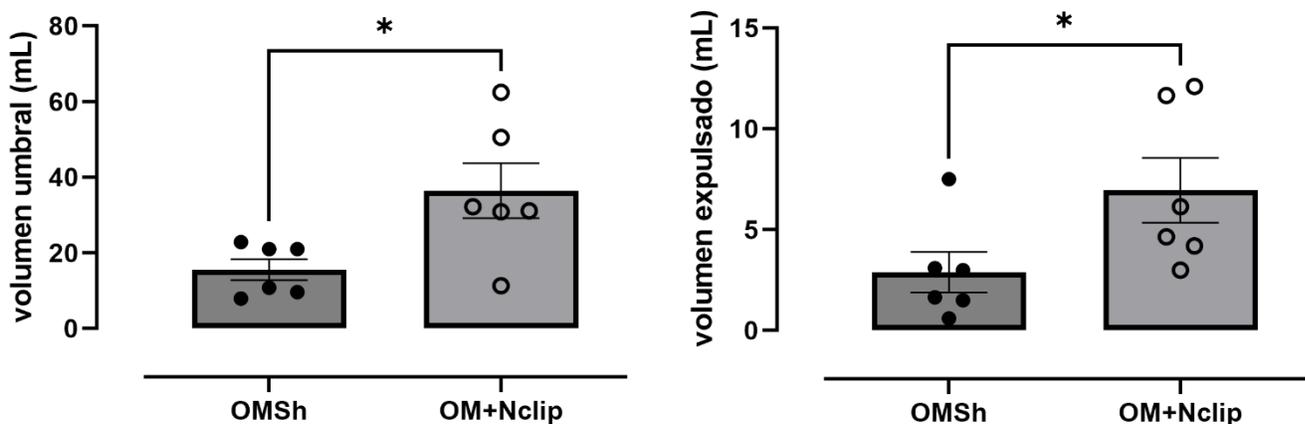
Respecto al IIC al final de las 4 semanas de tratamiento para el grupo OMSH fue de 329.70 ± 92.07 segundos, mientras que para el grupo OM+Nclip fue de 791.30 ± 155.40 segundos. El análisis estadístico reporta diferencias significativas entre ambos grupos ($P = 0.014$) (Gráfica 5).



Gráfica 5. Duración de la micción e Intervalo intercontracción al final de las cuatro semanas de tratamiento entre los grupos OMSH y OM+Nclip.

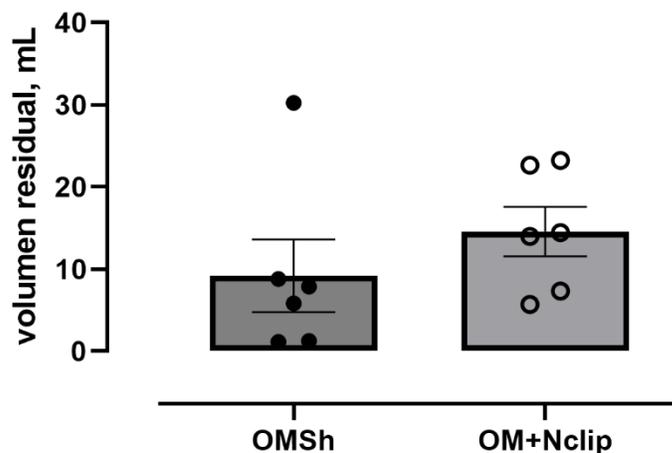
El resultado del VU después de las cuatro semanas de tratamiento fue de 15.53 ± 2.76 mL para el grupo OMSH mientras que para el grupo OM+Nclip fue de 36.45 ± 7.27 mL. El análisis estadístico indica que hay diferencias significativas entre ambos grupos ($P=0.011$) (Gráfica 6).

Respecto al VE el resultado para el grupo OMSH tras el tratamiento fue de 2.89 ± 1.00 mL, en tanto que para el grupo OM+Nclip fue de 6.95 ± 1.61 mL posterior al tratamiento. El análisis estadístico de t de Student reporta diferencias significativas entre ambos grupos ($P=0.028$) (Gráfica 6).



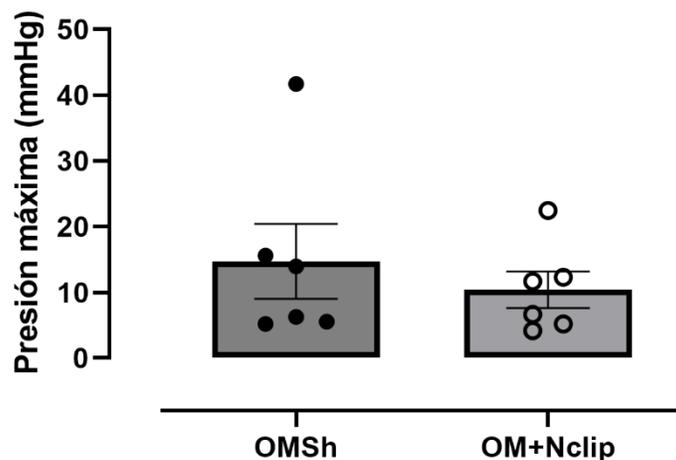
Gráfica 6. Volumen umbral y volumen expulsado durante la micción al final de las cuatro semanas de tratamiento entre los grupos OMSH y OM+Nclip.

Finalmente, el volumen residual promedio para el grupo OMSH al final del tratamiento de cuatro semanas fue de 9.19 ± 4.41 mL, por otro lado para el grupo OM+Nclip al final del tratamiento fue de 14.56 ± 3.01 . El análisis estadístico no reporta diferencias significativas entre los dos grupos ($P=0.337$) (Gráfica 7).



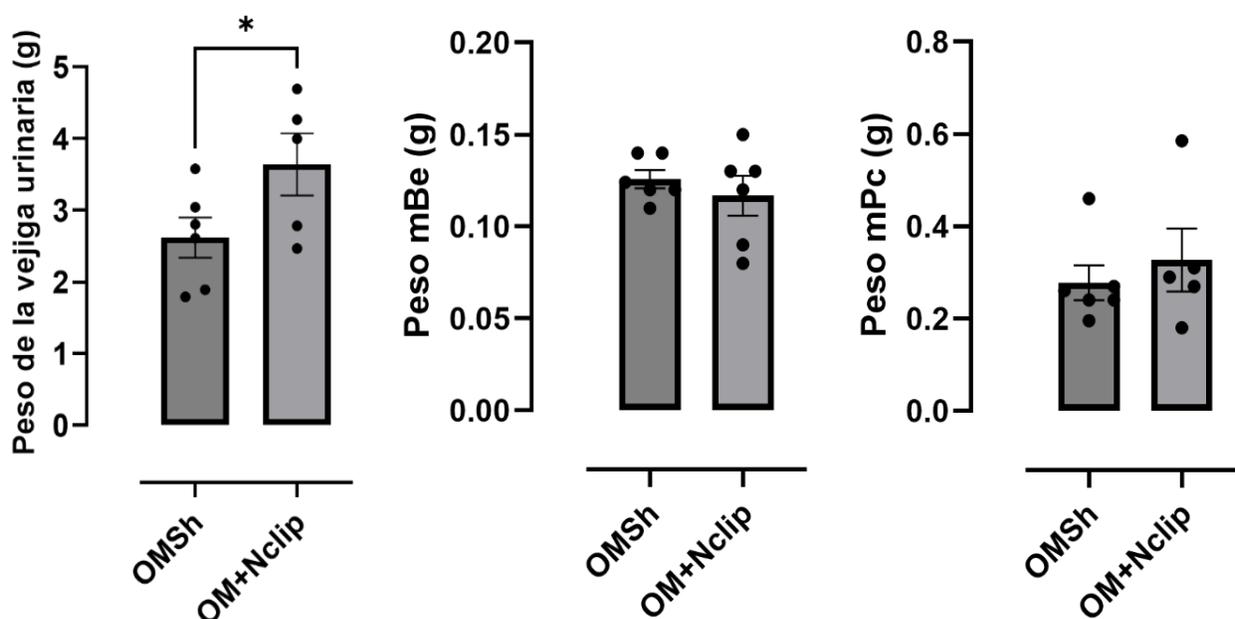
Gráfica 7. Volumen residual al final de las cuatro semanas de tratamiento entre los grupos OMSH y OM+Nclip.

Los resultados de la Pmax generada por el músculo detrusor durante una micción al final del tratamiento para el grupo OMSH fue de 14.71 ± 5.70 mmHg, en cambio para el grupo OM+Nclip la Pmax fue de 10.41 ± 2.77 mmHg. El análisis estadístico no reportó diferencias significativas entre ambos grupos ($P=0.256$) (Gráfica 8).



Gráfica 8. Presión máxima del detrusor durante la micción al final de las cuatro semanas de tratamiento entre los grupos OMSH y OM+Nclip.

Los resultados sobre el peso de la vejiga urinaria tras poner punto final a los animales al final del tratamiento de cuatro semanas fue de 2.62 ± 0.28 g para el grupo OMSH y de 3.64 ± 0.43 g para el grupo OM+Nclip. El análisis estadístico reporta diferencias significativas entre ambos grupos ($P=0.035$). Por otro lado el peso del mBe completo fue de 0.13 ± 0.01 g para el grupo OMSH y de 0.12 ± 0.01 g para el grupo OM+Nclip. El análisis estadístico indica que no existen diferencias significativas entre ambos grupos ($P=0.234$), finalmente el resultado del peso del mPc (como control) para el grupo OMSH fue de 0.27 ± 0.04 g y para el grupo OM+Nclip fue de 0.32 ± 0.07 g. No se reportan diferencias significativas (Gráfica 9).



Gráfica 9. Resultados de pesos húmedos de la vejiga urinaria, mBe y mPc (control) al final de las cuatro semanas de tratamiento entre los grupos OMSH y OM+Nclip.

Discusión

En nuestro estudio demostramos que el tratamiento de estimulación eléctrica inalámbrica durante cuatro semanas logra aumentar el volumen de orina expulsado en un 85% con respecto a la medición basal en el grupo en el que se implantó el NClip. Este mismo efecto ha sido reportado por Groen y cols. en 2005 con la estimulación inalámbrica del nervio pudendo en mujeres, pero con un incremento de solo 15% tras un periodo de estimulación de seis meses. Similar a este estudio, encontramos que el incremento del VE parece no depender de un mayor incremento en la presión vesical (Groen et al., 2005).

Una característica de nuestro estudio es que nos ocupamos de una estimulación altamente selectiva en el nBe, que se sabe es un nervio con axones principalmente mielínicos (Hernandez-Reynoso et al., 2021) y que podría ser una rama de lo que se considera el nervio pudendo en otras especies (Martínez-Gómez et al., 1997). Comparado con estudios realizados en humanos mediante estimulación sacral (Scheepens et al., 2002) (muy poco selectivos) o pudenda (Groen et al., 2005) (poco selectivos) a largo plazo se ha reportado una disminución del número de micciones, mientras que nosotros no encontramos modificaciones en esta variable, pero si un incremento en el volumen de micción al igual que los estudios antes referidos. Esta selectividad podría ser un factor que determine el éxito terapéutico en periodos más cortos comparados con los tratamientos convencionales del nervio pudendo o del plexo sacro.

Por otro lado encontramos que el número de pérdidas en la prueba del pañal disminuyó en el grupo OM+Nclip comparado con el grupo control OMSH. En este sentido, resultados similares han sido publicados en estudios en humanos reportados por los propios pacientes (Scheepens et al., 2002). Aunado a ello, la ausencia de cambios en la ingesta de agua que nosotros reportamos nos lleva a pensar que el efecto de la disminución en el número de pérdidas y la falta de modificaciones en el número de micciones puede estar relacionado con un efecto en las características de la vejiga urinaria, por ejemplo un incremento en la compliancia vesical.

Con respecto a los resultados de las variables urodinámicas encontramos que el volumen necesario para desencadenar una micción, es decir el VU se incrementó en un 130%; este

hecho significa que la vejiga urinaria incrementó su capacidad de almacenamiento antes de presentar un evento de micción de la misma forma que se reporta en estudios en animales donde se estimuló el nervio tibial (Li et al., 2016), el nervio tibial y sacral (Li et al., 2017) o el nervio pélvico (Langdale et al., 2017). En ese mismo sentido encontramos que el VE durante cada micción fue un 140% mayor en el grupo OM+Nclip y que se corresponde con el incremento en la duración de la micción en un 90% en el mismo grupo.

Finalmente con los resultados del peso de la vejiga urinaria al final de las cuatro semanas de tratamiento, se observó que en el grupo OM+Nclip las vejigas pesaron un 40% más que las del grupo control OMSH. Sin embargo a diferencia de lo anterior, los pesos del mBe no tuvieron diferencias entre ambos grupos tal como lo reportaron previamente en un estudio de estimulación eléctrica del nBE (Hernandez-Reynoso et al., 2021).

Por lo anterior y sumando todos los hallazgos previamente comentados podemos argumentar el tratamiento de estimulación eléctrica inalámbrica a través del NeuroClip implantado en un nervio altamente específico como el nBe durante 4 semanas es suficiente para incrementar la compliancia vesical y reducir el número de pérdidas de orina.

Más estudios son necesarios para evaluar los efectos que la estimulación sub crónica del nBe puede tener en las características histológicas del mBe y de la vejiga urinaria. Así como de los posibles efectos que el propio implante pudiera ocasionar en las características fisiológicas e histológicas del nervio estimulado. Sin embargo, nuestros resultados abonan a la posibilidad de considerar a las terapias de estimulación eléctrica de nervios altamente selectivos como una opción viable para el tratamiento de alteraciones de la micción.

Conclusiones

Al final del tratamiento de estimulación eléctrica inalámbrica crónica y selectiva del nBe se redujo el número de eventos de fuga e incrementó el peso de orina registrada en la conducta de micción.

La duración de la micción, el volumen de micción, el intervalo intercontracción y el volumen umbral de micción incrementaron después de la estimulación eléctrica inalámbrica crónica y selectiva del nBe.

El peso de la vejiga urinaria incremento en respuesta al tratamiento de estimulación eléctrica inalámbrica crónica y selectiva del nBe. ¿Una probable hipertrofia vesical?

El mayor tamaño de las vejigas puede estar incrementando la compliancia vesical (incremento del umbral de micción, el volumen de expulsión, duración de la micción y el intervalo intercontracción) en el grupo de añosas multíparas estimuladas con el NeuroClip.

La estimulación eléctrica inalámbrica crónica y selectiva del nBe es viable como terapia para trastornos de la micción femenina.

Bibliografía

- Abrams, P., Cardozo, L., Fall, M., Griffiths, D., Rosier, P., Ulmsten, U., ... Wein, A. (2003). The standarization of terminology in lower urinary tract function: Report from the standardisation sub-committee of the International Continence Society. *Urology*, 61(1), 37–49. [https://doi.org/10.1016/S0090-4295\(02\)02243-4](https://doi.org/10.1016/S0090-4295(02)02243-4)
- AgrovotMarket. (2019). *Penta-Hypnol Anestésico general de tipo barbitúrico* (pp. 1–4). pp. 1–4.
- Ammi, M., Chautard, D., Brassart, E., Culty, T., Azzouzi, A. R., & Bigot, P. (2014). Transcutaneous posterior tibial nerve stimulation: Evaluation of a therapeutic option in the management of anticholinergic refractory overactive bladder. *International Urogynecology Journal and Pelvic Floor Dysfunction*, 25(8), 1065–1069. <https://doi.org/10.1007/s00192-014-2359-0>
- Bharucha, A. E. (2006). Pelvic floor: Anatomy and function. *Neurogastroenterology and Motility*, 18(7), 507–519. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2982.2006.00803.x>
- Brink, T. S., Zimmerman, P. L., Mattson, M. A., Su, X., & Nelson, D. E. (2015). A Chronic, Conscious Large Animal Platform to Quantify Therapeutic Effects of Sacral Neuromodulation on Bladder Function. *Journal of Urology*, 194(1), 252–258. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2015.01.109>
- Brubaker, L., Benson, J. T., Bent, A., Clark, A., & Shott, S. (1997). Transvaginal electrical stimulation for female urinary incontinence. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 177(3), 536–540. [https://doi.org/10.1016/S0002-9378\(97\)70142-X](https://doi.org/10.1016/S0002-9378(97)70142-X)
- Cámara de Diputados del H. Congreso de la Unión. (2014, April 2). Reglamento de la ley general de salud en materia de investigacion para la salud. *Diario Oficial de La Federación*, pp. 1–31.
- Carvalho Pereira, L., Botelho, S., Marques, J., Adami, D. B., Alves, F. K., Palma, P., ... Riccetto, C. (2014). Electromyographic pelvic floor activity: Is there impact during the female life cycle? *Neurourology and Urodynamics*, 35(2), 230–234. <https://doi.org/10.1002/nau.22703>
- Castelán, F., López-García, K., Moreno-Pérez, S., Zempoalteca, R., Corona-Quintanilla, D. L., Romero-Ortega, M. I., ... Martínez-Gómez, M. (2018). Multiparity affects conduction properties of pelvic floor nerves in rabbits. *Brain and Behavior*, 8(10), 1–9. <https://doi.org/10.1002/brb3.1105>
- Corona-Quintanilla, D. L., Castelán, F., Fajardo, V., Manzo, J., & Martínez-Gómez, M. (2009). Temporal Coordination of Pelvic and Perineal Striated Muscle Activity During Micturition in Female Rabbits. *Journal of Urology*, 181(3), 1452–1458. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2008.10.103>
- Corona-Quintanilla, D. L., Zempoalteca, R., Arteaga, L., Castelán, F., & Martínez-Gómez, M. (2014). The role of pelvic and perineal striated muscles in urethral function during micturition in female rabbits. *Neurourology and Urodynamics*, 33(4), 455–460.

<https://doi.org/10.1002/nau.22416>

- Cruz, Y., Corona-Quintanilla, D. L., Juárez, M., & Martínez-Gómez, M. (2010). Características anatómicas y fisiológicas de los músculos pélvicos en la coneja doméstica (*Oryctolagus cuniculus*). *Veterinaria Mexico*, *41*(4), 263–274.
- Cruz, Y., Hernández-Plata, I., Lucio, R. A., Zempoalteca, R., Castelán, F., & Martínez-Gómez, M. (2017). Anatomical organization and somatic axonal components of the lumbosacral nerves in female rabbits. *Neurourology and Urodynamics*, *36*(7), 1749–1756. <https://doi.org/10.1002/nau.23209>
- Cruz, Y., Hudson, R., Pacheco, P., Lucio, R. A., & Martínez-Gómez, M. (2002). Anatomical and physiological characteristics of perineal muscles in the female rabbit. *Physiology and Behavior*, *75*(1), 33–40.
- Cuevas-Romero, E., Sánchez-Cardiel, A., Zamora-Gallegos, A. M., Cruz-Lumbreras, R., Corona-Quintanilla, D. L., Castelán, F., & Martínez-Gómez, M. (2017). Moderate-to-high normal levels of thyrotropin is a risk factor for urinary incontinence and an unsuitable quality of life in women over 65 years. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, *44*(October 2016), 86–92. <https://doi.org/10.1111/1440-1681.12788>
- Espinoza, C. J. M., Carreras, O. F., García De Alba García, J. E., Castellanos, P. I. V., Ruiz, M. I. G., & Allegre, R. M. (2006). Prevalencia de incontinencia urinaria y anal en mujeres de la zona metropolitana de Guadalajara. *Ginecología y Obstetricia de Mexico*, *74*(6), 300–305.
- Fowler, C. J., Griffiths, D., & De Groat, W. C. (2008). The neural control of micturition. *Nature Reviews. Neuroscience*, *9*(6), 453–466. <https://doi.org/10.1038/nrn2401>
- García-Pérez, H., Harlow, S. D., Sampsel, C. M., & Denman, C. (2013). Measuring urinary incontinence in a population of women in northern Mexico: Prevalence and severity. *International Urogynecology Journal and Pelvic Floor Dysfunction*, *24*(5), 847–854. <https://doi.org/10.1007/s00192-012-1949-y>
- Gill, B. C., Moore, C., & Damaser, M. S. (2010). Postpartum stress urinary incontinence: Lessons from animal models. *Expert Review of Obstetrics and Gynecology*, *5*(5), 567–580. <https://doi.org/10.1586/eog.10.48>
- Groen, J., Amiel, C., & Bosch, J. L. H. R. (2005). Chronic pudendal nerve neuromodulation in women with idiopathic refractory detrusor overactivity incontinence: Results of a pilot study with a novel minimally invasive implantable mini-stimulator. *Neurourology and Urodynamics*, *24*(3), 226–230. <https://doi.org/10.1002/nau.20131>
- Hall, J. E. (2009). *Textbook of medical physiology* (12th ed.; Saunders/Elsevier, Ed.). United States of America: Schmitt, William.
- Hamilton, W. J., & Mossman, H. W. (1972). Human Embryology. In *Prenatal development of form and function* (Vol. 1). <https://doi.org/10.1007/978-1-349-02796-5>
- Hannestad, Y. S., Rortveit, G., Sandvik, H., & Hunskaar, S. (2000). A community-based

- epidemiological survey of female urinary incontinence: the Norwegian EPINCONT study. *Epidemiology of Incontinence in the County of Nord-Trøndelag. Journal of Clinical Epidemiology*, 53(11), 1150–1157. <https://doi.org/S0895435600002328> [pii]
- Hernández-Bonilla, C., Zacapa, D., Zempoalteca, R., Corona-Quintanilla, D. L., Castelán, F., & Martínez-Gómez, M. (2023). Multiparity Reduces Urethral and Vaginal Pressures Following the Bulboglandularis Muscle Stimulation in Rabbits. *Reproductive Sciences*, (0123456789). <https://doi.org/10.1007/s43032-023-01263-3>
- Hernandez-Reynoso, A. G., Corona-Quintanilla, D. L., López-García, K., Horbovetz, A. A., Castelán, F., Zimmern, P., ... Romero-Ortega, M. I. (2021). Targeted neuromodulation of pelvic floor nerves in aging and multiparous rabbits improves continence. *Scientific Reports*, 11(1), 1–16. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-90088-8>
- Hernandez-Reynoso, A. G., Nandam, S., O'Brien, J. M., Kanneganti, A., Cogan, S. F., Freeman, D. K., & Romero-Ortega, M. I. (2019). Miniature electroparticle-cuff for wireless peripheral neuromodulation. *Journal of Neural Engineering*, 16(4), 046002. <https://doi.org/10.1088/1741-2552/ab1c36>
- Huang, X., Zheng, K., Kohan, S., Denprasert, P. M., Liao, L., & Loeb, G. E. (2017). Neurostimulation Strategy for Stress Urinary Incontinence. *IEEE Transactions on Neural Systems and Rehabilitation Engineering*, 25(7), 1068–1078. <https://doi.org/10.1109/TNSRE.2017.2679077>
- Hunnskaar, S., Lose, G., Sykes, D., & Voss, S. (2004). The prevalence of urinary incontinence in women in four. *BJU International*, 839–861. <https://doi.org/10.1111/j.1464-410X.2004.04609.x>
- Iglesia, C. B., & Smithling, K. R. (2017). Pelvic organ prolapse. *American Family Physician*, 96(3), 179–185.
- Irwin, D. E., Kopp, Z. S., Agatep, B., Milsom, I., & Abrams, P. (2011). Worldwide prevalence estimates of lower urinary tract symptoms, overactive bladder, urinary incontinence and bladder outlet obstruction. *BJU International*, 108(7), 1132–1138. <https://doi.org/10.1111/j.1464-410X.2010.09993.x>
- Kent, A. R., & Grill, W. M. (2013). Model-based analysis and design of nerve cuff electrodes for restoring bladder function by selective stimulation of the pudendal nerve. *Journal of Neural Engineering*, 10(3), 036010. <https://doi.org/10.1088/1741-2560/10/3/036010>
- Kovacevic, M., Lin, R., & Yoo, P. B. (2017). An enhanced method of transcutaneously stimulating the tibial nerve for the treatment of overactive bladder. *Annals of Biomedical Engineering*, 45(11), 2605–2613. <https://doi.org/10.1007/s10439-017-1907-4>
- Kramer, L. A., Gendron, J. M., Pierce, L. M., Runge, V. M., Shull, B. L., & Kuehl, T. J. (2006). Magnetic resonance imaging of the levator ani in the squirrel monkey: A comparison of muscle volume between a cohort with pelvic organ prolapse and matched normals. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 194(5), 1467–

1471. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2006.01.062>

- Langdale, C. L., Hokanson, J. A., Sridhar, A., & Grill, W. M. (2017). Stimulation of the pelvic nerve increases bladder capacity in the prostaglandin E₂ rat model of overactive bladder. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, *313*(3), F657–F665. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00116.2017>
- Lehtoranta, M., Streng, T., Yarkin, E., Paranko, J., Kolts, I., Talo, A., & Santti, R. (2006). Division of the male rat rhabdosphincter into structurally and functionally differentiated parts. *The Anatomical Record Part A: Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology*, *288A*(5), 536–542. <https://doi.org/10.1002/ar.a.20318>
- Li, X., Liao, L., Chen, G., Wang, Z., & Deng, H. (2017). Combination of sacral nerve and tibial nerve stimulation for treatment of bladder overactivity in pigs. *International Urology and Nephrology*, *49*(7), 1139–1145. <https://doi.org/10.1007/s11255-017-1587-x>
- Li, X., Liao, L. M., Chen, G. Q., Wang, Z. X., Lu, T. J., Deng, H., & Loeb, G. E. (2016). Tibial nerve stimulation to inhibit the micturition reflex by an implantable wireless driver microstimulator in cats. *Medicine (United States)*, *95*(33), 31–34. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000004537>
- Lien, K.-C., Mooney, B., Delancey, J. O. L., & Ashton-Miller, J. A. (2004). *Levator Ani Muscle Stretch Induced by Simulated Vaginal Birth*.
- López-Juárez, R., Zempoalteca, R., Corona-Quintanilla, D. L., Jiménez-Estrada, I., Castelán, F., & Martínez-Gómez, M. (2017). Multiparity modifies contractile properties of pelvic muscles affecting the genesis of vaginal pressure in rabbits. *Neurourology and Urodynamics*, *9999*(1), 1–9. <https://doi.org/10.1002/nau.23305>
- Martínez-Gómez, M., Lucio, R. A., Carro, M., Pacheco, P., & Hudson, R. (1997). Striated muscles and scent glands associated with the vaginal tract of the rabbit. *Anatomical Record*, *247*(4), 486–495. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0185\(199704\)247:4<486::AID-AR7>3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0185(199704)247:4<486::AID-AR7>3.0.CO;2-P)
- Martínez-Gómez, M., Mendoza-Martínez, G., Corona-Quintanilla, D. L., Fajardo, V., Rodríguez-Antolín, J., & Castelán, F. (2011). Multiparity causes uncoordinated activity of pelvic- and perineal-striated muscles and urodynamic changes in rabbits. *Reproductive Sciences*, *18*(12), 1246–1252. <https://doi.org/10.1177/1933719111411728>
- Moazzam, Z., Duke, A. R., & Yoo, P. B. (2016). Inhibition and excitation of bladder function by tibial nerve stimulation using a wirelessly powered implant: An acute study in anesthetized cats. *Journal of Urology*, *196*(3), 926–933. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2016.04.077>
- Moore, K. L., Persaud, T. V. N., & Torchia, M. G. (2016). *The developing human* (10th ed.). United States of America: Elsevier, Saunders.
- Mørkved, S., & Bø, K. (1999). Prevalence of urinary incontinence during pregnancy and

- postpartum. *International Urogynecology Journal*, 10(6), 394–398.
<https://doi.org/10.1007/s001920050067>
- Norton, P., & Brubaker, L. (2006). Urinary Incontinence in Women. *Lancet*, 367, 57–67.
- Pierce, L. M., Reyes, M., Thor, K. B., Dolber, P. C., Bremer, R. E., Kuehl, T. J., & Coates, K. W. (2003). Innervation of the levator ani muscles in the female squirrel monkey. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 188(5), 1141–1147.
<https://doi.org/10.1067/mob.2003.329>
- Scheepens, W. A., Van Koeveringe, G. A., De Bie, R. A., Weil, E. H. J., & Van Kerrebroeck, P. E. V. (2002). Long-term efficacy and safety results of the two-stage implantation technique in sacral neuromodulation. *BJU International*, 90(9), 840–845.
<https://doi.org/10.1046/j.1464-410X.2002.03028.x>
- Secretaría de Salud. (2009). *Detección, diagnóstico y tratamiento inicial de incontinencia urinaria en la mujer* (Centro Nacional de Excelencia Tecnológica en Salud, Ed.). México: CENETEC.
- Seeley, R. Stephens, T. Tate, P. (2001). Sistema muscular. In *Embriología médica de Lagman* (pp. 375–380). Panamericana.
- Shin, G. H., Toto, E. L., & Schey, R. (2015). Pregnancy and postpartum bowel changes: Constipation and fecal incontinence. *American Journal of Gastroenterology*, 110(4), 521–529. <https://doi.org/10.1038/ajg.2015.76>
- Simkin, D. J., Greene, J. A., Jung, J., Sacks, B. C., & Fessler, H. E. (2017). The Death of Animals in Medical School. *New England Journal of Medicine*, 376(8), 713–715.
<https://doi.org/10.1056/NEJMp1612992>
- Taylor, K., & Alvarez, L. R. (2019). An Estimate of the Number of Animals Used for Scientific Purposes Worldwide in 2015. *Alternatives to Laboratory Animals*, 47(5–6), 196–213. <https://doi.org/10.1177/0261192919899853>
- Wilson, P. D., Herbison, R. M., & Herbison, G. P. (1996). Obstetric practice and the prevalence of urinary incontinence three months after delivery. *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 103(2), 154–161.
<https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.1996.tb09668.x>

Anexos

Trabajos derivados de ésta tesis.



Optimal parameters of electrical stimulation for ischiocavernosus and bulbospongiosus nerves in nulliparous female rabbit

*D. A. ZACAPA¹, C. HERNÁNDEZ-BONILLA¹, D. L. CDRONA-QUINTANILLA¹, R. ZEMPOALTECA¹, F. CASTELÁN², M. ROMERO-ORTEGA³, M. MARTÍNEZ-GÓMEZ²

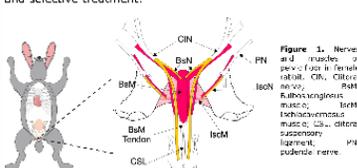
¹CTBC, Universidad Autónoma de Tlaxcala, México; ²IIB, Universidad Nacional Autónoma de México, México; ³Bioengineering Department, University of Texas at Dallas, Texas, United States.



poster # 407

Introduction

Clinical studies have been demonstrated that electrical stimulation of the pudendal nerve (PN) is a viable alternative to treat pelvic floor disorders, since it innervate several pelvic floor muscles (fig. 1). However, human neither in animals it has not been evaluated the electrical stimulation benefits on specific pelvic floor nerves in order to develop an effective and selective treatment.



Using female rabbits, we determined optimal electrical stimulation parameters for ischiocavernosus (IscN) and bulbospongiosus (Bsn) nerves. Structures that participate innervating muscles of voiding phase of micturition process.

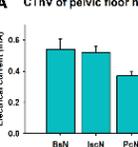
Under general anesthesia we dissected each nerve and stimulated with a continuous current stimulator *isoflex* from 0mA until reach electromyographic response in an oscilloscope display (fig. 2). Immediately after the sacrifice of animals, every nerve was excised to measure its diameter.



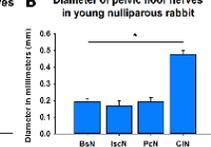
Raw data were analyzed with a normality Shapiro-Wilk test, Equal Variance Test and One Way ANOVA. Data are presented as means and standard error (SE).

CTHV for Bsn was $0.51\text{mA} \pm 0.07^{2b}$, for IscN was 0.52 ± 0.04^{2b} and for PcN was 0.37 ± 0.02^{2b} . However, ANOVA does not indicate significative differences ($F = 3.58, P = 0.095$) (fig. 4-A).

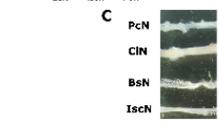
A CTHV of pelvic floor nerves



B Diameter of pelvic floor nerves in young nulliparous rabbit

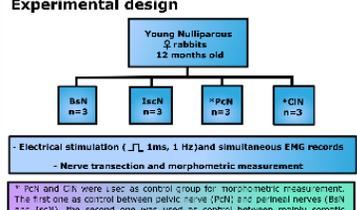


C



The nerves diameter analysis showed a significant difference between mainly somatic nerves (Bsn, IscN and PcN) compared to the mainly sensory nerve (CIN) ($F = 38.77, P < 0.001^*$) (Fig. 4-B and C).

Experimental design



* PcN and CIN were used as control group for morphometric measurement. The first one as control between pelvic nerve (PcN) and perineal nerves (Bsn and IscN), the second one was used as control between mainly somatic nerves (Bsn, IscN and PcN) and mainly sensory nerve (CIN).

Results

Electrical stimulation of all motor nerves evoked an initial deflection that indicate the stimulus artifact, then a multicomponent muscular response that varies with the electrical current applied to each nerve (fig. 3)

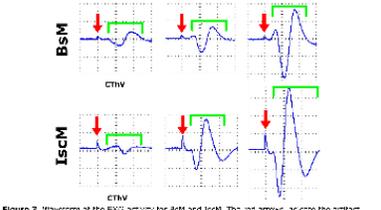


Figure 3. Waveforms of the EMG activity for Bsn and IscN. The first arrow indicates the stimulus artifact. The green bar indicates muscle activity. CTHV indicates the minimum current necessary to evoke a muscular response, ITC mean Current Threshold Value.

Conclusions

Perineal (Bsn, IscN) and pelvic (PcN) nerves require a CTHV around 0.47mA to evoke an electrical muscle response. These motor nerves have a minor diameter compared with a sensitive nerve (CIN). Further studies are necessary to improve treatments aimed at pelvic floor disorders.

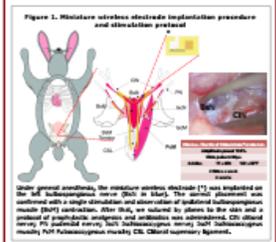
Support by NIH (1-R01-DK120307-01) and by National Council of Science and Technology (CONACYT) through fellowships DAZL732830 and OHS628336

Reunion Anual Internacional "Society for Neuroscience 2019, Chicago, EE. UU."

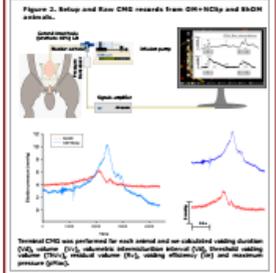
*D. A. ZACAPA¹, C. HERNÁNDEZ-BONILLA¹, D. L. CORONA-QUINTANILLA¹, O. SÁNCHEZ-GARCÍA², F. CASTELÁN³, M. MARTÍNEZ-GÓMEZ², M. I. ROMERO-ORTEGA⁴;
¹Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, ²Facultad de Ciencias de la Salud, Univ. Autónoma de Tlaxcala, Tlaxcala, México; ³Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM, Tlaxcala, México; ⁴Bioengineering and Biomedical Sciences, University of Houston, Houston, Texas.

Introduction
 Multiparity and aging are physiological events that are recognized as contributing factors in stress urinary incontinence (SUI). Patients with moderate SUI often receive cutaneous or intravaginal electrical stimulation to contract the pelvic floor muscles. Unfortunately, these therapies have demonstrated low therapeutic efficacy. The aim of this study was to evaluate the effect of direct neuromodulation of the perineal muscles as an alternative treatment for SUI.

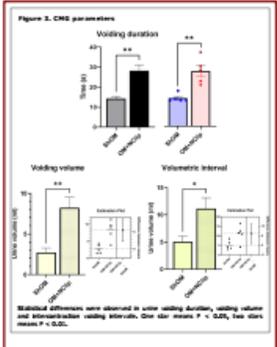
Methods
 Old multiparous Chinchilla rabbits (n=5)(4-5 years old, >4 deliveries) were implanted under general anesthesia with a miniature wireless electrode (OH+NCip) on right bulbospongiosus nerve (Bsn) and compared to old multiparous rabbit (n=5) with sham surgery (SHOM) (Figure 1). Two weeks after implantation wireless electrical stimulation was performed for four weeks with an external RF antenna placed at 4 cm from the pelvic area on both groups for 9 min at 30Hz (Figure 1).



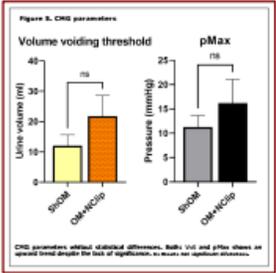
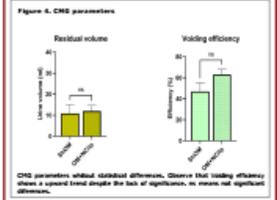
At the end of stimulation protocol, we recorded cystometrography studies (CMG) in all animals and calculated voiding duration (VD), voiding volume (Vv), volumetric intermicturition interval (Vii), threshold voiding volume (ThVv), residual volume (Rv) voiding efficiency (ve) and maximum bladder pressure during micturition (pMax) (Figure 2). The results were compared with t Student analysis for each variable between groups. We established Statistical significance with $P < 0.05$.



Results
 Our results showed that VD was 28 ± 3 s in OH+NCip group while in SHOM group was 14 ± 2 s. Vv in OH+NCip was 8.23 ± 1.28 ml and in SHOM animals was 2.72 ± 0.57 ml (Figure 3). An intermicturition interval of 5.06 ± 1.03 min was observed in SHOM, and doubled in the for OH+NCip group (11.14 ± 1.99 ml) (Figure 3).



The rest of the parameters did not show statistical differences between groups (Figure 4 and 5).



Conclusions
 Unilateral wireless electrical stimulation of bulbospongiosus muscle through its specific nerve, improved urinary bladder capacity probably by strengthening the perineal muscle contraction supporting its role as secondary urinary sphincter and improving continence phase of micturition. Despite of the lack of significance differences in volume voiding threshold, could be an effect on OH+NCip group that is consistent with a probable increase in bladder compliance that is supported by results of voiding efficiency and maximum pressure during bladder contraction. For future studies the effect of chronic implantation of this device on the nerve will be evaluated using electron microscopy in order to assess the histological effect. This data supports the use of small implantable neural stimulators as an alternative treatment for SUI.

The role of obturator internus muscles as a urinary continence mechanism in female rabbit

DIEGO ZACAPA^{1,2}, O. SÁNCHEZ-GARCÍA², C. HERNÁNDEZ-BONILLA³, D. CORONA-QUINTANILLA², R. ZEMPOALTECA RAMÍREZ², F. CASTELÁN^{4,2}, M. MARTINEZ-GOMEZ^{4,2}

1 Ciencias de la Salud, Univ. Autónoma De Tlaxcala, Tlaxcala, Mexico;

2 Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Tlaxcala, Mexico;

3 Biomedical Engineering, University of Houston, Houston, TX;

4 Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM, Tlaxcala, Mexico

Reunion Anual Internacional “Society for Neuroscience 2023, Washington, D.C., EE. UU.”
Virtual.

1 **Wireless electrical stimulation improve urodynamic variables after four** 2 **weeks treatment in mature multiparous rabbits**

3 ¹Escuela de Medicina, Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Autónoma de Tlaxcala

4 ² Department of Biomedical Engineering and Biomedical Sciences, University of Houston, Houston, TX, 77021,
5 USA

6 ³ Department of Biomedical Engineering, University of Arizona, Tucson, AZ, 85721, USA

7 ⁴ Departamento de Biología Celular y Fisiología, Unidad Foránea Tlaxcala, Instituto de Investigaciones
8 Biomédicas, Universidad Autónoma de México, Tlaxcala, Tlaxcala, México.

9 ⁵ Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Tlaxcala, Tlaxcala, México

10 *** Correspondence:**

11 Margarita Martínez-Gómez

12 marmag@iibiomedicas.unam.mx

13 + These authors contributed equally to the present manuscript.

14 **Keywords: targeted neuromodulation, wireless electrical stimulation, bioelectronic therapy,**
15 **pelvic floor stimulation, stress urinary incontinence**

16 **Abstract**

17

18

1. Introduction

19 It has been proven that electrostimulation therapy is a viable alternative for the treatment of some urinary
20 dysfunctions in humans (1–4). However, the currently existing options are limited to offering non-selective
21 treatments in relation to the targets to which electrical stimulation is directed and the type of UI, mainly
22 by overactive bladder (OAB) (3,4).

23 However, it is known that it is possible to stimulate a specific peripheral nerve through miniaturized
24 implantable and wireless device (5), a fact that has been replicated in nerves that control pelvic floor
25 muscles in rabbit animal models (6,7). Bulboespongiosus (BsM) and pubococcygeous muscles (PcM) have
26 been reported as elements that contribute to the normal development of micturition processes (8) and
27 that can be altered as a consequence of multiparity and aging (9–12). In the present study we seek to
28 answer whether wireless electrical stimulation allows selective modulating activity of the BsM, restoring
29 urodynamic function in multiparous rabbits. The reason for stimulating only the BsN and not the PcN is
30 due the limitations of surgical access to the nPc and its homologous muscle, specifically due to the depth

31 of PcM with respect to the plane of incision, as well as the reduced space that does not allow the placement
32 of the NeuroClip between the PcM and IlcM.

33 2. Materials and methods

34 2.1. Ethics statement

35 All experimental protocols in this study were performed according to the Guidelines for Treatment of Animals
36 in Research and were approved by the Animal Care and Use Committee of the Instituto de Investigaciones
37 Bimédicas-UNAM.

38 2.2 Animal Use

39 Rabbits were used due to their fully developed pelvic floor muscles and well-defined pelvic floor
40 activation pattern (Corona-Quintanilla et al., 2009) that is suggested to resemble previously reported
41 human functions (DeLancey, 2016). The present study used mature multiparous (MM) chinchilla-strain
42 female rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) 48 median months (15 months range) and 4.254 ± 0.178 kg
43 BW. MM rabbits were randomly sorted into two groups: experimental MM+Nclip (n=6) and control
44 ShMM (n=6). Mature multiparous had four litters, as described elsewhere (Lopez-Garcia, et al. 2017).
45 All animals were housed in individual stainless-steel cages and kept at $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ under artificial
46 lighting conditions (16:8, lights on at 06:00). The animals receive pellet food daily (Conejina, Purina)
47 and had ad libitum access to water via anti-drip bottles (Red kite; capacity 500 ml). The animals
48 underwent a one-week baseline period during which baseline voiding spot assay was performed
49 (Section 2.3), followed by a survival surgery (Section 2.4). Animals were given a 2-week recovery
50 period after survival implant surgery and subsequently received a 4-week stimulation treatment
51 (Section 2.5) and voiding spot assay. At the end of the treatment period, animals underwent non-
52 survival surgery during which cystometry (Section 2.6) was performed.

53 2.3 Voiding spot assay (VSA)

54 VSA was used to assess the spontaneous conscious voiding behaviors that indicate signs of urine
55 leakage in female rabbits. VSA was evaluated one day a week (20 h per day) during the baseline period
56 (1 week) and the stimulation period (4 weeks). Initially, the animals underwent a 4-hours water
57 restriction period (8 – 12 hours). The first measurement of the VSA (daytime collection) covered a
58 period of 5 h (12 - 17 hours) during which the animals had free access to water and food. Before starting
59 with the assay, absorbent pads (Affective Cover Pro; dimensions 90 cm x 60 cm) were weighed (g) in

60 a portable balance CS5200 (model OHAUS®) and placed on the waste trays located under the cages of
61 each animal. Subsequently, anti-drip bottles (model Red kite) were filled with 250 ml of water and
62 were placed in the cage corresponding to the evaluation animal. The dry weight (grams) of each
63 absorbent pad and the initial water volume (ml) were registered. During the assay, the animals were
64 allowed to void freely for 5 h (12 – 17 hours) without any manipulation. At the end of the assay, the
65 fecal matter present on the absorbent pads was carefully removed to clearly observe the voiding spots.
66 Then, each pad was imaged using a smartphone attached with an adapter as a support to a portable
67 tripod (model Sony). Finally, the absorbent pads were collected and weighed (g) in the portable balance
68 CS5200 (model OHAUS®). The wet weight (g) of each absorbent pad was registered to calculate the
69 micturition mass expelled (g) $_{\text{daytime}} = \text{pad wet weight (g)} - \text{pad dry weight (g)}$. Final water volume in
70 the non-drip bottles was also determined using a graduated cylinder measuring to calculate water intake
71 (ml) $_{\text{daytime}} = \text{water volume initial (ml)} - \text{water volume final (ml)}$. The second measurement of the VSA
72 (overnight collection) covered a period of 15 hours (17 - 8:00 hours of next day). A second absorbent
73 pad was placed at 17 hours and the anti-drip bottles (model Red kite) were again filled with 250 ml of
74 water. The dry weight (g) of each absorbent pad and the initial water volume (ml) were also registered.
75 The next day, the images, the wet weight (g) of the pads and final volume of water (ml) were obtained
76 following the same procedure. The micturition mass (g) $_{\text{overnight}}$ and water intake (ml) $_{\text{overnight}}$ were also
77 calculated. Therefore, the VSA was performed twice within a total period of 20 continuous hours per
78 day (Figure 1).

79 Images were analyzed blind to treatment conditions to determine the number of voids and the number
80 of leak points using the following criteria: 1) voids were considered those spots with a diameter greater
81 than 30mm and observed in the corners or in the lateral region of the pads, which are areas where
82 animals generally voiding; 2) the leak points were considered as those spots with a diameter less than
83 30mm and observed in regions away from an active void to avoid the erroneous identification of
84 splatters. The behavioral data parameters obtained from the VSA were the following: a) Total number
85 of voids per day = (total number of voids) $_{\text{daytime}} + (\text{total number of voids})_{\text{overnight}}$; b) Total number of
86 leak points per day = (total number of leak points) $_{\text{daytime}} + (\text{total number of leak points})_{\text{overnight}}$; c) Total
87 micturition mass per day (g) = (pad wet weight – pad dry weight $_{\text{daytime}}$) + (pad wet weight – pad dry
88 weight) $_{\text{overnight}}$; d) Total water intake per day (ml) = (water volume initial – water volume final) $_{\text{daytime}}$
89 + (water volume initial – water volume final) $_{\text{overnight}}$.

90 **2.4 Wireless NeuroClip (version 01) implantation**

91 Twelve female rabbits were randomly distributed into two experimental groups. The first group consisted of
92 control (n=6), sham-operated animals without device implantation (ShMM). In the second experimental group
93 (n=6) a NeuroClip (version 01) was implanted unilaterally in the BsN (MM+Nclip). All animals underwent
94 survival surgeries in aseptic conditions following approved experimental protocols. Anesthesia was induced
95 with an intramuscular injection of ketamine (35 mg/kg) and xylazine (5mg/kg) and maintained throughout the
96 surgical procedure via inhaled oxygen (2L/min) mixed with isoflurane (1-3%). All surgical time animals were
97 maintained on thermal pad to avoid loss of body temperature. First, the animals were placed in a supine
98 position and longitudinal midline incision (approximately 20mm) was made in the skin at the perineal vagina,
99 from the clitoris to the ischiatic arch to identify the BsM. Then, the fascia beneath the skin was carefully
100 dissected to expose the BsM, which originates on the external surface of the ischiatic arch and inserts in the
101 ventral surface of the perineal vagina via a tendon. Once the muscle was exposed, the BsN was identified and
102 isolated from the surrounding connective tissue. The BsN was isolated proximal to their muscle insertion. To
103 confirm innervation, the BsN was stimulated with silver hook electrodes (0.1 mm diameter) connected to a
104 constant current stimulator (Digitimer DS3). Square current pulses (mA) at variable intensity were triggered by
105 a grass stimulator (S48). The stimulation frequency applied was 1-5 Hz with a pulse duration of 0.5 ms to evoke
106 a visible contractile response. After the innervation was validated by BsM contraction, the wireless NeuroClip
107 (version 01) was implanted in the BsN (left). The device was tested applying short-term wireless stimulation
108 (10s, 1Hz, 100% amplitude) using a radio-frequency pulse generator (RBI Medical) to evoke muscle contraction
109 and validate the functionality of the NeuroClip (version 01) (Figure 2). The device was secured in place using a
110 minimal amount of sealant (kwik-Cast Silicone Sealant, Word Precision Instruments) to avoid NeuroClip
111 migration. NeuroClip was placed with antenna face toward skin plane and finally, the skin was sutured using
112 4-0 absorbable suture. All animals received a single 0.1mL doses of buprenorphine and 0.2mL enrofloxacin +
113 metamizol by intramuscular way and daily spray antiseptic dermal application for 3 days. Then animals were
114 allowed to recover for 2 weeks under veterinary care services.

115 **2.5 Stimulation treatment**

116 All animals underwent a 4-week standardized stimulation treatment after a 2-week recovery period followed
117 by survival implant surgeries. During the stimulation period, the voiding behavior of the animals were
118 evaluated through the voiding spot assay one day per week. The stimulation treatment was applied in
119 conscious animals. The animals were handled daily to minimize stress during the stimulation treatment. Each
120 animal was placed in a supine position and the front and hind limbs were restrained to prevent their mobility
121 during stimulation. Once in this position, the antenna was placed at a 0° angle on the skin at the perineal
122 vagina above the implanted NeuroClip. Wireless stimulation treatment was provided 4 days per week during
123 the morning (i.e., 9 hours). The configuration of the stimulation parameters was determined according to the

124 contractile response of the BsM to generate a maximum increase in urethral pressure (Günter, Delbeke and
125 Ortiz-Catalan 2019). Each treatment session consisted of 4 cycles of 15-s stimulation train followed by 120-s
126 rest period to minimize fatigue. This provides a 60-s effective stimulation of BsM, which mimics the daily BsM
127 contraction achieved during voiding (Stein, et al. 2001). The alternate day treatment schedule has been shown
128 to improve muscle function without adverse effect from fatigue (Agre, et al. 1996) and therefore was selected
129 for this comparatively high-intensity treatment paradigm. While all animals underwent the treatment
130 protocol, neuromodulation of BsN was achieved only in the experimental group which had active implants,
131 while the control animals did not have implants or had non-functional (sham) implants (Figure 3).

132 2.6 Non-survival surgery

133 Animals were anesthetized at the end of the experiment with 1.5g/kg of B.W. dose of 20% urethane solution.
134 The bladder was exposed by making a 30mm upward medial incision above the pelvic symphysis. The fascia
135 beneath the skin was dissected to expose the abdominal muscles. An incision was made at the midline (linea
136 Alba) to expose the bladder inside the intraperitoneal space.

137 A 1.2mm diameter semi rigid catheter was inserted into the bladder apex and secured using a purse string
138 suture. Catheter was connected to a pressure transducer (Statham Hato Rey, P23BC®), to record bladder
139 pressure (P_{ves}). Urine in the bladder was extracted using a disposable 10-mL syringe connected to the bladder
140 catheter and then pulling down gently. The abdominal muscle, fascia and skin were sutured back together to
141 acquire true Pves recording. The disposable syringe was removed from the bladder catheter and both the
142 bladder and urethral catheters were connected to a pre-flushed and pre-calibrated urodynamic system. The
143 urodynamic system consists of the bladder catheter line connected with both a syringe pump and pressure
144 transducer (MLT0699 Disposable BP Transducer) for simultaneous bladder filling and bladder pressure (P_{ves})
145 recording (Figure 4).

146 2.6.1 Functional cystometry analysis

147 Cystometry was conducted by filling the bladder with warm 0.9% saline solution at a constant rate of
148 0.8mL/min until one voiding event was completed. We registered all micturition event, but only take account
149 for analysis 2nd and 3rd events to avoid the first habituation event. The volume at which leak occurred (leak
150 point volume) and total volume infused into the bladder until end of run were recorded from the syringe pump,
151 and the voided volume was collected using a syringe and registered. Remaining volume in the bladder was
152 calculated using the total volume infused minus voided volume. At least 3 cystometry cycles were conducted
153 for each animal, with a 10-minute resting period between each cycle. Variables registered were voiding
154 duration (time of void in seconds, Vd); inter-contraction interval (time between detrusor contraction in
155 seconds, ICI); threshold volume (volume of saline solution that start a micturition reflex, ThV); urine volume

156 expelled (volume of urine expelled per void in mL, VE); residual volume (volume of urine that remain into the
157 bladder after a void in mL, RV); maximal pressure void (maximal pressure of detrusor during a void in mmHg,
158 Pmax).

159 2.7 Statistical analysis

160 Statistical analyses were performed in GraphPad Prism version 9.0.2(161) for Windows (GraphPad Software,
161 San Diego, CA, USA). Data distribution was calculated using the Shapiro-wilk normality test ($\alpha= 0.05$). To
162 compare behavioral results between baseline and treatment periods within groups, two-tailed paired t-test
163 was conducted for normally distributed data sets and Wilcoxon test was used for non-normal data sets. Results
164 were expressed as mean \pm SEM. Statistical significance: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.005$, **** $p < 0.0001$

165 3.RESULTS

166 3.1 Voiding Spot Assay

167 Only for VSA, data from one female were not assessed because they were partially recorded and it was
168 impossible for us to recover most of them. Due to this, the data from the ShMM group had $n=6$, while the data
169 from MM+NClip had $n=5$. The urine mass expelled was 62.5 ± 14.23 g for the baseline test of the ShMM group
170 and 92.04 ± 10.95 g after treatment. For MM+NClip group was 73.8 ± 14.89 g baseline and 115.8 ± 22.24 g at the
171 end of treatment. Mixed-model ANOVA analysis indicates significant differences ($P=0.0136$) between the
172 groups. Tukey's multiple comparisons *post hoc* test, shows that urine mass expelled after four weeks of
173 treatment in the MM+NClip group was significantly greater compared to the baseline ($P=0.032$) (Figure 5).

174 Regarding the number voids recorded before treatment for the ShMM group, it was 3 ± 0.44 voids, after
175 treatment it was 2.7 ± 0.36 voids. For the MM+NClip group before treatment the number voids was 2.6 ± 0.6 and
176 2.1 ± 0.42 after treatment. The mixed-model ANOVA does not report significant differences between groups
177 ($P=0.629$) (Figure 5).

178 For the water intake before treatment for the control group, it was 212.5 ± 36.44 mL and 284.5 ± 28.12 mL after
179 treatment. For the MM+NClip group before treatment, water intake was 240.2 ± 34.83 and 299.80 ± 57.22 after
180 treatment. The statistical analysis of mixed-model ANOVA does not report significant differences between any
181 of the 4 groups ($P=0.073$) (Figure 5).

182 Finally, in relation to the number of urine spots in diapers, our results indicate that for the ShMM group before
183 treatment it was 4.66 ± 0.88 spots, and 2.79 ± 0.49 after treatment. For the MM+NClip group the result before
184 treatment was 2.60 ± 0.40 and 1.03 ± 0.31 after treatment. Mixed-model ANOVA reports significant differences

185 between groups ($P=0.018$). The Holm-Sidák post hoc test shows that the number of urine spots is statistically
186 lower between the MM+NClip group after treatment ($P=0.016$) (Figure 5).

187 3.2 Urodynamic variables

188 Results of the urodynamic variables reported that Vd for the ShMM group at the end of treatment was 14.54
189 ± 0.81 seconds, while for MM+NClip group was 27.27 ± 1.98 seconds. The statistical analysis reports significant
190 differences between groups ($P<0.0001$).

191 Regarding the ICI at the end of treatment for the ShMM group it was 329.70 ± 92.07 seconds, while for the
192 MM+NClip group was 791.30 ± 155.40 seconds. The statistical analysis reports significant differences between
193 both groups ($P=0.014$) (Figure 6).

194 The ThV result after treatment was 15.53 ± 2.76 mL for the ShMM group while for the MM+NClip group it was
195 36.45 ± 7.27 mL. The statistical analysis shows significant differences between both groups ($P=0.011$) (Graph 6).
196 For VE, the result for the ShMM group after treatment was 2.89 ± 1.00 mL, and for the MM+NClip group it was
197 6.95 ± 1.61 mL. The statistical analysis reports significant differences between groups ($P=0.028$) (Figure 7).

198 Finally, the RV for the ShMM group at the end of treatment was 9.19 ± 4.41 mL, and for the MM+NClip group it
199 was 14.56 ± 3.01 mL. The statistical analysis does not report significant differences between groups ($P=0.337$)
200 (Figure 7).

201 The results of the Pmax generated by the detrusor muscle during void at the end of treatment for the ShMM
202 group was 14.71 ± 5.70 mmHg, while for the MM+NClip group the Pmax was 10.41 ± 2.77 mmHg. The statistical
203 analysis did not report significant differences between groups ($P=0.256$) (Figure 7).

204 3.3 Morphometric variables

205 The results on the weight of the urinary bladder after non-survival surgery at the end of treatment were
206 2.62 ± 0.28 g for the ShMM group and 3.64 ± 0.43 g for the MM+NClip group. The statistical analysis reports
207 significant differences between both groups ($P=0.035$). On the other hand, the weight of the bilateral mBe was
208 0.13 ± 0.01 g for the ShMM group and 0.12 ± 0.01 g for the MM+NClip group. The statistical analysis indicates that
209 there are no significant differences ($P=0.234$), finally the mPc weight (as a negative control) for the ShMM
210 group was 0.27 ± 0.04 g and for the MM+NClip group it was 0.32 ± 0.07 g. No significant differences were founded
211 (Figure 8)

212 4.DISCUSSION

213 In our study we demonstrated that wireless electrical stimulation treatment for four weeks increase the
214 volume of urine expelled by 85% compared to the baseline measurement in the group in which the NeuroClip

215 was implanted. This same effect has been reported with wireless stimulation of the pudendal nerve in women,
216 but with an increase of only 15% after a stimulation period of six months (4). Similar to this study, we found
217 that the increase in VE does not seem to depend on a greater increase in bladder pressure.

218 A feature of our study is that we dealt with a highly selective stimulation in an nBe, which is known to be a
219 nerve with mainly myelinated axons (6) and which could be a branch of what is considered the pudendal nerve
220 in other species (13). Compared with studies carried out in humans through long-term sacral (2) (very little
221 selective) or pudendal (4) (not very selective) stimulation, a decrease in the number of urinations has been
222 reported, while we found no modifications in this variable, but if an increase in the volume of urination like
223 the studies referred to above. This selectivity could be a factor that determines therapeutic success in shorter
224 periods compared to conventional treatments of the pudendal nerve or sacral plexus.

225 On the other hand, we found that the number of losses in the diaper test decreased in the MM+NClip group
226 compared to the OMSH control group. In this sense, similar results have been published in human studies
227 reported by patients themselves (2). In addition to this, the absence of changes in water intake that we report
228 helps us to think that the effect of the decrease in the number of losses and the lack of changes in the number
229 of urinations may be related to an effect on the characteristics of the urinary bladder, for example an increase
230 in bladder compliance.

231 With respect to the results of the urodynamic variables, we found that the volume necessary to trigger
232 urination, that is, the VU, increased by 130%. This fact means that the urinary bladder increased its storage
233 capacity before presenting a urination event. the same way that is reported in animal studies where the tibial
234 nerve (14), the tibial and sacral nerve (15) or the pelvic nerve (16) were stimulated. In this same sense, we
235 found that the VE during each urination was 140% greater in the MM+NClip group and that it corresponds to
236 the increase in the duration of urination by 90% in the same group.

237 Finally, with the results of the weight of the urinary bladder at the end of the four weeks of treatment, it was
238 observed that in the MM+NClip group the bladders weighed 40% more than those in the control group OMSH.
239 However, unlike the above, the mBe weights did not have differences between both groups as previously
240 reported in a study of electrical stimulation of the nBE (6).

241 Based on the above and adding all the previously mentioned findings, we can argue that the treatment of
242 wireless electrical stimulation through the Neuro clip implanted in a highly specific nerve such as the nBe for
243 4 weeks is sufficient to increase bladder compliance and reduce the number of urine losses. .

244 More studies are necessary to evaluate the effects that subchronic stimulation of the nBe may have on the
245 histological characteristics of the mBe and the urinary bladder. As well as the possible effects that the implant

246 itself could cause on the physiological and histological characteristics of the stimulated nerve. However, our
247 results support the possibility of considering highly selective electrical nerve stimulation therapies as a viable
248 option for the treatment of urination disorders.

249

5. Figure legends

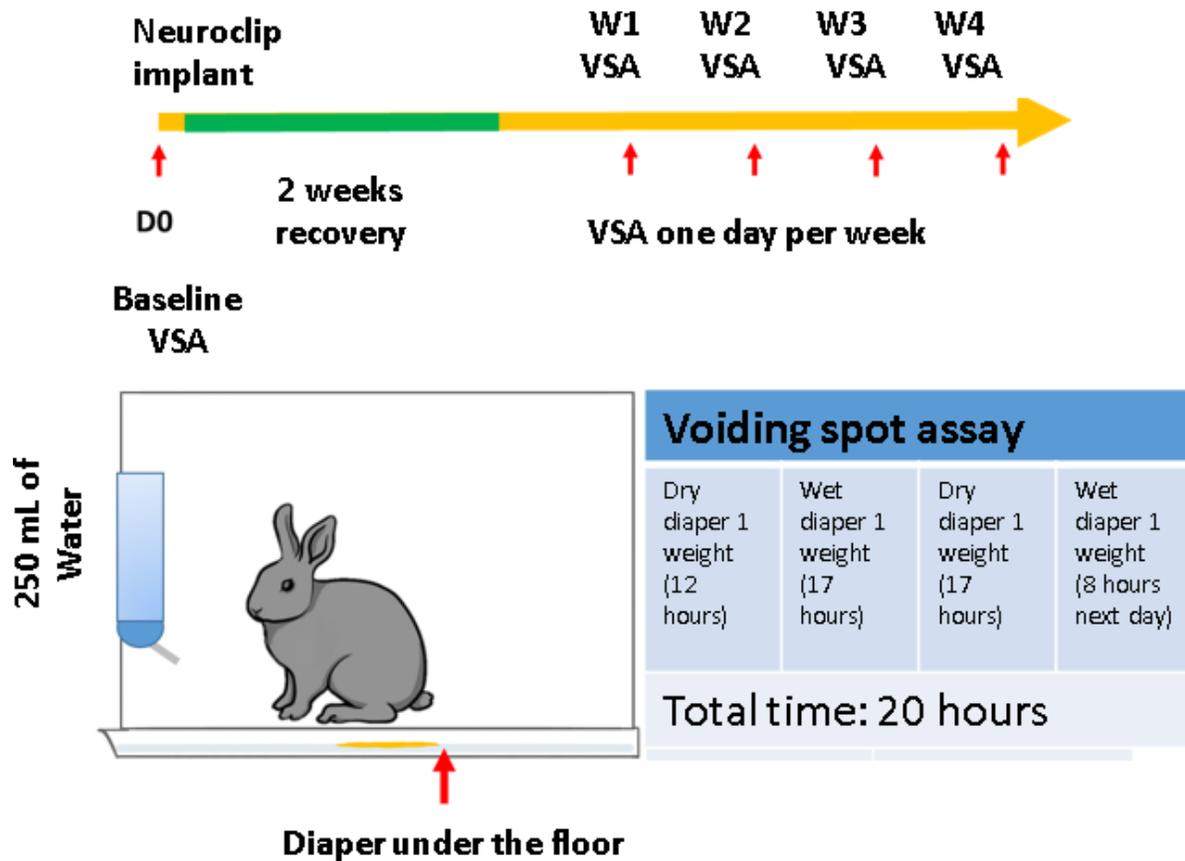


Figure 1. Voiding spot assay (VSA) methodology. Baseline test of VSA was performed on day zero (D0). Immediately after implantation surgery or Sham surgery for ShMM group 2 weeks of recovery were allowed. At the end of each week of electrical stimulation treatment (W1, W2, W3, W4) a VSA was performed.

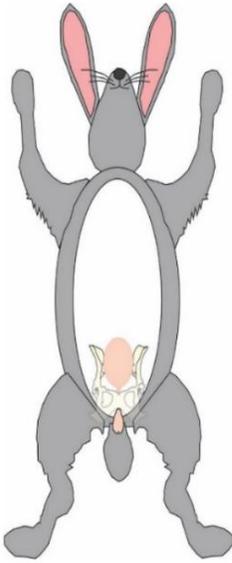
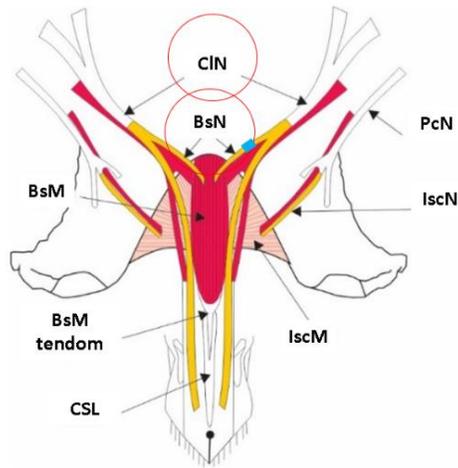
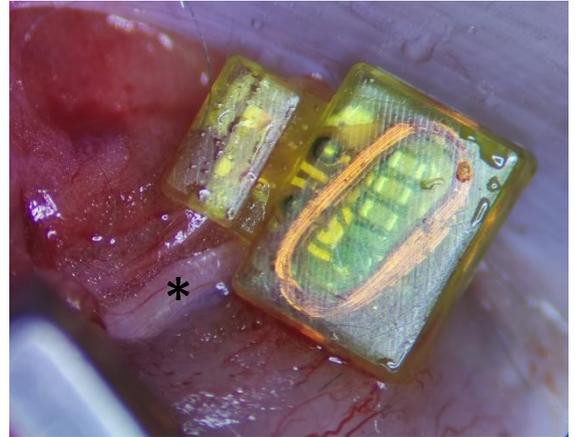
A**B****C**

Figure 2. Anatomical diagram of the surgical site (panel A), location of the BsN in the rabbit, site where the Neuro clip stimulator was implanted in blue rectangle (panel B). Neuro clip implanted in the BsN, CIN is behind NeuroClip wit asterisk (Panel C).

Treatment parameters		
Amplitude power 100%		
Pulse width: 200µs		
4 cycles	15 s ON	120 s OFF
4 times a week		
4 weeks		

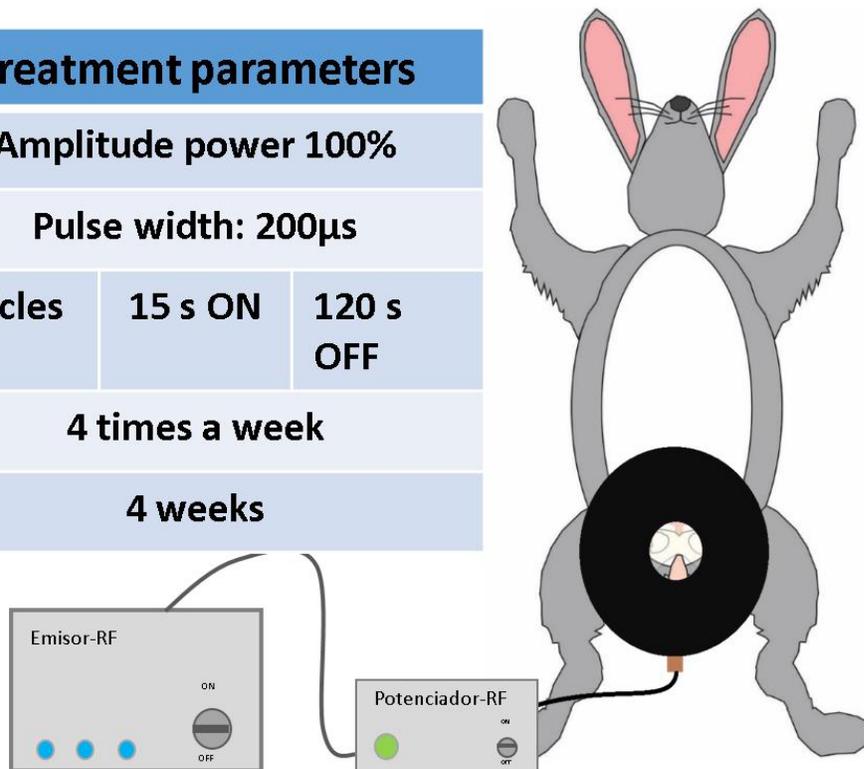


Figure 3. Setup of the neuro clip wireless stimulation equipment. Using a laptop the stimulation parameters were established in the graphical user interface GUI of the radiofrequency emitter that generates the RF waves that are then increased by the RF booster to be finally emitted in the antenna placed just above the implant site.

252

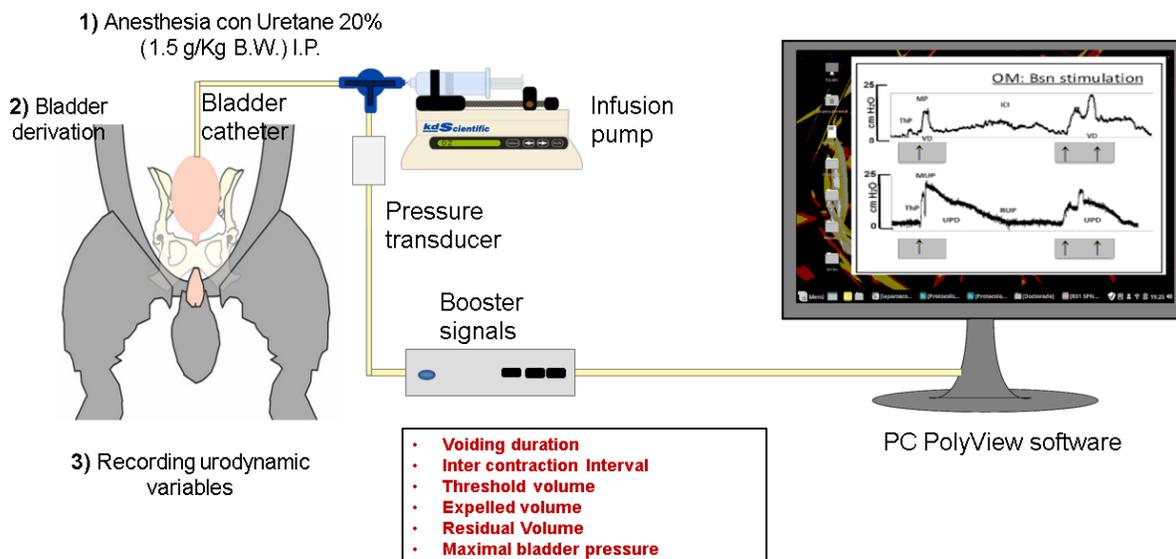


Figure 4. Setup of the urodynamic recording system and urodynamic variables recorded

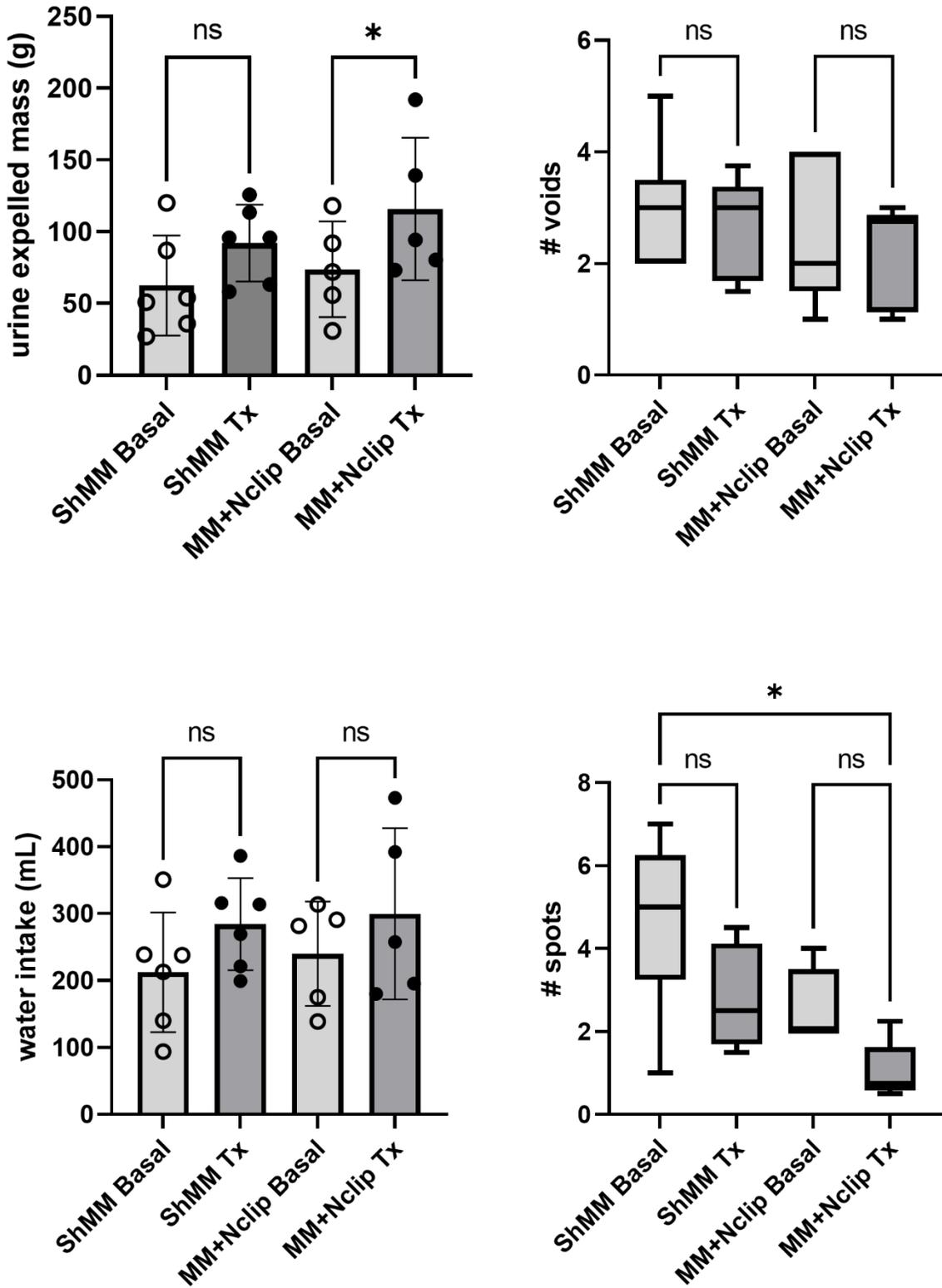


Figure 5. urine mass expelled, number of voids, water intake and number of spots after 20 hours of VSA monitoring for the two groups ShMM and MM+Nclip before (Basal) and after treatment with wireless electrical stimulation (Tx).

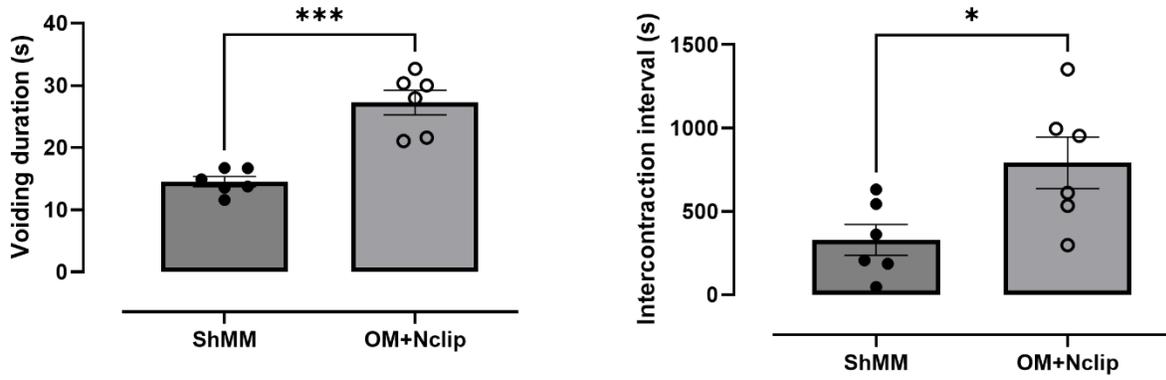


Figure 6. Voiding duration and Intercontraction intervals after 4-weeks nerve stimulation treatment in ShMM and MM+Nclip groups.

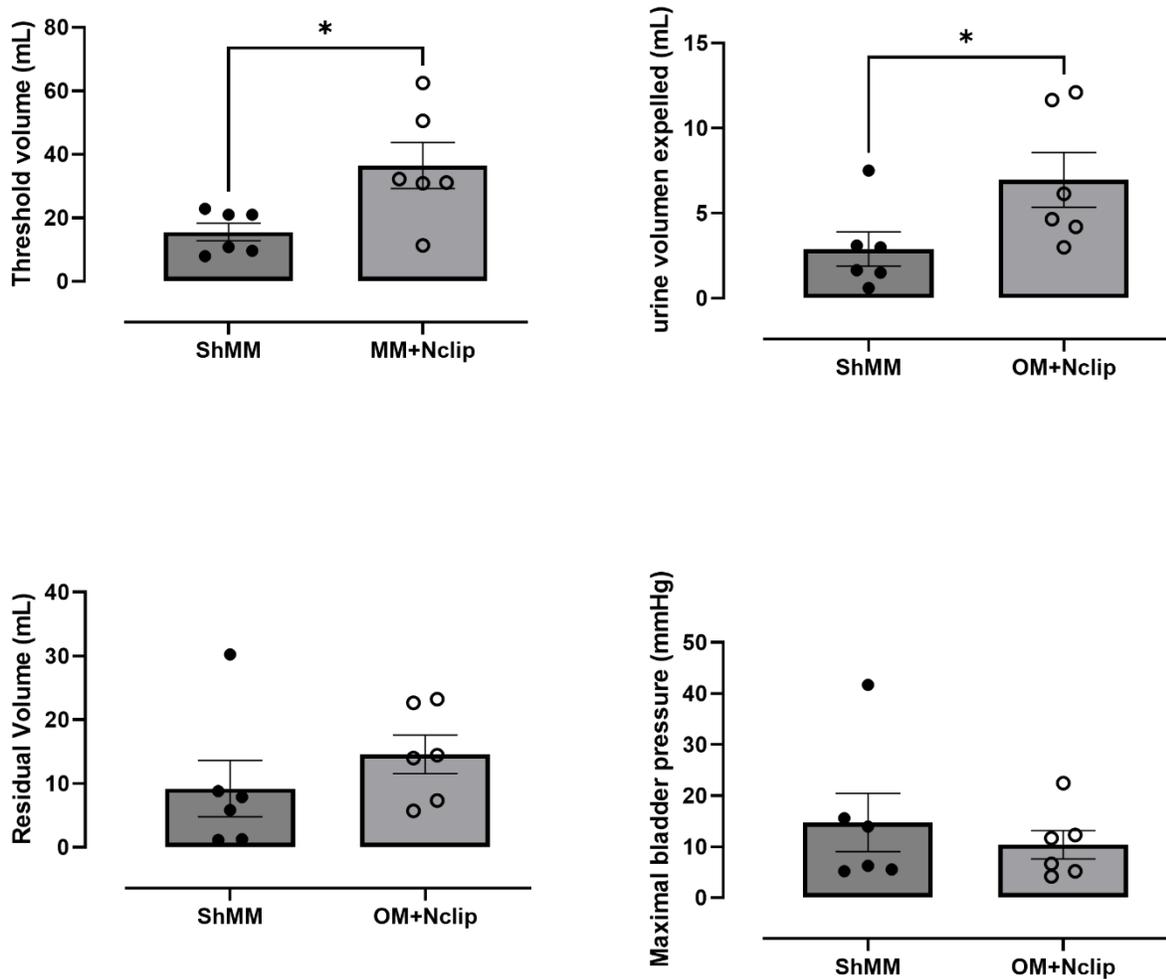


Figure 7. Residual volume and maximal bladder pressure after 4-weeks nerve stimulation treatment in ShMM and MM+Nclip groups.

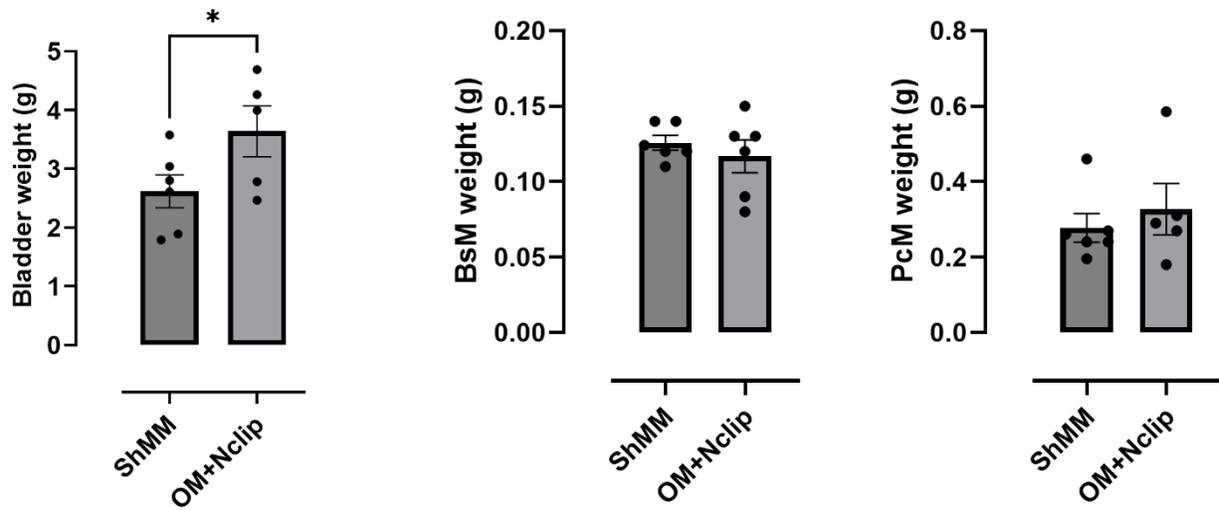


Figure 8. Bladder, BsM and PcM (negative control) weight after 4-weeks nerve stimulation treatment in ShMM and MM+Nclip groups.

256

257

6. Conflict of Interest

258 MR-O owns shares in RBI Medical, a medical device company. RBI Medical did not have any role in data
259 collection, analysis, or the manuscript.

260 *The remaining authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial*
261 *relationships that could be construed as a potential conflict of interest.*

262

Author Contributions

263 Diego Zacapa, Margarita Martínez-Gómez, Mario Romero-Ortega, Francisco Castelan: experimental design.

264 Diego Zacapa, Cecilia Hernández-Bonilla, Octavio Sánchez-García, Dora Luz Corona-Quintanilla and René
Gráfica 9. Resultados de pesos húmedos de la vejiga urinaria, mBe y mPc (control) al final de las
cuatro semanas de tratamiento entres los grupos OMSH y OM+Nclip.

265 Zempoalteca-Ramirez: behavioral and surgical experimentation.

266 Diego Zacapa, Cecilia Hernández-Bonilla, Francisco Castelan: data analysis, statistical analysis, figure design,
267 manuscript author

268

7. Funding and acknowledgments

269 This work was supported by the National Institutes of Health (NIH 1 R01 DK120307-01) and Consejo Nacional
270 de Humanidades, Ciencias y Tecnología CONACYT MEXICO (PhD fellowship DAZL.732830)

271 Acknowledgments

272 To my Lab mates by their invaluable support in all study process (alphabetical order): Atzin Balderas Morales,
273 Ezenkey Castillo Carmona, Samantha Flores Lozada, Alan Flores, Vicente García, Iliana Lizzette Islas Lazcano,
274 Esteban Rodriguez Benite

8. References

1. Norton P, Brubaker L. Urinary Incontinence in Women. *Lancet*. 2006;367:57–67.
2. Scheepens WA, Van Koevinge GA, De Bie RA, Weil EHJ, Van Kerrebroeck PE V. Long-term efficacy and safety results of the two-stage implantation technique in sacral neuromodulation. *BJU Int*. 2002;90(9):840–5.
3. Ammi M, Chautard D, Brassart E, Culty T, Azzouzi AR, Bigot P. Transcutaneous posterior tibial nerve stimulation: Evaluation of a therapeutic option in the management of anticholinergic refractory overactive bladder. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct*. 2014;25(8):1065–9.
4. Groen J, Amiel C, Bosch JLHR. Chronic pudendal nerve neuromodulation in women with idiopathic refractory detrusor overactivity incontinence: Results of a pilot study with a novel minimally invasive implantable mini-stimulator. *Neurourol Urodyn*. 2005;24(3):226–30.
5. Hernandez-Reynoso AG, Nandam S, O'Brien JM, Kanneganti A, Cogan SF, Freeman DK, et al. Miniature electroparticle-cuff for wireless peripheral neuromodulation. *J Neural Eng*. 2019;16(4):046002.
6. Hernandez-Reynoso AG, Corona-Quintanilla DL, López-García K, Horbovetz AA, Castelán F, Zimmern P, et al. Targeted neuromodulation of pelvic floor nerves in aging and multiparous rabbits improves continence. *Sci Rep*. 2021;11(1):1–16.
7. Hernandez-Reynoso AG, Rahman FS, Hedden B, Castelán F, Martínez-Gómez M, Zimmern P, et al. Secondary urethral sphincter function of the rabbit pelvic and perineal muscles. *Front Neurosci*. 2023 Feb 16;17.
8. Corona-Quintanilla DL, Zempoalteca R, Arteaga L, Castelán F, Martínez-Gómez M. The role of pelvic and perineal striated muscles in urethral function during micturition in female rabbits. *Neurourol Urodyn*. 2014 Apr;33(4):455–60.
9. Hernández-Bonilla C, Zacapa D, Zempoalteca R, Corona-Quintanilla DL, Castelán F, Martínez-Gómez M. Multiparity Reduces Urethral and Vaginal Pressures Following the Bulboglandularis Muscle Stimulation in Rabbits. *Reprod Sci*. 2023;(0123456789).
10. López-Juárez R, Zempoalteca R, Corona-Quintanilla DL, Jiménez-Estrada I, Castelán F, Martínez-Gómez M. Multiparity modifies contractile properties of pelvic muscles affecting the genesis of vaginal pressure in rabbits. *Neurourol Urodyn*. 2017 Jan;9999(1):1–9.
11. Martínez-Gómez M, Mendoza-Martínez G, Corona-Quintanilla DL, Fajardo V, Rodríguez-Antolín J, Castelán F. Multiparity causes uncoordinated activity of pelvic- and perineal-striated muscles and urodynamic changes in rabbits. *Reprod Sci*. 2011;18(12):1246–52.
12. Castelán F, López-García K, Moreno-Pérez S, Zempoalteca R, Corona-Quintanilla DL,

Romero-Ortega MI, et al. Multiparity affects conduction properties of pelvic floor nerves in rabbits. *Brain Behav.* 2018;8(10):1–9.

13. Martínez-Gómez M, Lucio RA, Carro M, Pacheco P, Hudson R. Striated muscles and scent glands associated with the vaginal tract of the rabbit. *Anat Rec.* 1997;247(4):486–95.
14. Li X, Liao LM, Chen GQ, Wang ZX, Lu TJ, Deng H, et al. Tibial nerve stimulation to inhibit the micturition reflex by an implantable wireless driver microstimulator in cats. *Med (United States).* 2016;95(33):31–4.
15. Li X, Liao L, Chen G, Wang Z, Deng H. Combination of sacral nerve and tibial nerve stimulation for treatment of bladder overactivity in pigs. *Int Urol Nephrol.* 2017 Jul 18;49(7):1139–45.
16. Langdale CL, Hokanson JA, Sridhar A, Grill WM. Stimulation of the pelvic nerve increases bladder capacity in the prostaglandin E₂ rat model of overactive bladder. *Am J Physiol Physiol.* 2017;313(3):F657–65.

Deciphering and hacking the pelvic floor code: What have we learned from the women of Tlaxcala?

MD, MS. Diego Arturo Zacapa Lopez. PhD. student at the Tlaxcala Center for Behavioral Biology and professor at the Medical School, Faculty of Health Sciences. Autonomous University of Tlaxcala.

PhD. Francisco Castelán. Research Professor at the Tlaxcala Center for Behavioral Biology, peripheral unit of the Biomedical Research Institute. National Autonomous University of Mexico. Member of the National System of Researchers Level 2.

PhD. Margarita Martínez Gómez. Research Professor and Coordinator of the Tlaxcala Center for Behavioral Biology, peripheral unit of the Biomedical Research Institute. National Autonomous University of Mexico. Member of the National System of Researchers Level 3.

In a similar way to the impetus of a philologist who studies written texts to understand in the truest sense what he or the authors originally wanted to express. Scientists and academics of the pelvic floor study make important efforts to understand the mechanisms that underlie a little studied body region that actually is relevant for reproduction and excretion functions. However, deciphering clues that the pelvic floor guards is not the only objective.

Scientist innate curiosity demand us to go beyond deciphering the code, just as a computer scientist would do when to understand the real meaning and potential of a programming language goes to the programing roots. In the same way, we want to understand the code of the pelvic floor and gradually try to correct, rewrite and innovate on tools that help us to develop new treatment for patients with some kind of pelvic floor dysfunction.

We pretend to take control of natural mechanism that domain physiology of those structures in order to maintain them healthy cure or when they are in fact compromised, stop the damage.

Pelvis structure is composed of three pairs of flat bones that make up the hip: ilium, ischium and pubis. All of them are merged by synarthrosis junctions conforming to the main structure that elastic and contractible pelvic floor elements are attached (Netter, 2019). For humans, the main contractible component of the pelvic floor is the *levator ani* (LA) muscle that is formed by the puborectalis, pubococcygeus (Pc), iliococcygeus (Ic) and coccygeus muscles (Bharucha, 2006). This group of muscles form the deeper layer of pelvic floor in close contact with pelvic organs.

Over LA muscle, are located two pairs of bilateral and superficial muscles: bulbospongiosus (Bs) and ischiocavernosus (Isc) muscles (Netter, 2019), that are generic called the perineal muscles because the close relation with the homonym region.

Last but not least, there are located bilateral ligamentous working as connective structures, such as the sacrotuberal and ischiotuberal, a medial anococcygeal ligament as well as the internal and external fasciae of the muscles described above.

In summary and accordance with previously commented, pelvic floor acts as a base to maintain suspended pelvic organs that are located into the pelvic space as the same way that a hammock (DeLancey, 1994). This function is quite relevant in humans and bipedal species because the mechanical effect of gravity over these body structures.

The pelvic floor also actively participates in functions of continence and expulsion of the urinary and digestive apparatus, and is an important component in sexual and reproductive behavior in both genders, but perhaps markedly more important in women. Let us see why.

Processes that integrate the life cycle of women such as reproduction and aging generate physiological changes in the substrates of the pelvic floor (Carvalho Pereira et al., 2014; Milsom & Gyhagen, 2019). These two events cause morpho-physiological changes in the neuromuscular complex (nerves, neuromuscular units and striated muscles) of the pelvic floor.

So, as a consequence, it is possible that for each obstetric event, including the moment of delivery, is promoted or evidenced the pelvic floor alterations (Alperin, Cook, Tuttle, Esparza, & Lieber, 2016), aggravated by senescence and manifested primarily as pelvic organ prolapse and dysfunction of the genitourinary and digestive tracts (Alperin et al., 2016; Chen & Ng, 2007)

In the case of genitourinary alterations, stand out those that intervene in continence and urinary expulsion, resulting in incontinence or urinary retention. Urinary incontinence (UI) can be any of three variables: stress (SUI), urge (UUI) or mixed (Abrams et al., 2003) while alterations in the contractile dynamics of the bladder can cause alterations such as bladder hypoactivity or hyperactivity (Chancellor, 2014).

Understand the normal function and the role that each pelvic floor structure plays is important to develop specific therapeutic strategies for each type of alteration.

However, just like in computer programming, understanding the source code for the pelvic floor poses several challenges, from the simplest such as having up-to-date and reliable epidemiological data, to more complex ones, such to establish animal models that allow us to study the alterations of the pelvic floor as they are shown in human beings.

Talking about the pelvic floor involves talking about the genitourinary system, and talking about this type of issues with patients is even today a communication challenge that must be considered when establishing a good physician-patient relationship.

Women who suffer from any of the aforementioned disorders must first overcome the taboo stigma that has been given to everything related to sexuality and genitalia. Even more evident is when considering that the most affected population is between 60 and 70 years of age.(Hannestad, Rortveit, Sandvik, & Hunskaar, 2000; Komesu, Schrader, Ketai, Rogers, & Dunivan, 2016; Milsom & Gyhagen, 2019), a generation that in Mexico includes a large number of the population with little or no sexual education, aggravated by the socioeconomic status to which they belong, mostly marginalized population (De Los Santos & Reyes, 2017)

Once this first obstacle is overcome, a second comes. The underestimation of the prevalence of these pathological conditions as a result of the lack of interest on the part of the patient in considering that these conditions are “normal” situations in the life cycle of women, or because of shame (Milsom & Gyhagen, 2019; Minassian, Yan, Lichtenfeld, Sun, & Stewart, 2012) related to the previously mentioned stigma.

In this same sense, workers in the health area must carry out an interrogation directed towards this type of diseases. Although in many cases, they are not considered as conditions that put the lives of patients at risk, pelvic floor disorders such as UI constitute an important medical and social problem. That is because it significantly impairs the quality of life of patients, limits their autonomy and reduces their self-esteem (Hunskaar, Lose, Sykes, & Voss, 2004; Magaña et al., 2007; Milsom & Gyhagen, 2019; Minassian et al., 2012),

A third challenge in the study of the pelvic floor lies in the implicit fact that the ultimate object of study is the human and therefore it is not common for invasive studies to be carried out. For these reasons, the use of animal models that help us to know the alterations of the urinary system is relevant. As well as the possibility of exploring and innovating in the field of biomedicine for the development of new therapeutic techniques that are less invasive, more comfortable to follow and use, and that present the least amount of side effects at the micro and macroscopic level in patients.

The study of UI in non-human models

Basic research and technological development based on animal models have offered positive results in several fields of therapeutics, from conservative behavioral treatments and muscle rehabilitation exercises, through pharmacological and surgical treatments to the new implantable electronic devices (Norton & Brubaker, 2006). For example, the NuStim a wireless electrode. Scientist implanted it in the skeletal muscle of the triceps in the dog model. Then were evaluated the histological changes caused by the stimulation on the muscle tissue. Although electrostimulation did not produce hypertrophy of skeletal muscle fibers compared to contralateral muscle fibers that did not receive stimulation. The wireless

electrode remained for up to three months, with no evidence of necrosis or tissue injury (Huang et al., 2017).

In other study, they use a more sophisticated device called MicroCuff microelectrode. They implanted the electrode directly over the pelvic nerve in rats that received prostaglandin E2 (PGE2) into the bladder to simulate bladder overactivity and decrease bladder capacity. The results showed that pelvic nerve stimulation increased the electromyographic activity of the external sphincter of the urethra. As a result, the bladder capacity of the animals increased, returning to values prior to PGE2 infusion (Langdale, Hokanson, Sridhar, & Grill, 2017).

Other devices have been tested on nerve structures distant from the target organ, for example, those implanted in the tibial nerve such as the IPG (Moazzam, Duke, & Yoo, 2016) in cats and the eTENS (Kovacevic, Lin, & Yoo, 2017) in rats. With the first, colleagues found an increase in bladder capacity when the tibial nerve was stimulated with frequencies $\geq 6\text{Hz}$ and conversely, they showed that when they stimulated with frequencies of 2Hz detrusor muscle contracts. In the second case, scientist stimulate tibial nerve to test its efficacy in an overactive bladder model. The results indicate that the detrusor activation threshold decreased 2.6-fold when the nerve was stimulated, compared to the control group.

Autors	Device implanted	Used model	Implantation site
Huan et al. 2017	NuStim	Dog	Triceps muscle
Langdale et al. 2017	MicroCuff	Rat	Pelvic nerve
Moazzam et al. 2016	IPG	Cat	Tibial nerve
Kovacevic et al. 2017	eTENS	Rat	Tibial nerve
Brink et al. 2015	InterStim	Sheep	Sacral plexus
Li et al. 2017	PINS	Guinea Pig	Sacral plexus and tiabial nerve
Kent & Grill 2013	FINE	Informatic model	Pudental nerve

Table 1. Types of implantable devices in animal and computer models.

On the other hand, studies in larger animals such as sheep have been carried out using a device already approved by the FDA for treatment in humans, implantation of the InterStim M3889 at the sacral level show an increase of up to 60% in bladder capacity compared to the unstimulated control group (Brink, Zimmerman, Mattson, Su, & Nelson, 2015).

Another study in guinea pigs combined the sacral and tibial implant, with the PINS from Pins Medical to alter bladder function, the bladders were infused with acetic acid; during the infusion, the sacral roots and the tibial nerve were stimulated and an increase in bladder capacity was found (Li, Liao, Chen, Wang, & Deng, 2017).

Simulations of implants such as the FINE or Cuff electrodes (Kent & Grill, 2013) have even been carried out in the human pudendal nerve, to compare the level of pelvic nerve response in two electrode arrangements. For the first, they surrounded the entire perimeter of the nerve and for the other they compressed the nerve between two faces of the electrode as a sandwich. The results indicate that the largest number of nerve fascicles is stimulated with the circular arrangement that surrounds the perimeter of the nerve.

All the results mentioned above exemplify the enormous opportunities that the use of animal models can offer us for the study of pelvic floor disorders. However, as logic indicates, the choice of the type of animal model depends on the specific questions and objectives to be answered.

In the particular case of the study of the muscular components of the pelvic floor, the use of rodent models is not very useful since in these the perineal musculature (Bs and Isc) is vestigial in the female, coupled with the technical difficulty involved in working with small-sized structures. In other hand medium-sized animals such as dogs or pigs, require special

conditions of care and handling, they are also more expensive to maintain and due to the emotional bond that we have formed with dogs, they are not models that are used on a regular basis.

In the case of non-human hominids such as squirrel monkeys, they are perhaps the most similar to humans in relation to the anatomical structure of the pelvis and its neuromuscular components (Kramer et al., 2006) but its management and maintenance is even more complicated.

The female rabbit as a model in pelvic floor studies

Our work group has acquired considerable experience in the use of models based on the domestic rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). This animal is an appropriate option to use, for several reasons. First is that many functional similarities have been demonstrated between the pelvic floor muscles (PFM) of the domestic rabbit and humans (Cruz, Corona-Quintanilla, Juárez, & Martínez-Gómez, 2010). Specifically, the pelvic and perineal muscles activated in a coordinated manner during the urination process, a fact that is reminiscent of what happens in human beings. That has made it possible to study the physiology of the striated muscles and their participation in the micturition process (Corona-Quintanilla, Castelán, Fajardo, Manzo, & Martínez-Gómez, 2009; Corona-Quintanilla, Zempoalteca, Arteaga, Castelán, & Martínez-Gómez, 2014).

The striated muscles of the nulliparous rabbit exhibit an asynchronous temporal pattern of activity. Pc activated during storage and inactivated during urine excretion. Isc is activated at the end of storage and during urine expulsion, while Be is activated only in the urine expulsion phase (Corona-Quintanilla et al., 2009, 2014).

In addition, because they are small animals, handling and maintenance is relatively simple to perform, and through the studies carried out in our research center, we have obtained a great amount of information about the innervation and functional mechanisms of the PFM. For example, it is known that the innervation of the pelvic muscles is given by the nerves that emerge from sacral segments three (S3) and four (S4). Two branches of spinal nerve S3 anastomose with branches of spinal nerve S4; From these anastomotic branches arise the nerves that branch caudally and are distributed in the fibers of the Ic and Pc muscles (together: *Levator ani* muscle) (Cruz et al., 2010).

Regarding the perineal muscles, the Bs is innervated by its homonymous nerve (bulbospongiosus nerve, nBs), a branch of the clitoral nerve (nCl). In turn, a branch of the pudendal nerve (nPd), called the ischiocavernosus nerve (nIsc) innervate the homonym muscle. The nCl and the nBs are branches of the lumbosacral plexus (Cruz et al., 2017; Cruz, Hudson, Pacheco, Lucio, & Martínez-Gómez, 2002).

Alteration in the temporal pattern of activity of any muscle involved in some of two phases of micturition has been shown to modify urodynamic parameters, i.e. it increases the threshold volume, the residual volume and the duration of the expulsion phase, and decreases the maximum pressure and the efficiency of the expulsion phase (Corona-Quintanilla et al., 2009).

Finally our colleagues showed that factors such as multiparity cause changes in the contractile properties of the rabbit pelvic muscles (López-Juárez et al., 2017) and lack of coordination of the activity of the pelvic and perineal striated muscles, which in turn translates into alterations in urodynamic parameters (Martínez-Gómez et al., 2011).

These data support the use of the domestic rabbit as an animal model for the study of the PFM, its alterations and its possible treatments (Gill, Moore, & Damaser, 2010).

Hacking the pelvic floor: the neurostimulation

As previously mentioned, UI therapy using electrical stimulation has been tested in animal models and in humans, however nowadays the most specific options are based on the stimulation of nerve trunks that control the motility of various PFM at a time (Groen, Amiel, & Bosch, 2005; Scheepens, Van Koevinge, De Bie, Weil, & Van Kerrebroeck, 2002). This condition evidences three important facts in the treatment of UI. First one, there are no standardized surgical techniques for the implantation of devices specifically in the motor nerves of any of the muscular components of the pelvic floor. This situation derives from the anatomical complexity of the pelvic cavity and the lack of description of the terminal nerve branches for each muscle, especially in humans. Secondly, the devices implanted in humans for the treatment of UUI and fecal incontinence have relatively large dimensions. This situation complicates the placement and safe accommodation of these devices without the risk of migration of the implantation site. In addition, despite improvement in the development of batteries, even today there are no viable options for devices with a long useful life or with the possibility of being recharged without re-surgical interventions (Bazaka & Jacob, 2012). Finally, less invasive treatments such as transvaginal or percutaneous stimulation have not shown long-term improvement in the reduction of UI symptoms (Brubaker, Benson, Bent, Clark, & Shott, 1997; Castellani et al., 2015). We are being carried out some studies to address the points described above and thereby improve the weaknesses of implantable devices for the treatment of SUI and possibly UUI as well. These types of efforts represent the possibility of establishing therapies specific to individual components

of the pelvic floor that support patients with SUI to achieve long-term improvement of UI symptoms. We need develop more studies to now about the long-term safety in the accommodation of this type of material, as well as tests in larger animal models, we do not neglect the importance of proposing the use of electronic and surgical technologies as alternative therapies for the UI.

Lessons from women of Tlaxcala

As an active response to before mentioned, at the Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta (CTBC), we have been developed care programs for women through the creation of the Unidad de Atención Integral a la Mujer (UAIM). The main objective is to help in improving the general quality of life of women suffering from some type of metabolic disease or derived from old age and multiparity condition. We know that the increase in life expectancy and the decrease in fertility have an effect of the roles and activities of women, which affects the relationship of the aging process. For this reason have this space helps women to have a support network, where they can be heard, exchange information on the aspects they consider important for their physical and mental health, receive guidance and have the opportunity to create a community space that cares about their environment. As an example of these, research groups of CTBC have investigated the relationship of thyroid hormones with metabolic diseases, cardiovascular risk and nutritional status (Luna-Vazquez et al., 2014). As well as the presence of UI in groups of vulnerable women and that are not known with this disease (Cuevas-Romero et al., 2017), this evidence that even when UI symptoms are not reported as a health problem, women who suffer from it express when there is a directionality in the specific search for this type of alteration. All of the above contributes to increasing the

information obtained from our work groups on such heterogeneous women, giving us a general overview of the epidemiological behavior of UI and pelvic floor disorders.

In this sense, the social commitment of the CTBC through the UAIM and all the research groups that comprise it carry out frontier studies that aim to contribute to increase information and scientific evidence that will ultimately be useful for the application to vulnerable social groups, either for socioeconomic reasons or due to deficiencies in their health status.

Year	Beneficiaries	Consolidated group
2017	22	15
2018	28	20
2019	38	85
2020	17	80
2021	24	60
2022	20	57*

Table 2. Activities carried out in the UAIM since its creation and the social impact manifested in the number of beneficiaries. *Consolidated group.

Conclusions

It is evident that much information is still needed that allows researchers to have a script with the complete code of the pelvic floor, however scientists still doing basic and applied science research aimed at achieving this purpose. It is very important to follow up on the animal models used for research in this area, knowing that there is no perfect animal model, however emphasizing that each model provides special conditions that allow us to transfer our findings to human knowledge. Plus with the logical advantages of using smaller animals and with the reduction of costs in the development of the experiments. Thanks to the above, we now have a good amount of information about pelvic floor that greatly helps us to implement this knowledge in a more social and, of course, human context. One of the closest examples is

the foundation and management of the UAIM, which allows us to share scientific knowledge with the members of this program, with very encouraging results that encourage us to continue working to improve whole health conditions of our patients. That is why we continue in the quest to crack the pelvic floor code to apply our technical skills in the service of our society and our planet.

Perspectives

In order to transfer the knowledge that we have generated in recent years about the pelvic floor in domestic rabbit animal model, our northern colleagues have been started studies on surgical techniques in the sheep model. This transition aims to take the characteristics of the pelvic floor anatomy of this animal that is anatomical and physiological very similar to humans. In addition, we will carry out electrostimulation studies with a new generation device that increase their electronic capabilities to make this task more efficient and simpler. We do not lose sight the fact that this type of research joins the social commitment of the CTBC through the UAIM. All the research groups of our center carry out frontier studies that aim to contribute to generate information and scientific evidence that ultimately, it will be useful for the application to vulnerable social groups, either for socioeconomic reasons or due to deficiencies in their health status.

- Abrams, P., Cardozo, L., Fall, M., Griffiths, D., Rosier, P., Ulmsten, U., ... Wein, A. (2003). The standarization of terminology in lower urinary tract function: Report from the standardisation sub-committee of the International Continence Society. *Urology*, *61*(1), 37–49. [https://doi.org/10.1016/S0090-4295\(02\)02243-4](https://doi.org/10.1016/S0090-4295(02)02243-4)
- Alperin, M., Cook, M., Tuttle, L. J., Esparza, M. C., & Lieber, R. L. (2016). Impact of vaginal parity and aging on the architectural design of pelvic floor muscles. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, *215*(3), 312.e1-312.e9. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2016.02.033>
- Bazaka, K., & Jacob, M. V. (2012). Implantable devices: Issues and challenges. In *Electronics (Switzerland)* (Vol. 2). <https://doi.org/10.3390/electronics2010001>
- Bharucha, A. E. (2006). Pelvic floor: Anatomy and function. *Neurogastroenterology and Motility*, *18*(7), 507–519. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2982.2006.00803.x>
- Brink, T. S., Zimmerman, P. L., Mattson, M. A., Su, X., & Nelson, D. E. (2015). A Chronic, Conscious Large Animal Platform to Quantify Therapeutic Effects of Sacral Neuromodulation on Bladder Function. *Journal of Urology*, *194*(1), 252–258. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2015.01.109>
- Brubaker, L., Benson, J. T., Bent, A., Clark, A., & Shott, S. (1997). Transvaginal electrical stimulation for female urinary incontinence. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, *177*(3), 536–540. [https://doi.org/10.1016/S0002-9378\(97\)70142-X](https://doi.org/10.1016/S0002-9378(97)70142-X)
- Carvalho Pereira, L., Botelho, S., Marques, J., Adami, D. B., Alves, F. K., Palma, P., ... Riccetto, C. (2014). Electromyographic pelvic floor activity: Is there impact during the female life cycle? *Neurourology and Urodynamics*, *35*(2), 230–234. <https://doi.org/10.1002/nau.22703>
- Castellani, D., Saldutto, P., Galica, V., Pace, G., Biferi, D., Paradiso Galatioto, G., & Vicentini, C. (2015). Low-Dose Intravaginal Estriol and Pelvic Floor Rehabilitation in Post-Menopausal Stress Urinary Incontinence. *Urologia Internationalis*, *95*(4), 417–421. <https://doi.org/10.1159/000381989>
- Chancellor, M. B. (2014). The overactive bladder progression to underactive bladder hypothesis. *International Urology and Nephrology*, *46*(1). <https://doi.org/10.1007/s11255-014-0778-y>
- Chen, G., & Ng, S. (2007). *Functional and Structural Changes of the Pelvic Floor in Ageing Women*. *1*(3), 81–84.
- Corona-Quintanilla, D. L., Castelán, F., Fajardo, V., Manzo, J., & Martínez-Gómez, M. (2009). Temporal Coordination of Pelvic and Perineal Striated Muscle Activity During Micturition in Female Rabbits. *Journal of Urology*, *181*(3), 1452–1458. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2008.10.103>
- Corona-Quintanilla, D. L., Zempoalteca, R., Arteaga, L., Castelán, F., & Martínez-Gómez, M. (2014). The role of pelvic and perineal striated muscles in urethral function during micturition in female rabbits. *Neurourology and Urodynamics*, *33*(4), 455–460. <https://doi.org/10.1002/nau.22416>
- Cruz, Y., Corona-Quintanilla, D. L., Juárez, M., & Martínez-Gómez, M. (2010). Características anatómicas y fisiológicas de los músculos pélvicos en la coneja doméstica (*Oryctolagus cuniculus*). *Veterinaria Mexico*, *41*(4), 263–274.
- Cruz, Y., Hernández-Plata, I., Lucio, R. A., Zempoalteca, R., Castelán, F., & Martínez-Gómez, M. (2017). Anatomical organization and somatic axonal components of the lumbosacral nerves in female rabbits. *Neurourology and Urodynamics*, *36*(7), 1749–1756. <https://doi.org/10.1002/nau.23209>

- Cruz, Y., Hudson, R., Pacheco, P., Lucio, R. A., & Martínez-Gómez, M. (2002). Anatomical and physiological characteristics of perineal muscles in the female rabbit. *Physiology and Behavior*, *75*(1), 33–40.
- Cuevas-Romero, E., Sánchez-Cardiel, A., Zamora-Gallegos, A. M., Cruz-Lumbreras, R., Corona-Quintanilla, D. L., Castelán, F., & Martínez-Gómez, M. (2017). Moderate-to-high normal levels of thyrotropin is a risk factor for urinary incontinence and an unsuitable quality of life in women over 65 years. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, *44*(October 2016), 86–92. <https://doi.org/10.1111/1440-1681.12788>
- De Los Santos, P. V., & Reyes, D. de J. (2017). Política de salud sexual y reproductiva para adultos mayores en México y Colombia. *Revista Perspectivas Sociales*, *19*(2), 1–29.
- DeLancey, J. O. L. (1994). Structural support of the urethra as it relates to stress urinary incontinence: The hammock hypothesis. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, *170*(6), 1713–1723. [https://doi.org/10.1016/S0002-9378\(94\)70346-9](https://doi.org/10.1016/S0002-9378(94)70346-9)
- Gill, B. C., Moore, C., & Damaser, M. S. (2010). Postpartum stress urinary incontinence: Lessons from animal models. *Expert Review of Obstetrics and Gynecology*, *5*(5), 567–580. <https://doi.org/10.1586/eog.10.48>
- Groen, J., Amiel, C., & Bosch, J. L. H. R. (2005). Chronic pudendal nerve neuromodulation in women with idiopathic refractory detrusor overactivity incontinence: Results of a pilot study with a novel minimally invasive implantable mini-stimulator. *Neurourology and Urodynamics*, *24*(3), 226–230. <https://doi.org/10.1002/nau.20131>
- Hannestad, Y. S., Rortveit, G., Sandvik, H., & Hunskaar, S. (2000). A community-based epidemiological survey of female urinary incontinence: the Norwegian EPINCONT study. Epidemiology of Incontinence in the County of Nord-Trøndelag. *Journal of Clinical Epidemiology*, *53*(11), 1150–1157. <https://doi.org/S0895435600002328> [pii]
- Huang, X., Zheng, K., Kohan, S., Denprasert, P. M., Liao, L., & Loeb, G. E. (2017). Neurostimulation Strategy for Stress Urinary Incontinence. *IEEE Transactions on Neural Systems and Rehabilitation Engineering*, *25*(7), 1068–1078. <https://doi.org/10.1109/TNSRE.2017.2679077>
- Hunskaar, S., Lose, G., Sykes, D., & Voss, S. (2004). The prevalence of urinary incontinence in women in four. *BJU International*, 839–861. <https://doi.org/10.1111/j.1464-410X.2004.04609.x>
- Kent, A. R., & Grill, W. M. (2013). Model-based analysis and design of nerve cuff electrodes for restoring bladder function by selective stimulation of the pudendal nerve. *Journal of Neural Engineering*, *10*(3), 036010. <https://doi.org/10.1088/1741-2560/10/3/036010>
- Komesu, Y. M., Schrader, R. M., Ketai, L. H., Rogers, R. G., & Dunivan, G. C. (2016). Epidemiology of mixed, stress, and urgency urinary incontinence in middle-aged/older women: the importance of incontinence history. *International Urogynecology Journal*, *27*(5), 763–772. <https://doi.org/10.1007/s00192-015-2888-1>
- Kovacevic, M., Lin, R., & Yoo, P. B. (2017). An enhanced method of transcutaneously stimulating the tibial nerve for the treatment of overactive bladder. *Annals of Biomedical Engineering*, *45*(11), 2605–2613. <https://doi.org/10.1007/s10439-017-1907-4>
- Kramer, L. A., Gendron, J. M., Pierce, L. M., Runge, V. M., Shull, B. L., & Kuehl, T. J. (2006). Magnetic resonance imaging of the levator ani in the squirrel monkey: A

- comparison of muscle volume between a cohort with pelvic organ prolapse and matched normals. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 194(5), 1467–1471. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2006.01.062>
- Langdale, C. L., Hokanson, J. A., Sridhar, A., & Grill, W. M. (2017). Stimulation of the pelvic nerve increases bladder capacity in the prostaglandin E 2 rat model of overactive bladder. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 313(3), F657–F665. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00116.2017>
- Li, X., Liao, L., Chen, G., Wang, Z., & Deng, H. (2017). Combination of sacral nerve and tibial nerve stimulation for treatment of bladder overactivity in pigs. *International Urology and Nephrology*, 49(7), 1139–1145. <https://doi.org/10.1007/s11255-017-1587-x>
- López-Juárez, R., Zempoalteca, R., Corona-Quintanilla, D. L., Jiménez-Estrada, I., Castelán, F., & Martínez-Gómez, M. (2017). Multiparity modifies contractile properties of pelvic muscles affecting the genesis of vaginal pressure in rabbits. *Neurourology and Urodynamics*, 9999(1), 1–9. <https://doi.org/10.1002/nau.23305>
- Luna-Vazquez, F., Cruz-Lumbreras, R., Rodríguez-Castelán, J., Cervantes-Rodríguez, M., Rodríguez-Antolín, J., Arroyo-Helguera, O., ... Cuevas, E. (2014). Association between the serum concentration of triiodothyronine with components of metabolic syndrome, cardiovascular risk, and diet in euthyroid post-menopausal women without and with metabolic syndrome. *SpringerPlus*, 3(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-3-266>
- Magaña, M. V., López, H. H. B., Poceros, G. R., Ortega, G. O., Neri Ruz, E. S., & Castrillo, C. S. (2007). Prevalencia y calidad de vida en mujeres con incontinencia urinaria. Estudio en población abierta. *Ginecología y Obstetricia de Mexico*, 75(6), 347–356.
- Martínez-Gómez, M., Mendoza-Martínez, G., Corona-Quintanilla, D. L., Fajardo, V., Rodríguez-Antolín, J., & Castelán, F. (2011). Multiparity causes uncoordinated activity of pelvic- and perineal-striated muscles and urodynamic changes in rabbits. *Reproductive Sciences*, 18(12), 1246–1252. <https://doi.org/10.1177/1933719111411728>
- Milsom, I., & Gyhagen, M. (2019). The prevalence of urinary incontinence. *Climacteric*, 22(3), 217–222. <https://doi.org/10.1080/13697137.2018.1543263>
- Minassian, V. A., Yan, X., Lichtenfeld, M. J., Sun, H., & Stewart, W. F. (2012). The iceberg of health care utilization in women with urinary incontinence. *International Urogynecology Journal*, 23(8), 1087–1093. <https://doi.org/10.1007/s00192-012-1743-x>
- Moazzam, Z., Duke, A. R., & Yoo, P. B. (2016). Inhibition and excitation of bladder function by tibial nerve stimulation using a wirelessly powered implant: An acute study in anesthetized cats. *Journal of Urology*, 196(3), 926–933. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2016.04.077>
- Netter, F. H. (2019). *Atlas of Human Anatomy* (6th ed.). Philadelphia: Elsevier Saunders.
- Norton, P., & Brubaker, L. (2006). Urinary Incontinence in Women. *Lancet*, 367, 57–67.
- Scheepens, W. A., Van Koevinge, G. A., De Bie, R. A., Weil, E. H. J., & Van Kerrebroeck, P. E. V. (2002). Long-term efficacy and safety results of the two-stage implantation technique in sacral neuromodulation. *BJU International*, 90(9), 840–845. <https://doi.org/10.1046/j.1464-410X.2002.03028.x>

Éxito terapéutico, limitaciones y eventos adversos de los tratamientos para la incontinencia urinaria femenina

Correspondence

Margarita Martínez-Gómez, PhD, Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Unidad Foránea Tlaxcala, Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Campus Rectoría, Carr. Fed. Tlaxcala-Puebla km 1.5 s/n, 90070-Tlaxcala, Tlaxcala, México.

Email: marmag@biomedicas.unam.mx

The authors report no conflict of interest.

Funding information: PAPIIT-UNAM, Grant number: INXXXXXX; CONACyT, Grant number: XXXXXXX

Paper presentation information: Preliminary findings of this study were presented in XXXXXXXXXXX

Word count:

Incontinencia urinaria

La Sociedad Internacional de Continencia (SIC) define a la incontinencia urinaria (IU) como la queja de cualquier pérdida involuntaria de orina. Los principales subtipos son: incontinencia urinaria de esfuerzo (IUE), incontinencia urinaria de urgencia (IUU) e incontinencia urinaria mixta (IUM). La IUE es la pérdida involuntaria de orina durante un esfuerzo físico e.g (actividades deportivas, toser, reír o estornudar). La IUU es la pérdida involuntaria de orina acompañada o precedida de un repentino y convincente deseo de orinar que es difícil de prorrogar. Estos dos subtipos de IU son tan comunes que coexisten como una combinación de síntomas y se denomina IUM. Las pacientes con IUM presentan pérdida involuntaria de orina asociada a un esfuerzo físico y a urgencia (1).

La IU tiene una alta prevalencia en la población adulta y es más común en mujeres comparado con los hombres, esto es debido a las diferencias anatómicas y fisiológicas del tracto genitourinario. La IU femenina se relaciona con la disfunción de la vejiga urinaria (IUU)

o al debilitamiento de los músculos del piso pélvico (MPP) (IUE). Algunos de los factores de riesgo asociados a la IU son la edad, paridad, obesidad, cirugías pélvicas o histerectomía, menopausia, enfermedad pulmonar crónica obstructiva (EPOC), enfermedades neurológicas (esclerosis múltiple o Parkinson), hipertensión arterial, diabetes, entre otros (2)(3).

La IU es un problema de salud pública importante que deteriora significativamente la calidad de vida de quien la padece y representa un alto costo para la sociedad. En Estados Unidos se ha estimado un costo anual de 82.6 mil millones de dólares durante el año 2020 (4). La prevalencia reportada en algunos países de Europa, Asia, África y América varía del 19-30% y se incrementa considerablemente con la edad (5)(6)(7). Esta patología es un problema común en mujeres de todas las edades, generalmente la IUE tiene mayor incidencia antes de la quinta década de vida y luego disminuye mientras que la prevalencia de la IUU e IUM aumenta con la edad (8). Se estima que el número de mujeres estadounidenses con IU incrementará de 18.3 a 28.4 millones para el año 2050 (9). En México existen pocos estudios sobre la prevalencia de IU y hasta el momento no se ha estimado su impacto socioeconómico. Los estudios más recientes han reportado una prevalencia del 14-50% y se han delimitado a pocas áreas geográficas del país como Jalisco, Veracruz, Tlaxcala, Hermosillo y Ciudad de México. La tasa de incidencia acumulada durante tres años fue del 22.9% y el 75% de las mujeres percibe su estado de salud de regular a muy bajo. Además, se ha reportado que los niveles moderados a altos de tirotrópina son un factor de riesgo para la IU en mujeres mayores de 65 años (10)(11)(12)(13).

La IU es considerada una condición estigmatizante para la mayoría de las poblaciones en México. Algunas mujeres se avergüenzan al hablar del tema o tienen una percepción errada de la enfermedad pues la consideran como una consecuencia natural del parto y del envejecimiento. Otras tienen un limitado conocimiento acerca de las opciones de tratamiento disponibles o una baja expectativa de su éxito terapéutico. Todos estos aspectos contribuyen a una baja tasa de solicitud de ayuda terapéutica para solucionar sus síntomas. Se calcula que más del 50% de las mujeres con síntomas de IU no busca atención médica solo el 28% lo hace y de ellas, menos de la mitad reciben un tratamiento adecuado. La IU no merece menos atención que las enfermedades crónicas debido a su alta prevalencia e impacto negativo en la calidad de vida. Por lo tanto, es importante concientizar e informar a la población en

general sobre la importancia de la detección, el diagnóstico y los tratamientos actualmente disponibles para la IU femenina (12)(14)(15).

Tratamientos para la IU femenina

La Asociación Internacional de Uroginecología (AIUG) y la SIC son consistentes en sus recomendaciones sobre los tratamientos actualmente disponibles para la IU. En México el Sistema Nacional de Salud publicó la guía de práctica clínica para la Detección, Diagnóstico y Tratamiento Inicial de Incontinencia Urinaria en la Mujer. Su objetivo es establecer un referente nacional para orientar a los profesionales de la salud en la toma de decisiones sobre el tratamiento más adecuado para cada paciente. El tratamiento que se indica depende del tipo de IU presente o de la naturaleza del síntoma predominante y la severidad de los síntomas. Generalmente se eligen modalidades de tratamiento no invasivos (cambios en el estilo de vida, entrenamiento vesical, entrenamiento de los MPP y tratamiento farmacológico) seguido de tratamientos invasivos (tratamiento quirúrgico, neuromodulación y electroestimulación de los MPP)(16). A continuación, se describen los tratamientos actualmente disponibles para la IU, su éxito terapéutico, las limitaciones y los eventos adversos reportados en ensayos clínicos internacionales y en México.

Tratamientos conservadores no farmacológicos

Las opciones terapéuticas iniciales consisten en cambios en el estilo de vida, entrenamiento vesical y entrenamiento de los músculos del piso pélvico (EMPP). Estas opciones deben discutirse con las pacientes desde el primer contacto con el especialista de la salud para elegir la opción más adecuada(17).

Los cambios en el estilo de vida son la primera opción para elegir debido a la ventaja de ser aplicables casi de forma inmediata y sin el mínimo riesgo de presentar eventos adversos. Las recomendaciones son disminución del peso corporal, el control en la cantidad de ingesta diaria de líquidos, la restricción de bebidas carbonatadas, dietéticas y con elevado contenido de cafeína y alcohol, la restricción del hábito tabáquico y la prevención y manejo de la tos crónica y constipación. Estos cambios en el estilo de vida solo pueden disminuir la severidad de la IU(18).

La obesidad es un factor de predisposición importante para un número considerable de enfermedades incluyendo la IU. El exceso de peso incrementa la presión intra-abdominal y como consecuencia genera mayor presión sobre algunos órganos como, la vejiga urinaria y la uretra causando tensión crónica y debilitamiento en las estructuras de soporte uretral. Existe una correlación positiva entre el índice de masa corporal (IMC) y el grado de IU. Las mujeres con un $IMC \geq 30 \text{ Kg/m}^2$ presentan el doble de riesgo de padecer IUE(19)(20). Se ha reportado que una disminución del 3-5% del peso corporal inicial reduce en un 47% los síntomas de IU. Actualmente existe evidencia sustentada de que la disminución del peso corporal en mujeres con sobrepeso u obesidad reduce significativamente los síntomas de IU(21).

Otra opción es el control en la cantidad de ingesta diaria de líquidos. Se recomienda beber pequeñas cantidades de líquidos (120-150 ml) por hora hasta alcanzar un máximo de 2 L al día, evitando así un alto consumo por toma a lo largo del día (1000-2400 mL). Esta opción es una estrategia principalmente para mujeres con IUU. La recomendación de evitar la ingesta de bebidas carbonatadas, dietéticas y con elevado contenido de cafeína y alcohol se basa en el efecto que tienen estos compuestos sobre la fisiología de la vejiga urinaria. Estos compuestos actúan como agentes diuréticos que pueden estimular la contracción del músculo detrusor. El consumo de bebidas azucaradas es asociado a urgencia urinaria, frecuencia diurna y nicturia. Sin embargo, no existe evidencia suficiente que demuestre que la restricción del consumo de este tipo de líquidos pueda disminuir considerablemente los episodios de IUU(22)(23).

La restricción del hábito tabáquico es otra medida recomendada para la prevención de la IU. El consumo de tabaco puede incrementar el riesgo de IU indirectamente porque las pacientes que fuman el riesgo incrementa para padecer la EPOC, la cual está estrechamente asociada con un incremento de padecer IUE de hasta dos veces comparado con las mujeres no fumadoras. Se debe exhortar a las pacientes a dejar de fumar pues cualquier condición que resulte en tos crónica aumenta la severidad de la IU(22). La prevención y el manejo de la tos crónica y la constipación es otra medida recomendada, el esfuerzo crónico involucra un incremento en la presión intra-abdominal favoreciendo la aparición de episodios de IU. Sin embargo, no hay estudios clínicos controlados y aleatorizados disponibles que demuestre su eficacia clínica(24).

El entrenamiento vesical tiene como objetivo reducir los episodios de IU e incrementar la capacidad vesical. Inicialmente se recomienda a la paciente vaciar su vejiga urinaria cada hora del día, antes de presentar pérdidas involuntarias de orina. Posteriormente debe incrementar el intervalo de tiempo entre cada vaciamiento vesical de 15-30 minutos por semana hasta alcanzar un intervalo de evacuación de 3-4 horas. Esta alternativa terapéutica se sugiere principalmente a mujeres con IUU o IUM por un mínimo de 6 semanas. El tratamiento es personalizado debido a que muchas mujeres solo pueden incrementar pocos minutos el intervalo de tiempo entre cada vaciamiento vesical y se requieren varios meses para lograr disminuir los episodios de IU. Además, es necesario el compromiso de la paciente para mantener la adherencia al tratamiento a largo plazo (16).

El *EMPP* es considerado la principal opción terapéutica para prevenir y disminuir los episodios de IUE. Su objetivo es mejorar el tono y la fuerza de los MPP a través de los ejercicios de Kegel. Inicialmente las mujeres deben ser instruidas por un fisioterapeuta especializado de como contraer y relajar correctamente los MPP antes de comenzar con dicho entrenamiento. Los protocolos de EMPP varían respecto al número de series o repeticiones, la duración de la contracción muscular y el periodo de descanso entre cada contracción. Generalmente se realizan contracciones sostenidas de los MPP con una duración de 6-12 segundos y con el doble de tiempo de descanso entre cada contracción seguido de contracciones rápidas con una duración de 1-3 segundos. El entrenamiento se realiza de 1-2 veces por semana con una duración de aproximadamente de 50 minutos cada sesión y bajo la supervisión de un fisioterapeuta durante un periodo mínimo de tres meses(25)(26). En la guía de práctica clínica de México se recomienda capacitar a la paciente, la primera indicación es que al momento del vaciamiento vesical detenga el chorro por 10 segundos y posteriormente termine vaciamiento de la vejiga urinaria. Esto con la finalidad de que la paciente reconozca la contracción de los MPP y lo pueda repetir en cualquier momento del día. Cuando la paciente reconoce la forma de hacer la contracción se manera correcta se procede a iniciar con el EMPP. Se sugiere realizar 8 contracciones 3 veces al día con una duración de 5 a 15 segundos cada una, seguido de 10 segundos de relajación(16). El éxito terapéutico del EMPP puede evaluarse después de 6-8 semanas para observar una mejoría significativa en la calidad de vida de la paciente y en los episodios de IU(27). En este sentido, las mujeres con IUE que realizan correctamente los EMPP tienen seis veces más

probabilidades de informar remisión o disminución de sus síntomas. El éxito terapéutico reportado es del 62-74% y ocasionalmente se han reportado eventos adversos como dolor, incomodidad o molestia relacionado con la terapia física(28)(29). Además de ser una terapia efectiva para mujeres con IUE también se ha propuesto como una opción terapéutica para mujeres con IUU o con síntomas de vejiga hiperactiva (VH). Se ha reportado que el EMPP disminuye hasta en un 61% los episodios de IUU contribuyendo a una mejoría en la calidad de vida de la mujer. Sin embargo, es poco claro el efecto del EMPP en los síntomas VH (30)(31).

Aunque el éxito terapéutico a corto plazo es considerado bueno para algunas mujeres, su bajo cumplimiento a largo plazo limita el beneficio terapéutico de este tratamiento. Esto depende en gran medida de la capacidad de la paciente para realizar los ejercicios correctamente, la motivación y el compromiso personal para practicarlo regularmente. Beyar y Groutz (32) reportaron que solo el 42.7% de las mujeres informaron practicarlo regularmente después de 5 años de haber finalizado el programa de EMPP supervisado, mientras que el 56.8% de las mujeres interrumpió el tratamiento por falta de eficacia. Otro estudio informo que la adherencia al tratamiento es solo del 52.4% después de 9 meses (33). Como consecuencia, se han desarrollado aplicaciones móviles como la llamada iPelvis que tiene la finalidad de instruir, guiar y motivar a la paciente a continuar con el EMPP(34). Desafortunadamente se estima que el 49% de las mujeres no logra identificar como contraer adecuadamente los MPP. Muchas mujeres contraen los músculos abdominales, glúteos y abductores como una sustitución de la contracción deseada de los MPP(27). La incapacidad de contraer los MPP se relaciona con el daño muscular y nervioso del piso pélvico que ocurre durante el parto. Se ha estimado que del 13-36% de las mujeres presenta una lesión por avulsión en los MPP afectando considerablemente su función(35). Los tratamientos conservadores no farmacológicos se pueden implementar en conjunto con otras terapias o como tratamientos independientes. Sin embargo, la principal limitación de la terapia conservadora se debe al desinterés de las pacientes por la percepción de falta de eficacia. Aproximadamente del 30-40% de las mujeres no logran un beneficio terapéutico y buscan otras opciones de tratamiento.

Tratamiento farmacológico

Los medicamentos agonistas α y β -3 adrenérgicos y anticolinérgicos son la base del tratamiento farmacológico para la IU. Estos medicamentos reducen los episodios de IU, la frecuencia urinaria, la urgencia urinaria y en menor medida nicturia(16).

IUE

Los medicamentos agonistas alfa adrenérgicos incrementan el tono del esfínter uretral, el trigono y cuello vesical. Actualmente no hay medicamentos aprobados por la Food and Drug Administration (FDA) para el tratamiento de IUE, aunque la fenilpropanolamina y pseudoefedrina se han implementado. La guía de práctica clínica de México menciona que algunos los medicamentos como la epinefrina, fenilpropanolamina y metoxamina se han utilizado para el tratamiento de IUE, pero no se recomiendan debido a los efectos secundarios que tienen sobre el sistema cardiovascular (arritmias cardiacas o hipertensión)(16). La Duloxetina es un fármaco aprobado en Europa para el tratamiento de IUE y se ha utilizado como tratamiento complementario al EMPP. Los efectos adversos informados son nauseas, boca seca, estreñimiento, fatiga, insomnio, nasofaringitis, vómito y somnolencia. Hasta el momento la duloxetina no está recomendada como tratamiento de primera línea para la IUE y sus efectos secundarios limitan su beneficio terapéutico(36)(37).

IUU

Los medicamentos agonistas beta-3 adrenérgicos promueven la relajación del músculo detrusor e incrementan la capacidad vesical. El mirabergon es el único fármaco de esta clase aprobado por la FDA y la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) para el tratamiento de IUU. El éxito terapéutico reportado en algunos ensayos clínicos controlados y aleatorizados es solo del 43.4-45.8% después de 12 meses de tratamiento(38)(39). También se ha demostrado que su administración en combinación con un medicamento anticolinérgico (solifenacina) tiene mayor eficacia en la disminución de los episodios de IUU en comparación con la monoterapia. Los eventos adversos del mirabergon son nasofaringitis, cefalea, infecciones del tracto urinario y tiende a exacerbar la hipertensión arterial(40)(41). Otra opción terapéutica son los medicamentos anticolinérgicos o antimuscarínicos que actúan inhibiendo la contracción de la vejiga urinaria. Actualmente la darifenacina, fesoterodina, oxibutinina, solifenacina, tolterodina, tropsium son el tratamiento farmacológico de primera elección para la IUU. Otro fármaco que se usa en México es la propaverina sin evidencia de diferencias clínicamente importantes(16). El éxito terapéutico de la administración de

anticolinérgicos varía del 49-80% y solo el 20% logra mantener la continencia urinaria. Durante el tratamiento es común que más del 50% de los pacientes suspende la medicación al año por falta de eficacia o intolerancia a los efectos secundarios. Los más comunes son deterioro cognitivo, pérdida de memoria, déficit de atención, boca seca, estreñimiento, visión borrosa, náuseas, cefalea, dispepsia, fatiga, piel y ojos secos, somnolencia, confusión, efectos cardiovasculares, taquicardia, retención urinaria y discinesia(42)

Por otra parte, la terapia estrogénica es controversial, aunque se ha reportado mejoría en la frecuencia urinaria, urgencia, nicturia e IUU. Los estrógenos locales por periodos cortos (1-6 meses) son más efectivos que el placebo en el tratamiento de IUU. La probabilidad de curación o mejoría es solo del 25% en mujeres con IUU(22). El anillo vaginal de estradiol (Estring®) es comercializado en México por la empresa Pfizer™. Este dispositivo puede proveer un doble efecto: funciona como un pesario que hace presión sobre el cuello de la vejiga urinaria y libera de forma local hemihidrato de estradiol. Un aspecto importante por considerar es que los estrógenos sistémicos pueden empeorar los síntomas de IU, así como la terapia combinada de estrógenos-progesterona. El mecanismo por el cual inducen o empeoran la IU no es claro, sin embargo, se ha mostrado que la terapia sistémica conduce a una reducción de colágeno periuretral e incrementa la contractibilidad de la vejiga urinaria. En general el tratamiento farmacológico no resuelve de manera satisfactoria los síntomas, y un número considerable de pacientes abandona el tratamiento por efectos secundarios indeseables, por lo que en algunos casos se eligen procedimientos quirúrgicos invasivos(16).

Tratamiento quirúrgico

El tratamiento quirúrgico es una opción terapéutica dirigida principalmente a mujeres con síntomas persistentes de IU después de que los tratamientos no invasivos no tuvieron éxito. La elección del procedimiento quirúrgico depende de la severidad de los síntomas urinarios y del tipo de IU presente(43).

IUE

Los procedimientos quirúrgicos para la IUE están diseñados para mejorar el soporte del cuello vesical y la uretra proximal. La uretropexia retrópubica (colposuspensión) y los cabestrillos son las principales opciones terapéuticas. El éxito de cada técnica es diferente y

se elige según las necesidades de cada paciente por lo que resulta difícil comparar los resultados de cada procedimiento quirúrgico(39).

La uretropexia retropúbica consiste en estabilizar el cuello vesical y la uretra proximal a través del estiramiento de tejidos hacia la cavidad pélvica detrás de la sínfisis púbica limitando la movilidad del tejido suburetral o la fascia pubocervical. Este procedimiento incluye dos técnicas: la de Burch y la de Marshall utilizando un abordaje abdominal o vaginal. Una pequeña incisión suprapúbica se realiza para fijar permanentemente suturas que soporten el ligamento de Cooper (técnica de Burch) o en el periostio púbico (técnica de Marshall Marchetti Krantz). Las candidatas para este procedimiento son para quienes se someterán a cirugía abdominal recurrente (histerectomía o corrección de prolapso de órganos pélvicos) o por aversión a los cabestrillos. Independientemente de la técnica implementada la tasa general de mejoría es del 68.9-88%. Sin embargo se asocia con un mayor riesgo de prolapso de órganos pélvicos en comparación con la cirugía de cabestrillos pero con un menor riesgo de disfunción miccional (39)(44).

Actualmentelos cabestrillos mediouretrales son el tratamiento quirúrgico más estudiado para la IUE. El procedimiento consiste en la colocación de una malla de material sintético (polipropileno) alrededor de la uretra media a través de un acceso retropúbico o transobturador. El objetivo es prevenir el descenso posterior e inferior del cuello vesical durante los incrementos de presión intra-abdominal. Una revisión sistemática de Cochrane reporto que más del 80% de las mujeres presentan una mejoría significativa en sus síntomas después de 5 años de la cirugía independientemente de la ruta de inserción de la cinta. Sin embargo, hay un número limitado de ensayos clínicos controlados y aleatorizados que proporcionen información sobre su éxito terapéutico por más de 5 años(45). Un aspecto importante por considerar es que los tratamientos quirúrgicos presentan riesgos potencialmente severos e irreversibles. Los eventos adversos más frecuentes son infecciones, hemorragias, rechazo de la malla, lesión (nerviosa, vascular o visceral), dolor pélvico, dispareunia, retención urinaria, enterocele y erosión en la vejiga urinaria, uretra o vagina. Incluso algunas mujeres pueden presentar síntomas de urgencia de *novo* después de la cirugía que es comúnmente asociado con la posición y tensión de la malla o por la introducción accidental de material quirúrgico dentro de la vejiga urinaria y uretra(46)(45).

Otra opción terapéutica es la inyección de agentes de volumen uretral que se desarrollaron principalmente para mujeres con IUE causada por deficiencia intrínseca del esfínter. La inyección de sustancias sintéticas o biológicas (perlas de carbono, hidroxiapatita de calcio, *colágeno*, ácido hialurónico, polidimetisiloxano, hidrogel de poliacrilamida y silicona) en la submucosa de la pared uretral alrededor del cuello vesical y uretra proximal tiene la finalidad de mejorar la coaptación uretral(47). La tasa de éxito global es del 48-75% y se reserva solo para mujeres que no son candidatas a procedimientos quirúrgicos invasivos o que eligieron algún otro procedimiento y desean optimizar el resultado sin requerir una intervención quirúrgica adicional. La mayoría de los ensayos clínicos evalúa su eficacia en un limitado número de pacientes y hasta el momento no se ha determinado cual es el agente más eficaz. Tampoco se ha definido el volumen óptimo inyectado en una sesión o la cantidad de sesiones de reinyección. La desventaja de esta opción terapéutica es que su eficacia se deteriora con el tiempo por lo que se requiere de múltiples inyecciones a largo plazo para mantener su efecto terapéutico. Los eventos adversos reportados son retención urinaria, dolor, hematuria, infección del tracto urinario inferior, síntomas urinarios, migración del agente de volumen uretral y en menor frecuencia la formación de pseudoabsesos y erosión uretral(48).

IUU

Los tratamientos actualmente disponibles para los síntomas persistentes de IUU son la inyección intravesical de la *onabotulinum* toxina A y la neuromodulación (NM). La *onabotulinum* toxina A actúa bloqueando la liberación presináptica de la acetilcolina inhibiendo la contractibilidad del músculo detrusor. El éxito terapéutico reportado es de aproximadamente el 65% durante un periodo de 6 a 12 meses y solo el 20% presenta resolución completa de la IUU. Los eventos adversos de este tratamiento son infección y retención urinaria que puede requerir de autocateterismo intermitente. Otro inconveniente es la necesidad de aplicar continuamente las inyecciones intravesicales cuando los síntomas aparecen nuevamente (aproximadamente 9-12 meses)(49)(50).

Neuromodulación

La NM es una terapia alternativa a las tradicionales (fisioterapéuticas, farmacológicas y quirúrgicas) cuando estas resultan ineficientes para tratar la IUU. La NM puede efectuarse

mediante la estimulación eléctrica de una raíz nerviosa sacra o de nervios periféricos (tibial y pudendo) para inhibir la contracción de la vejiga urinaria. Aunque el mecanismo de acción no es completamente comprendido su efecto parece estar relacionado con la estimulación de aferentes somáticas que modulan los reflejos espinales y supraespinales que influyen en el funcionamiento del del piso pélvico para mejorar y restaurar la micción. A largo plazo puede resultar en la plasticidad del sistema nervioso central con efectos clínicos aun después de la estimulación eléctrica. Este tratamiento ofrece procedimientos menos invasivos y reversibles en comparación a los tratamientos quirúrgicos disponibles. Dependiendo de la técnica empleada se han observado efectos duraderos a corto y mediano plazo(51)(52).

Neuromodulación sacra

La neuromodulación sacra (NMS) fue aprobada por la FDA en 1997 como un tratamiento para la IJU y posteriormente para el síndrome de urgencia-frecuencia y retención urinaria no obstructiva en 1999. Actualmente es una opción terapéutica ampliamente aceptada en la urología y es el único tipo de NM con datos clínicos a mediano plazo(53). Se estima que aproximadamente más de 250,000 pacientes con disfunción del piso pélvico han recibido este tratamiento durante los últimos 20 años. El procedimiento quirúrgico se realiza en dos etapas: la primera etapa consiste en la implantación de un electrodo cuadripolar cercano a una raíz nerviosa sacra (usualmente S3) con posterior conexión a un neuroestimulador externo para evaluar la eficacia de la estimulación durante periodo mínimo de 14 días. Los parámetros de estimulación eléctrica usualmente aplicados para este tratamiento son a una amplitud de 2V, frecuencias bajas (10-20 Hz) y una duración de pulso de 180-210 μ s (54)(55)(56). Durante esta etapa se ha reportado un éxito terapéutico del 57-80% y solo los pacientes que presentan una disminución \geq 50% en los episodios de IJU por día son candidatos a la segunda etapa. Esta última etapa consiste en la implantación de un neuroestimulador en el área subcutánea del cuadrante superior del glúteo para proporcionar la estimulación a largo plazo(57)(58). El ensayo InSite es el estudio prospectivo aleatorizado y multicéntrico más reciente que ha evaluado la eficacia y seguridad de la NMS. Durante un seguimiento de 5 años se reportó una tasa de éxito terapéutico entre el 61-77%. Al final del estudio solo el 64% de los pacientes presento una disminución significativa en los episodios de IJU por día y el 38% presento continencia urinaria. Los pacientes también reportaron una mejoría significativa en la calidad

de vida, la función sexual y en el dolor pélvico. A pesar de su eficacia, los resultados clínicos a largo plazo son escasos y aunque algunos pacientes se benefician del tratamiento durante la primera etapa no todos presentan el mismo éxito terapéutico después de la implantación del neuroestimulador(59)(60)(61). Un aspecto importante por considerar es que se ha reportado que los síntomas aparecen nuevamente después de suspender la estimulación sacra durante un periodo promedio de 11.25 días (rango 4-31) por lo que se requiere estimulación continua(62)(63).

Desde su aprobación la NMS ha presentado un importante refinamiento en algunos aspectos tecnológicos y quirúrgicos con la finalidad de evitar un procedimiento quirúrgico invasivo. Sin embargo, ha carecido de innovación tecnológica vista en otras áreas de la NM. Desde el 2006 el neuroestimulador (Interstim II®, Medtronic, Minneapolis, MN) es el único dispositivo aprobado por la FDA para su uso clínico en este tratamiento. Este dispositivo contiene una batería no recargable con una vida útil limitada de 3-5 años dependiendo de la configuración de los parámetros de estimulación. A largo plazo el remplazo frecuente de la batería incrementa los costos de atención médica y compromete el éxito terapéutico del tratamiento(54). Además, se han reportado diversos eventos adversos relacionados con el neuroestimulador como estimulación incomoda, dolor e infección en el sitio de su implantación, pérdida de eficacia y migración del electrodo. Durante 5 años el 32% de los pacientes requirió de intervenciones quirúrgicas adicionales debido a la presencia de eventos adversos o para remplazar la batería y el 13% abandono el tratamiento por pérdida de eficacia (63)(61).

Las limitaciones tecnológicas y los eventos adversos relacionados con el neuroestimulador condujeron al desarrollo del primer neuroestimulador recargable llamado Axonics®. Este dispositivo es 60% más pequeño y su batería tiene una vida útil estimada de 15 años con la finalidad de disminuir las intervenciones quirúrgicas relacionadas con el remplazo de la batería y los costos del tratamiento. En junio del 2016 obtuvo aprobación en Europa, Canadá y Australia para comenzar con las pruebas clínicas posteriores a su comercialización.(64). El estudio prospectivo multicéntrico RELAX-OAB fue diseñado para evaluar su eficacia y seguridad durante dos años. Recientemente reporto que el 71% de los pacientes presento una disminución mayor al 50% en los episodios de IUU durante la primera etapa y solo el 23% presento continencia urinaria. Sin embargo, el 21% de los pacientes reporto eventos adversos

relacionados con neuroestimulador similares al Interstim® como estimulación incomoda, dolor e infección en el sitio de su implantación y migración del electrodo. Al 4% de los pacientes le fue retirado el neuroestimulador debido a una infección o por pérdida de eficacia. Se debe enfatizar que este estudio se basa en un pequeño número de pacientes por lo que es necesario estudios a largo plazo para validar la longevidad del nuevo neuroestimulador y su impacto en los costos de atención médica(65)(66).

Aunque la NMS es un tratamiento aprobado y ampliamente aceptado en Europa y EU, en México continúa siendo una terapia novedosa y con pocos estudios clínicos a corto y largo plazo. El primer caso de NMS para el tratamiento de IU se reportó en el 2009. En este estudio se presentó el caso clínico de una mujer de 73 años con diagnóstico grave de IU. La frecuencia nocturna, los eventos con urgencia y los episodios de IU por día prácticamente desaparecieron después de dos semanas de estimulación(67). Otro estudio evaluó la eficacia de la NMS en 10 pacientes con trastornos de vaciamiento vesical. Después de seis meses se reportó una disminución mayor al 50% en la orina residual, en el número de cateterismos y en los episodios de IU por día. Lamentablemente el 70% de los pacientes reportó eventos adversos y el 40% presento pérdida temporal de la eficacia en algún momento de la terapia(68). El estudio más reciente reporto una mejoría mayor al 65% en los episodios de IU, en la frecuencia miccional, el volumen de vaciamiento y en la calidad de vida después de 6 meses de estimulación crónica. El 71% de los pacientes manifiesto eventos adversos y el 17% presento pérdida temporal de la eficacia. El éxito terapéutico reportado en estos estudios es similar a lo reportado en estudios clínicos internacionales pero su implementación en México aún es limitada y puede estar asociada a los costos de atención médica(69).

Neuromodulación del nervio tibial

El nervio tibial es una rama distal del nervio ciático que se origina en las raíces nerviosas de L4-S3. Este nervio es considerado una opción viable para la NM porque se origina de los mismos segmentos espinales que proveen suministro nervioso somático y autonómico al piso pélvico. La estimulación eléctrica del nervio tibial es un tratamiento mínimamente invasivo, de bajo costo y con pocos eventos adversos en comparación a otras formas de NM. Fue aprobada por la FDA en el año 2000 como un tratamiento para pacientes con IUU.

Actualmente la estimulación eléctrica del nervio tibial puede aplicarse de manera percutánea, transcutánea y a través de dispositivos implantados en proximidad al nervio.

La estimulación percutánea del nervio tibial (EPNT) consiste en la inserción de una aguja de acupuntura de acero inoxidable (calibre 34) de 3-5 cm cefálico al maléolo medial del tobillo cerca del nervio tibial mientras que un electrodo de superficie es puesto a tierra mediante su adhesión en el borde interno de la superficie plantar del mismo pie. Para este tipo de estimulación generalmente se utiliza un generador de pulso externo de bajo voltaje (9V) conocido como Urgent® PC (Uroplasty Inc., Minneapolis, MN). Los parámetros de estimulación eléctrica aplicados son a una amplitud máxima de 9 mA, 20 Hz y una duración de pulso de 200 μ s, cada sesión con una duración de 30 minutos. La mayoría de los protocolos de estimulación sugieren una sesión por semana durante 12 semanas seguido de sesiones menos frecuentes para mantener la eficacia del tratamiento porque los síntomas aparecen nuevamente después de periodos de tiempo variable(70). Diversos ensayos controlados, aleatorizados y multicéntricos han evaluado la eficacia y seguridad de la EPNT. Estos estudios han reportado un éxito terapéutico del 55-77% con una mejoría sostenida de los síntomas durante tres años. Los episodios de IUU por día disminuyeron significativamente y la calidad de vida mejoró notablemente desde el inicio hasta los 36 meses. Sin embargo, la mayoría de los ensayos clínicos tienen un limitado número de pacientes y un periodo corto de seguimiento que es correlacionado con la duración estándar de la terapia y que un número considerable de pacientes abandona el tratamiento(71)(72)(73). La naturaleza mínimamente invasiva sigue siendo la característica más atractiva para la elección de esta terapia, pero con bajas tasas de éxito terapéutico y la necesidad de un seguimiento frecuente que limita su beneficio terapéutico. Aproximadamente solo el 57% de los pacientes continúa con el tratamiento después de las 12 sesiones de estimulación inicial y más del 40% abandona la terapia debido a razones logísticas y eventos adversos. A largo plazo algunos pacientes abandonan el tratamiento debido a falta de interés o dificultades para asistir frecuentemente a un consultorio médico para recibir el tratamiento. Los eventos adversos reportados son hematomas, dolor, sangrado e inflamación en el sitio de estimulación y poca o ninguna mejoría(73)(74)(75). Estos aspectos han contribuido al desarrollo de procedimientos menos invasivos para la estimulación del nervio tibial. La estimulación transcutánea del nervio tibial (ETNT) es una alternativa cómoda y factible que puede ser aplicada por la paciente sin

necesidad de realizar visitas frecuentes a un consultorio médico. Los parámetros de estimulación eléctrica aplicados son a una amplitud de 15-27 mA, 10-20 Hz y una duración del pulso de 200-250 μ s, cada sesión con una duración de 20-30 minutos. Existe una gran heterogeneidad en el protocolo de estimulación, generalmente se aplica una sesión diariamente o una a dos sesiones por semana durante 12 semanas como tratamiento inicial. Sin embargo, el protocolo de estimulación a largo plazo aún no se ha estandarizado. El éxito terapéutico en algunos ensayos clínicos varía del 53-60% alcanzando una reducción $\geq 50\%$ en la frecuencia urinaria y en los episodios de IUU con resultados persistentes después de un seguimiento de 10.3 meses. La ETNT parece tener un efecto similar al obtenido durante la EPNT, pero se requieren de estudios aleatorizados, controlados y multicéntricos con periodos de seguimiento más prolongado para confirmar su eficacia terapéutica (76)(77)(78)(79).

Otra opción mínimamente invasiva para la estimulación del nervio tibial es través un neuroestimulador. El dispositivo se implanta en el tobillo cerca del nervio tibial bajo anestesia local o general. El primer dispositivo implantable para la estimulación del nervio tibial fue descrito en el año 2006. El dispositivo Urgent-SQ™ (CystoMedix Inc., Anoka, Minn, USA) consistió en una placa receptora y dos electrodos monopolares, los cuales eran activados por un generador de pulso electromagnético externo. Este dispositivo fue implantado en ocho pacientes de los cuales cinco presentaron reducción significativa en el número de episodios de IU después de 12 meses, pero solo tres pacientes continuaron usándolo durante nueve años(80)(81). Recientemente se han desarrollado nuevos dispositivos implantables para la estimulación del nervio tibial. El sistema RENOVA™ de BlueWind (Herzliya, Israel) es una de las nuevas modalidades de NM periférica. Este sistema consiste en un pequeño dispositivo en forma de cilindro que es activado inalámbricamente por una unidad de control externa. Un estudio prospectivo y multicéntrico evaluó su eficacia y seguridad durante 3 años. El número de episodios de IU y las toallas utilizadas por día disminuyeron significativamente con el tiempo, pero solo el 27.6% de los pacientes presentó continencia urinaria. A pesar de ello, el 47% de los pacientes presentó eventos adversos relacionados con el dispositivo como dolor e hinchazón en el sitio de implantación, sospecha de infección y complicaciones en la herida(82)(83). Actualmente hay otro dispositivo que se encuentra en un ensayo de viabilidad clínica para evaluar su eficacia y seguridad. El dispositivo eCoin™ (Valencia Technologies Corp., CA, USA) es un estimulador con forma

y tamaño de níquel alimentado por batería diseñado para la estimulación del nervio tibial. Este dispositivo fue implantado en 46 pacientes y el 69.6% mostró una disminución $\geq 50\%$ en los episodios de IUU después de 3 meses y solo el 20% presento continencia urinaria a los 6 meses. El éxito terapéutico de los nuevos dispositivos implantables tiene una perspectiva clínica prometedora a corto plazo, pero es necesario evaluar su viabilidad a largo plazo en términos de costo y eficacia.

En México algunos de los ensayos clínicos más recientes se han enfocado en evaluar la eficacia de la estimulación del nervio tibial a corto plazo y en un número limitado de pacientes con síntomas de VH incluyendo la IUU. Un estudio reportó que la ETNT y la darifenacina disminuyen significativamente la nicturia y los episodios de IUU después de 6 semanas de tratamiento. En la prueba de la toalla, la pérdida en gramos a las 12 semanas se redujo significativamente y al comparar ambos grupos no se observaron diferencias estadísticas (84). En el 2020 se publicó el primer ensayo clínico aleatorizado y prospectivo que comparo la eficacia de la estimulación transcutánea y percutánea del nervio tibial. Después de 6 sesiones de estimulación se reportó una disminución en la frecuencia urinaria diurna, la nicturia y en los episodios de IUU sin diferencias estadísticamente significativas al comparar ambos tratamientos. Solo una paciente presento parestesia transitoria en el miembro inferior durante las primeras tres sesiones de la estimulación percutánea(85). También se ha reportado cambios en la electromiografía de superficie de la musculatura del PP durante la EPNT cuyo efecto permanece hasta 72 horas después de suspender la estimulación. Sugiriendo que se necesitan estudios controlados, aleatorizados y prospectivos con un mayor número de pacientes para confirmar estos hallazgos(86).

Neuromodulación del nervio pudendo

El nervio pudendo se origina principalmente de las raíces nerviosas sacras (S2-S4). Este nervio contribuye en la regulación aferente de la función vesical y su estimulación eléctrica es una opción terapéutica para mujeres con IUU y retención urinaria no obstructiva(86). En el 2005 se describió un procedimiento quirúrgico por etapas similar a la NMS para estimular selectivamente al nervio pudendo a través de un abordaje isquiorectal o transglúteo. Durante la implantación del electrodo se monitorea la actividad electromiográfica del esfínter externo del ano para guiar su colocación cercana al nervio pudendo en el canal Alcock's. Los

parámetros de estimulación eléctrica generalmente aplicados para este tipo de NM son a una amplitud máxima de 1-5V o 10 mA, frecuencias bajas (5-20 Hz) y una duración de pulso de 200-210 μ s. Los pacientes que demuestran un incremento mayor al 50% el volumen vesical durante la primera contracción involuntaria del detrusor o en la capacidad cistométrica máxima son candidatos a la implantación de un neuroestimulador (87)(88).

Actualmente el número de ensayos clínicos que evalúan la eficacia y seguridad de la NM del nervio pudendo es limitado en comparación a otros tipos de NM. En el 2005 se evaluó el éxito terapéutico del primer minineuroestimulador recargable llamado Bion® (Advanced Bionics Corporation Valencia, California) específico para la estimulación crónica del nervio pudendo. En este estudio piloto solo el 36% de los pacientes respondió positivamente durante la primera etapa y de estos el 80% logro reducir el número de episodios de IUU después de 6 meses de estimulación. Los eventos adversos reportados fueron sequedad vaginal y función intestinal alterada. A pesar del beneficio terapéutico obtenido en algunos pacientes no se publicaron más estudios y el neuroestimulador nunca llego al mercado(89).

Otros ensayos clínicos han evaluado el éxito terapéutico de la estimulación crónica del nervio pudendo utilizando el neuroestimulador Interstim®. Uno de los primeros estudios publicados reporto que el 80% de los pacientes presento una disminución significativa en los episodios de IUU por día y solo 8 presentaron continencia urinaria durante la primera etapa. Después de seis meses, la evaluación urodinámica en 7 pacientes demostró un incremento significativo en la capacidad cistométrica máxima de 153.3 a 331.4 ml(88). En el mismo año se publicó el primer ensayo que comparo el éxito terapéutico de la estimulación aguda del nervio pudendo y de la raíz nerviosa sacra. Ambos tipos de estimulación disminuyeron los episodios de IUU en un 47%. Sin embargo, los pacientes mostraron una mejoría significativa en el dolor pélvico, la urgencia, la frecuencia urinaria y en la función intestinal durante la estimulación del nervio pudendo en comparación a la estimulación sacra. Al final del estudio el 79% de los pacientes eligió la estimulación del nervio pudendo y se sugirió como un tratamiento alternativo a la NMS(90). Para confirmar estos resultados se evaluó el éxito terapéutico de la estimulación del nervio pudendo durante un periodo de 24 meses en pacientes que no respondieron favorablemente a la NMS. El 78% de los pacientes reporto una reducción significativa en la frecuencia urinaria, la urgencia, el volumen expulsado y en los episodios de IUU. Demostrando que el 93% de los pacientes refractarios a la NMS respondieron

positivamente a la NM del pudendo. La migración del electrodo, la estimulación dolorosa o incomoda, infección en el sitio de implantación del neuroestimulador y múltiples intervenciones quirúrgicas debido al remplazo de la batería son algunos de los eventos adversos comúnmente reportados utilizando el neuroestimulador Interstim®. Actualmente no existe un neuroestimulador comercialmente disponible específico para la NM del nervio pudendo(91).

La NM del nervio pudendo no es una terapia de rutina y a nuestro conocimiento no hay estudios en México que reporten su éxito terapéutico. Los estudios más recientes han estimulado el nervio pudendo de manera indirecta a través de agujas de acupuntura (Suzhou Shenlong medical apparatus factory, China) colocadas en cuatro puntos sacrococcígeos. Generalmente se aplica una amplitud máxima de 25-55 mA, una frecuencia de 2-2.5 Hz y una duración de pulso de 2 milisegundos. Cada sesión con una duración de 60 minutos, tres veces por semana durante un total de tres a cuatro semanas como tratamiento inicial. En estos estudios se comparó la eficacia de la estimulación indirecta del nervio pudendo y el EMPP asistido por biorretroalimentación y estimulación transvaginal en mujeres con IUE e IUU. La estimulación indirecta del nervio pudendo indujo la contracción de los MPP y generó un cambio en la presión vaginal de 2.61 cmH₂O (intervalo de 0.7-5.9). Después de cuatro semanas de estimulación, el 85.7% de los pacientes presento una mejoría en la severidad de los síntomas de IU y en la calidad de vida en comparación con el 28.6% de los pacientes que realizo el EMPP. Solo el 48% de los pacientes que recibió estimulación del nervio pudendo reporto resolución completa de sus síntomas después de 20.3 sesiones. En general los ensayos clínicos sugirieren que la NM del nervio pudendo puede ser un tratamiento más efectivo que otras modalidades de tratamiento pero se necesitan estudios prospectivos con un mayor número de pacientes para validar su utilidad clínica como otra modalidad de tratamiento para mujeres con IUE e IUU(92)(93).

Electroestimulación de los MPP

La electroestimulación de los MPP es una opción terapéutica para la IUE y es particularmente útil en mujeres incapaces de contraer voluntariamente los MPP. Su objetivo es fortalecer a los MPP a través de una serie de contracciones musculares inducidas por su estimulación eléctrica. La amplitud de estimulación se establece a un nivel máximo tolerable por la

paciente y generalmente se aplican frecuencias altas (20-80Hz) para facilitar la contracción de los MPP e incrementar la presión de cierre uretral. La electroestimulación de los MPP se puede realizar por vía intravaginal o transcutánea.

La *estimulación intravaginal* es el tipo de estimulación más ampliamente utilizada en la práctica clínica. Actualmente existe una gran variedad de dispositivos vaginales no implantables para estimular indirectamente a los MPP. El estimulador neuromuscular InTone™ (InControl Medical, LLC) fue aprobado por la FDA en febrero del año 2012. Posteriormente se reportó que solo el 68% de las mujeres presentó una reducción mayor al 50% en los episodios de IU después de 12 semanas de estimulación intravaginal (94). Un ensayo clínico más reciente evaluó la eficacia de un nuevo neuroestimulador portátil llamado DR. Lady (Buheung, Medical, Seoul, Korea). Después de 8 semanas de estimulación se registró una mejoría significativa en la nicturia y en los episodios de IUE. Sin embargo, la estimulación intravaginal es un tratamiento invasivo con eventos adversos importantes que han conducido al desarrollo de nuevas alternativas de estimulación (95).

La *estimulación eléctrica transcutánea (TENS)* es una opción terapéutica no invasiva en comparación a la estimulación intravaginal. Pocos ensayos clínicos controlados y aleatorizados han comparado la eficacia y seguridad de ambos tratamientos en mujeres con IUE. Se ha reportado que la TENS y la estimulación intravaginal mejoran la calidad de vida, incrementan la presión generada por la contracción de los MPP (cmH₂O) (20.19% vs 18.19%) y reducen los episodios de IUE (47.29% vs 81.36%) después de 12 semanas de tratamiento con el estimulador neuromuscular Dualpex 961 (Quark Medical Products)(96). Recientemente, Dmochowski y cols. (97) compararon la eficacia y seguridad de dos estimuladores neuromusculares aprobados por la FDA. El estimulador eléctrico transcutáneo INNOVO (Atlantic Therapeutics, Galway, Ireland) y el estimulador intravaginal iTouch Sure (TensCare Ltd, Epsom, Surrey, UK) ambos mejoraron la calidad de vida y disminuyeron los episodios de IUE (41.61% vs 48.46%) después de 12 semanas de tratamiento sin diferencias estadísticamente significativas entre los dos tipos de estimuladores. La estimulación intravaginal fue el único tratamiento que incrementó la fuerza contráctil de los MPP. El 49.4% de las mujeres que recibieron TENS y el 57.3% que recibieron estimulación intravaginal reportaron eventos adversos relacionados al estimulador neuromuscular. Los eventos adversos más comunes en la TENS fue malestar o incomodidad del dispositivo, dolor

e irritación de la piel. Las mujeres que recibieron estimulación intravaginal reportaron molestia, infección urinaria y vaginal y dolor. Solo el 3.4% de las mujeres que recibieron TENS y el 4.4% que recibió estimulación intravaginal abandono el tratamiento.

En junio de 1998, la *estimulación magnética* fue aprobada por la FDA como un tratamiento seguro y no invasivo para la IU con eventos adversos mínimos en comparación a la estimulación intravaginal y transcutánea. Uno de los estimuladores comercialmente disponible es la silla magnética QRS-1010 PelvicCenter (QRS International, Ruggell, Liechtenstein) la cual genera un campo electromagnético que conduce a la estimulación nerviosa y muscular del piso pélvico(98). Algunos ensayos clínicos han reportado un éxito terapéutico del 60-70% disminuyendo los episodios de IUE, mejorando la fuerza contráctil y la función de los MPP. Cerca del 11.66% de las mujeres abandono el tratamiento y solo el 5.3% presento eventos adversos relacionados a la estimulación magnética como dolor en los músculos de los glúteos y la cadera(99)(100).

Conclusión

Tabla 1. Estrategias de automanejo para la incontinencia urinaria			
Factor de riesgo	Modificación	Tipo de incontinencia	Nivel de evidencia
Patrón de micción	Micción cronometrada y doble micción	Todos los tipos	Nivel II
Tabaquismo	Cesación	IUE e IUU	Nivel III
Ingesta de café	Reducción en ingesta	IUU	Nivel III
Ingesta de líquidos	Limitar ingesta en exceso	Todos los tipos	Nivel III
Obesidad	Reducción de peso	IUE	Nivel Ib
Constipación	Mejorar defecación	Todos los tipos	Nivel III
Constipación	Mejorar defecación	Todos los tipos	Nivel III

Modificado de Parker, W. P., & Griebeling, T. L. (2015). Nonsurgical Treatment of Urinary Incontinence in Elderly Women. *Clinics in Geriatric Medicine*, 31(4), 471–485. <https://doi.org/10.1016/j.cger.2015.07.003>

Tabla 2. Fármacos que pueden contribuir a la incontinencia urinaria.		
Fármaco	Efecto	Resultado potencial
Alcohol	Poliuria y sedación	Incontinencia funcional, urgencia
Agonistas α-adrenérgicos	Incremento del tono del cuello vesical	Retención urinaria / incontinencia por rebosamiento
Antagonistas α-adrenérgicos	Disminución del tono del esfínter uretral	Incontinencia urinaria de esfuerzo
Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECAs)	Tos irritativa	Incontinencia urinaria de esfuerzo
Anticolinérgicos (antidepresivos tricíclicos, antihistamínicos relajantes musculares, antipsicóticos)	Relajamiento del detrusor	Retención urinaria / incontinencia por rebosamiento
Antiparkisónicos	Estimulación colinérgica	Urgencia miccional / Incontinencia urinaria de urgencia
Agonistas β-adrenérgicos	Relajamiento del detrusor	Retención urinaria / incontinencia por rebosamiento
Metilxantinas (Cafeína)	Estimula la contracción del detrusor	Urgencia miccional / Incontinencia urinaria de urgencia
Bloqueadores de canales de calcio	Inhibición de la contracción del detrusor	Retención urinaria / incontinencia por rebosamiento
Diuréticos	Incremento de la diuresis con poliuria	Incontinencia funcional, urgencia
Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs)	Incrementa la retención de líquidos	Enuresis
Sedantes	Disminución del estado de alerta	Incontinencia funcional

Modificado de Parker, W. P., & Griebing, T. L. (2015). Nonsurgical Treatment of Urinary Incontinence in Elderly Women. *Clinics in Geriatric Medicine*, 31(4), 471–485. <https://doi.org/10.1016/j.cger.2015.07.003>

Bibliografía

1. P. Abrams , K.E. Andersson, L. Birder, L. Brubaker, L. Cardozo, C. Chapple, A. Cottenden, W. Davila, D. de Ridder, R. Dmochowski, M. Drake, C. DuBeau, C. Fry, P. Hanno, J. Hay Smith SH, G. Hosker, C. Kelleher, H. Koelbl, S. Khoury,* R. Madoff, I. Milsom, K. Moore, D. Newman, V. Nitti, C. Norton, I. Nygaard, C. Payne, A. Smith, D. Staskin, S. Tekgul, J. Thuroff, A. Tubaro, D. Vodusek, A. Wein and JJW and the M of the C. Fourth International Consultation on Incontinence Recommendations of the International Scientific Committee: Evaluation and Treatment of Urinary Incontinence, Pelvic Organ Prolapse, and Fecal Incontinence. *Neurourol Urodyn*. 2015;240(December 2009):213–40.
2. Aoki Y, Brown HW, Brubaker L, Cornu JN, Daly JO, Cartwright R. Urinary incontinence in women. *Nat Rev Dis Prim*. 2017;3.
3. Mckellar K, Abraham N. Prevalence, risk factors, and treatment for women with stress urinary incontinence in a racially and ethnically diverse population. *Neurourol Urodyn*. 2019;38(3):934–40.

4. Coyne KS, Wein A, Nicholson S, Kvasz M, Chen CI, Milsom I. Economic burden of urgency urinary incontinence in the United States: A systematic review. *J Manag Care Pharm.* 2014;20(2):130–40.
5. Ebbesen MH, Hunskaar S, Rortveit G, Hannestad YS. art%3A10.1186%2F1471-2490-13-27. 2013;
6. Legendre G, Fritel X, Panjo H, Zins M, Ringa V. Incidence and remission of stress, urge, and mixed urinary incontinence in midlife and older women: A longitudinal cohort study. *Neurourol Urodyn.* 2020;39(2):650–7.
7. Mostafaei H, Sadeghi-Bazargani H, Hajebrahimi S, Salehi-Pourmehr H, Ghojazadeh M, Onur R, et al. Prevalence of female urinary incontinence in the developing world: A systematic review and meta-analysis—A Report from the Developing World Committee of the International Continence Society and Iranian Research Center for Evidence Based Medicine. *Neurourol Urodyn.* 2020;39(4):1063–86.
8. Minassian VA, Hagan KA, Ereksion E, Austin AM, Carmichael D, Bynum JPW, et al. The natural history of urinary incontinence subtypes in the Nurses' Health Studies. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 2020;222(2):163.e1-163.e8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2019.08.023>
9. Wu JM, Hundley AF, Fulton RG, Myers ER. Forecasting the prevalence of pelvic floor disorders in U.S. women: 2010 to 2050. *Obstet Gynecol.* 2009;114(6):1278–83.
10. Townsend MK, Lajous M, Medina-Campos RH, Catzin-Kuhlmann A, López-Ridaura R, Rice MS. Risk factors for urinary incontinence among postmenopausal Mexican women. *Int Urogynecol J.* 2017;28(5):769–76.
11. Cuevas-Romero E, Sánchez-Cardiel A, Zamora-Gallegos AM, Cruz-Lumbreras R, Corona-Quintanilla DL, Castelán F, et al. Moderate-to-high normal levels of thyrotropin is a risk factor for urinary incontinence and an unsuitable quality of life in women over 65 years. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2017;44(May):86–92.
12. García-Pérez H, Harlow SD, Denman C. The effect of pelvic pain and urinary incontinence on women's self-rated health in northern Mexico. *Int Urogynecol J.* 2018;29(2):243–50.
13. Giraldo-Rodríguez L, Agudelo-Botero M, Mino-León D, Álvarez-Cisneros T. Epidemiology, progression, and predictive factors of urinary incontinence in older community-dwelling Mexican adults: Longitudinal data from the Mexican Health and Aging Study. *Neurourol Urodyn.* 2019;38(7):1932–43.
14. Cruz-Ruiz J, Farrera-González V, Ransom-Rodríguez A, Avalos-Jiménez JC, Landa-Soler M, González-Serrano A, et al. Prevalence of overactive bladder in Mexico City. Results of a preliminary analysis. *Rev Mex Urol.* 2018;78(3):189–96.
15. Mallett VT, Jezari AM, Carrillo T, Sanchez S, Mulla ZD. Barriers to seeking care for urinary incontinence in Mexican American women. *Int Urogynecol J.* 2018;29(2):235–41.
16. Tratamiento D. GPC incontinencia urinaria. 2009;

17. Bo K, Frawley HC, Haylen BT, Abramov Y, Almeida FG, Berghmans B, et al. An International Urogynecological Association (IUGA)/International Continence Society (ICS) joint report on the terminology for the conservative and nonpharmacological management of female pelvic floor dysfunction. *Neurourol Urodyn*. 2017;36(2):221–44.
18. Lukacz ES, Santiago-Lastra Y, Albo ME, Brubaker L. Urinary incontinence in women a review. *JAMA - J Am Med Assoc*. 2017;318(16):1592–604.
19. Lamerton TJ, Torquati L, Brown WJ. Overweight and obesity as major, modifiable risk factors for urinary incontinence in young to mid-aged women: a systematic review and meta-analysis. *Obes Rev*. 2018;19(12):1735–45.
20. Aune D, Mahamat-Saleh Y, Norat T, Riboli E. Body mass index, abdominal fatness, weight gain and the risk of urinary incontinence: a systematic review and dose–response meta-analysis of prospective studies. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol*. 2019;126(12):1424–33.
21. Marcelissen T, Anding R, Averbeck M, Hanna-Mitchell A, Rahnama'i S, Cardozo L. Exploring the relation between obesity and urinary incontinence: Pathophysiology, clinical implications, and the effect of weight reduction, ICI-RS 2018. *Neurourol Urodyn*. 2019;38(S5):S18–24.
22. Parker WP, Griebing TL. Nonsurgical Treatment of Urinary Incontinence in Elderly Women. *Clin Geriatr Med* [Internet]. 2015;31(4):471–85. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cger.2015.07.003>
23. Bradley CS, Erickson BA, Emily E, Cameron AP, Lai HH, Kreder KJ, et al. HHS Public Access. 2018;198(5):1010–20.
24. Imamura M, Williams K, Wells M, Mcgrother C. Lifestyle interventions for the treatment of urinary incontinence in adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015;2015(12).
25. Paiva LL, Ferla L, Darski C, Catarino BM, Ramos JGL. Pelvic floor muscle training in groups versus individual or home treatment of women with urinary incontinence: systematic review and meta-analysis. *Int Urogynecol J* [Internet]. 2017;28(3):351–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s00192-016-3133-2>
26. García-Sánchez E, Ávila-Gandía V, López-Román J, Martínez-Rodríguez A, Rubio-Arias J. What pelvic floor muscle training load is optimal in minimizing urine loss in women with stress urinary incontinence? A systematic review and meta-analysis. *Int J Environ Res Public Health*. 2019;16(22):1–15.
27. Radzimińska A, Strączyńska A, Weber-Rajek M, Styczyńska H, Strojek K, Piekorz Z. The impact of pelvic floor muscle training on the quality of life of women with urinary incontinence: a systematic literature review. *Clin Interv Aging*. 2018;13:957–65.
28. Dumoulin C, Cacciari LP, Hay-Smith EJC. Pelvic floor muscle training versus no treatment, or inactive control treatments, for urinary incontinence in women.

Cochrane Database Syst Rev. 2018;2018(10).

29. Fitz FF, Gimenez MM, de Azevedo Ferreira L, Matias MMP, Bortolini MAT, Castro RA. Pelvic floor muscle training for female stress urinary incontinence: a randomised control trial comparing home and outpatient training. *Int Urogynecol J*. 2020;31(5):989–98.
30. Voorham JC, De Wachter S, Van den Bos TWL, Putter H, Lycklama à Nijeholt GA, Voorham - van der Zalm PJ. The effect of EMG biofeedback assisted pelvic floor muscle therapy on symptoms of the overactive bladder syndrome in women: A randomized controlled trial. *Neurourol Urodyn*. 2017;36(7):1796–803.
31. Bo K, Fernandes ACNL, Duarte TB, Brito LGO, Ferreira CHJ. Is pelvic floor muscle training effective for symptoms of overactive bladder in women? A systematic review. *Physiother (United Kingdom)*. 2020;106:65–76.
32. Beyar N, Groutz A. Pelvic Floor Muscle Training for Female Stress Urinary Incontinence : Five Years Outcomes. 2015;(February).
33. Fitz FF, Stüpp L, Fonseca T, Augusta M, Bortolini T. Outpatient biofeedback in addition to home pelvic floor muscle training for stress urinary incontinence : a randomized controlled trial. 2017;(December 2016):2034–43.
34. Seleme MR. An ideal e-health system for pelvic floor muscle training adherence : Systematic review. 2019;(August 2018):63–80.
35. Cyr M, Kruger J, Wong V, Franczog M, Dumoulin C, Girard I, et al. SC. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 2017; Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajog.2016.11.1049>
36. Maund, E., Guski, L.S., Gøtzsche PC. Considering benefits and harms of duloxetine for treatment of stress urinary incontinence: a meta-analysis of clinical study reports. *CMAJ*. 2016;1–11.
37. Hagovska M, Svihra J. Evaluation of duloxetine and innovative pelvic floor muscle training in women with stress urinary incontinence (DULOXING).
38. Rossanese M, Novara G, Challacombe B, Iannetti A. Critical analysis of phase II and III randomised control trials (RCTs) evaluating efficacy and tolerability of a β 3 - adrenoceptor agonist (Mirabegron) for overactive bladder (OAB). 2015;32–40.
39. Riemsma R, Hagen S, Kirschner-hermanns R, Norton C, Wijk H, Andersson K, et al. Can incontinence be cured ? A systematic review of cure rates. *BMC Med*. 2017;1–11.
40. Castro-di D, Drake MJ, Chapple C, Esen AA, Athanasiou S, Cambronero J, et al. Efficacy and Safety of Mirabegron Add-on Therapy to Solifenacin in Incontinent Overactive Bladder Patients with an Inadequate Response to Initial 4-Week Solifenacin Monotherapy : A Randomised Double-blind Multicentre Phase 3B Study (BESIDE). 2016;70:136–45.
41. Gratzke C, Maanen R Van, Chapple C, Abrams P, Herschorn S, Robinson D, et al.

- Long-term Safety and Efficacy of Mirabegron and Solifenacin in Combination Compared with Monotherapy in Patients with Overactive Bladder : A Randomised , Multicentre Phase 3 Study (SYNERGY II). *Eur Urol* [Internet]. 2018;(Synergy II). Available from: <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2018.05.005>
42. Lukacz ES, Santiago-Lastra Y, Albo ME, Brubaker L. Urinary incontinence in women a review. *JAMA - J Am Med Assoc*. 2017;318(16):1592–604.
 43. Gomelsky A, Nager CW, Choo SAM, Cosson M, Dmochowski RR, Gomes CM, et al. Surgery for urinary incontinence in women : Report from the 6th international consultation on incontinence. 2018;(June).
 44. Ja TT, Ma A, Lc V, Ja TT, Ma A, Lc V. Aspectos actuales en el tratamiento de la incontinencia urinaria de esfuerzo en mujeres Current aspects in the management of stress urinary incontinence in women. 2017;77(5):411–8.
 45. Aa F, Rogerson L, Jd C, Aluko P, Ja O. Mid-urethral sling operations for stress urinary incontinence in women (Review). 2017;(7).
 46. Aa F, Rogerson L, Jd C, Ogah J, Aa F, Rogerson L, et al. Mid-urethral sling operations for stress urinary incontinence in women (Review). 2015;
 47. Kirchin V, Page T, Pe K, Kom A, Jd C, McClinton S, et al. Urethral injection therapy for urinary incontinence in women (Review). 2017;
 48. Vries AM De, Wadhwa H, Huang J, Farag F. Complications of Urethral Bulking Agents for Stress Urinary Incontinence : An Extensive Review Including Case Reports. 2017;00(00):1–7.
 49. Amundsen CL, Komesu YM, Chermansky C, Gregory WT, Myers DL, Honeycutt EF, et al. Two-Year Outcomes of Sacral Neuromodulation Versus OnabotulinumtoxinA for Refractory Urgency Urinary Incontinence : A Randomized Trial. *Eur Urol* [Internet]. 2018;1–8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2018.02.011>
 50. Neuwahl SJ, Carolina N, Honeycutt AA, Carolina N, Lukacz ES, Carolina N. Incontinence : Results of the ROSETTA Randomized Trial. 2020;203(5):969–77.
 51. Gill BC, Pizarro-Berdichevsky J, Bhattacharyya PK, Brink TS, Marks BK, Quirouet A, et al. Real-time changes in brain activity during sacral neuromodulation for overactive bladder. *J Urol* [Internet]. 2017;196(6):1379–85. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.juro.2017.06.074>
 52. Weissbart SJ, Bhavsar R, Rao H, Wein AJ, Detre JA, Arya LA, et al. Specific Changes in Brain Activity during Urgency in Women with Overactive Bladder after Successful Sacral Neuromodulation: A Functional Magnetic Resonance Imaging Study. *J Urol* [Internet]. 2018;200(2):382–8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.juro.2018.03.129>
 53. Ismail S, Chartier-Kastler E, Perrouin-Verbe MA, Rose-Dite-Modestine J, Denys P, Phé V. Long-Term Functional Outcomes of S3 Sacral Neuromodulation for the Treatment of Idiopathic Overactive Bladder. *Neuromodulation*. 2017;20(8):825–9.

54. Karen L. Noblett, 1* Roger R. Dmochowski, 2* Sandip P. Vasavada, 3 Abigail M. Garner, 4 Shan Liu, 4 5 and Jan B. Pietzsch. Cost Profiles and Budget Impact of Rechargeable Versus Non-Rechargeable Sacral Neuromodulation Devices in the Treatment of Overactive Bladder Syndrome Karen. *Neurourol Urodyn*. 2017;
55. Goldman HB, Lloyd JC, Noblett KL, Carey MP, Castaño Botero JC, Gajewski JB, et al. International Continence Society best practice statement for use of sacral neuromodulation. *Neurourol Urodyn*. 2018;37(5):1823–48.
56. Vaganée D, Voorham J, Voorham-van der Zalm P, De Wachter S. Needle Placement and Position of Electrical Stimulation Inside Sacral Foramen Determines Pelvic Floor Electromyographic Response—Implications for Sacral Neuromodulation. *Neuromodulation*. 2019;22(6):709–15.
57. Noblett K, Berg KC, Kan F, Siegel S. Baseline symptom severity and therapeutic success in a large prospective trial of sacral neuromodulation therapy for overactive bladder patients. *Neurourol Urodyn*. 2018;37(5):1667–71.
58. Zhang P, Wang JY, Zhang Y, Liao L, Lv J wei, Ling Q, et al. Results of Sacral Neuromodulation Therapy for Urinary Voiding Dysfunction: Five-Year Experience of a Retrospective, Multicenter Study in China. *Neuromodulation*. 2019;22(6):730–7.
59. Karen Noblett, 1* Steven Siegel, 2 Jeffrey Mangel, 3 Tomas L. Griebing 4, Suzette E. Sutherland, 5 Erin T. Bird, 6 Craig Comiter, 7 Daniel Culkin 8, Jason Bennett, 9 Samuel Zylstra, 10 Fangyu Kan 11 and Kellie Chase Berg. Results of a Prospective, Multicenter Study Evaluating Quality of Life, Safety, and Efficacy of Sacral Neuromodulation at Twelve Months in Subjects With Symptoms of Overactive Bladder. *Neurourol Urodyn*. 2016;246–51.
60. Siegel S, Noblett K, Mangel J, Griebing TL, Sutherland SE, Bird ET, et al. Three-year Follow-up Results of a Prospective, Multicenter Study in Overactive Bladder Subjects Treated With Sacral Neuromodulation. *Urology* [Internet]. 2016;94:57–63. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.urology.2016.04.024>
61. Siegel S, Noblett K, Mangel J, Bennett J, Griebing TL, Sutherland SE, et al. Five-Year Followup Results of a Prospective, Multicenter Study of Patients with Overactive Bladder Treated with Sacral Neuromodulation. *J Urol* [Internet]. 2018;199(1):229–36. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.juro.2017.07.010>
62. Lauren A. Cadish, Kathryn E. Osann and KLN. Stimulation Latency and Comparison of Cycling Regimens in Women Using Sacral Neuromodulation. *Neurourol Urodyn*. 2017;486–9.
63. Karen Noblett, 1* Steven Siegel, 2 Jeffrey Mangel, 3 Tomas L. Griebing, 4 Suzette E. Sutherland, 5 Erin T. Bird, 6 Craig Comiter, 7 Daniel Culkin 8, Jason Bennett, 9 Samuel Zylstra, 10 Fangyu Kan 11 and Kellie Chase Berg11 1University. Results of a Prospective, Multicenter Study Evaluating Quality of Life, Safety, and Efficacy of Sacral Neuromodulation at Twelve Months in Subjects With Symptoms of Overactive Bladder Karen. *Neurourol Urodyn*. 2016;246–51.

64. Elterman DS. The novel Axonics® rechargeable sacral neuromodulation system : Procedural and technical impressions from an initial North American experience. *Neurourol Urodynamics*. 2018;(December 2017):1–8.
65. Blok B. Three month clinical results with a rechargeable sacral neuromodulation system for the treatment of overactive bladder. 2018;(August 2017):1–8.
66. Blok B, Van Kerrebroeck P, de Wachter S, Ruffion A, Van der Aa F, Jairam R, et al. A prospective, multicenter study of a novel, miniaturized rechargeable sacral neuromodulation system: 12-month results from the RELAX-OAB study. *Neurourol Urodyn*. 2019;38(2):689–95.
67. Sucar-Romero S, Decanini-Terán C, Ruiz-Galindo GH. Primer caso de neuromodulación sacra para el tratamiento de la incontinencia urinaria y fecal en México. Informe de caso. *Rev Gastroenterol Mex*. 2009;74(2):122–6.
68. Torres-Gómez JJ, Campos-Salcedo JG, Sedano-Lozano A, Torres-Salazar JJ, Arreortua SC, Méndez-Álvarez LA, et al. Evaluación urodinámica y comparativa de la calidad de vida en pacientes con trastorno de vaciamiento vesical sometidos a terapia InterStim, Medtronic®. *Rev Mex Urol [Internet]*. 2014;74(5):259–68. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.uromx.2014.09.001>
69. Cervantes-Palma C, Campos-Salcedo JG, Méndez-Álvarez LA, López-Silvestre JC, Díaz-Gómez C, Reyes-Equihua JL, et al. Evaluation of the efficacy and safety of sacral neuromodulation as voiding dysfunction treatment and its effects on quality of life in patients seen at a Mexican referral center. *Rev Mex Urol*. 2019;79(4):1–9.
70. Pincus J, Rostaminia G, Chang C, Gafni-Kane A, Goldberg RP. Factors associated with overactive bladder symptom improvement after 1 year of monthly percutaneous tibial nerve stimulation therapy. *Neurourol Urodyn*. 2019;38(6):1676–84.
71. Peters KM, Carrico DJ, Perez-Marrero RA, Khan AU, Wooldridge LS, Davis GL, et al. Randomized Trial of Percutaneous Tibial Nerve Stimulation Versus Sham Efficacy in the Treatment of Overactive Bladder Syndrome: Results From the SUMiT Trial. *J Urol [Internet]*. 2010;183(4):1438–43. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.juro.2009.12.036>
72. Peters KM, Carrico DJ, Wooldridge LS, Miller CJ, Macdiarmid SA. Percutaneous Tibial Nerve Stimulation for the Long-Term Treatment of Overactive Bladder : 3-Year Results of the STEP Study. *JURO [Internet]*. 2013;189(6):2194–201. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.juro.2012.11.175>
73. Kenneth M. Peters, 1* Donna J. Carrico, 1 Scott A. MacDiarmid, 2 Leslie S. Wooldridge, 3 Ansar U. Khan, 4 Craig E. McCoy, 5 Nicholas Franco 6 and Jason B. Bennett7. Sustained Therapeutic Effects of Percutaneous Tibial Nerve Stimulation: 24-month Results of the STEP Study Kenneth. *Neurourol Urodyn*. 2013;32:24–9.
74. Salatzki J, Liechti MD, Spanudakis E, Gonzales G, Baldwin J, Haslam C, et al. Factors influencing return for maintenance treatment with percutaneous tibial nerve stimulation for the management of the overactive bladder. *BJU Int*. 2019;123(5):E20–8.

75. te Dorsthorst MJ, Heesakkers JPFA, van Balken MR. Long-term real-life adherence of percutaneous tibial nerve stimulation in over 400 patients. *Neurourol Urodyn.* 2020;39(2):702–6.
76. Ammi M, Chautard D, Brassart E, Culty T, Azzouzi AR, Bigot P. Transcutaneous posterior tibial nerve stimulation: Evaluation of a therapeutic option in the management of anticholinergic refractory overactive bladder. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct.* 2014;25(8):1065–9.
77. Manríquez V, Guzmán R, Naser M, Aguilera A, Narvaez S, Castro A, et al. Transcutaneous posterior tibial nerve stimulation versus extended release oxybutynin in overactive bladder patients. A prospective randomized trial. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2016;196:6–10.
78. Booth J, Connelly L, Dickson S, Duncan F, Lawrence M. The effectiveness of transcutaneous tibial nerve stimulation (TTNS) for adults with overactive bladder syndrome: A systematic review. *Neurourol Urodyn.* 2018;37(2):528–41.
79. Ramírez-García I, Blanco-Ratto L, Kauffmann S, Carralero-Martínez A, Sánchez E. Efficacy of transcutaneous stimulation of the posterior tibial nerve compared to percutaneous stimulation in idiopathic overactive bladder syndrome: Randomized control trial. *Neurourol Urodyn.* 2019;38(1):261–8.
80. Van Der Pal F, Van Balken MR, Heesakkers JPFA, Debruyne FMJ, Bemelmans BLH. Implant-driven tibial nerve stimulation in the treatment of refractory overactive bladder syndrome: 12-Month follow-up. *Neuromodulation.* 2006;9(2):163–71.
81. Dick A, Janssen,* Fawzy Farag and JPH. Urgent-SQ Implant in Treatment of Overactive Bladder Syndrome: 9-Year Follow-Up Study Dick. *Neurourol Urodyn.* 2013;475(October 2012):472–5.
82. van Breda HMK, Martens FMJ, Tromp J, Heesakkers JPFA. A New Implanted Posterior Tibial Nerve Stimulator for the Treatment of Overactive Bladder Syndrome: 3-Month Results of a Novel Therapy at a Single Center. *J Urol.* 2017;198(1):205–10.
83. Kerrebroeck3 JPFAHP Van, Elneil4 | Guiseppa A. Digesu2 | Sohier. A novel leadless , miniature implantable Tibial Nerve Neuromodulation System for the management of overactive bladder complaints. 2017;(February):1–8.
84. N.N. Macías-Vera* PIV-C y NG-R, Unidad. Estimulación transcutánea del nervio tibial posterior versus darifenacina para el tratamiento de vejiga hiperactiva refractaria en mujeres. *Rev Mex Urol [Internet].* 2016;76(1):3–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.uromx.2015.10.003>
85. Ayala-Quispe1* VB, Guerrero-Reyes1* RH-VG, Gutiérrez-González2* A, Moysén-Marín1* CM, Barragán-Ochoa1* C, Keywords: Efficacy of transcutaneous vs percutaneous tibial nerve stimulation in non-neurogenic overactive bladder Eficacia de la neuromodulacion transcutánea vs percutánea del nervio tibial en el síndrome de vejiga hiperactiva no neurogénica. 2020;80:1–18.

86. Pérez-martínez C, Palacios-galicia JL, Vargas-díaz IB, Cruz-gómez Y, García-sánchez D. Effect of percutaneous tibial nerve stimulation on pelvic floor muscles in patients with overactive bladder . Efecto de la electroestimulación del nervio tibial en la musculatura del piso pélvico de pacientes con síndrome de vejiga hiperactiva . 2019;79:1–11.
87. Bosch JLHR. The Bion Device : A Minimally Invasive Implantable Ministimulator for Pudendal Nerve Neuromodulation in Patients with Detrusor Overactivity Incontinence. 2005;32:109–12.
88. Spinelli M, Malaguti S, Giardiello G, Lazzeri M, Tarantola J, Hombergh U Van Den. A New Minimally Invasive Procedure for Pudendal Nerve Stimulation to Treat Neurogenic Bladder : Description of the Method and Preliminary Data. 2005;309(February 2004):305–9.
89. Mini-stimulator I. Chronic Pudendal Nerve Neuromodulation in Women With Idiopathic Refractory Detrusor Overactivity Incontinence : Results of a Pilot Study With a Novel Minimally Invasive. 2005;230(January):226–30.
90. Peters KM, Feber KM, Bennett RC. Sacral Versus Pudendal Nerve Stimulation for Voiding Dysfunction : A Prospective , Single-Blinded , Randomized , Crossover Trial. 2005;647(September):643–7.
91. Peters KM, Killinger KA, Boguslawski BM, Boura JA. Chronic Pudendal Neuromodulation : Expanding Available Treatment Options for Refractory Urologic Symptoms. 2010;1271(August 2009):1267–71.
92. Wang S, Lv J, Feng X, Wang G, Lv T. Efficacy of Electrical Pudendal Nerve. Urology [Internet]. 2016;91:64–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.urology.2016.02.027>
93. Wang S, Lv J, Feng X, Lv T. Efficacy of electrical pudendal nerve stimulation versus transvaginal electrical stimulation in treating female idiopathic urgency urinary incontinence. J Urol [Internet]. 2017; Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.juro.2017.01.065>
94. Guralnick ML, Kelly H, Engelke H, Koduri S, O'Connor RC. InTone: a novel pelvic floor rehabilitation device for urinary incontinence. Int Urogynecol J. 2015;26(1):99–106.
95. Bae S, Lee KW, Jeong HC, Park BH, Bae WJ, Lee YS, et al. Effects of low-frequency intravaginal electrical stimulation on female urinary incontinence, quality of life, and urinary symptoms: A pilot study. LUTS Low Urin Tract Symptoms. 2020;12(1):25–32.
96. Correia GN, Pereira VS, Hirakawa HS, Driusso P. Effects of surface and intravaginal electrical stimulation in the treatment of women with stress urinary incontinence: Randomized controlled trial. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2014;173(1):113–8.
97. Dmochowski R, Lynch CM, Efros M, Cardozo L. External electrical stimulation compared with intravaginal electrical stimulation for the treatment of stress urinary

incontinence in women: A randomized controlled noninferiority trial. *Neurourol Urodyn.* 2019;38(7):1834–43.

98. Lim R, Lee SWH, Tan PY, Liong ML YK. Efficacy of Electromagnetic Therapy for Urinary Incontinence: A Systematic Review. *Neurourol Urodyn.* 2015;722(August 2014):713–22.
99. Lim R, Liong ML, Leong WS, Karim Khan NA, Yuen KH. Pulsed Magnetic Stimulation for Stress Urinary Incontinence: 1-Year Followup Results. *J Urol.* 2017;197(5):1302–8.
100. Yamanishi T, Suzuki T, Sato R, Kaga K, Kaga M, Fuse M. Effects of magnetic stimulation on urodynamic stress incontinence refractory to pelvic floor muscle training in a randomized sham-controlled study. *LUTS Low Urin Tract Symptoms.* 2019;11(1):61–5.