



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

Efecto de la multiparidad sobre la fuerza generada por los músculos obturador interno y rabdoesfínter en la vagina y la uretra de la coneja doméstica
(*Oryctolagus cuniculus*)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

Cecilia Hernández Bonilla

Co-Directores de Tesis

Dra. Margarita Martínez Gómez

Dr. René Zempoalteca Ramírez



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

Efecto de la multiparidad sobre la fuerza generada por los músculos obturador interno y rabdoesfínter en la vagina y la uretra de la coneja doméstica (*Oryctolagus cuniculus*)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

Cecilia Hernández Bonilla

Comité Tutorial

Dra. Margarita Martínez Gómez

Dr. René Zempoalteca Ramírez

Dr. Ismael Jiménez Estrada

Dra. Dora Luz Corona Quintanilla

FINANCIAMIENTO

El trabajo de la presente tesis se efectuó en las instalaciones del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta de la Universidad Autónoma de Tlaxcala, Unidad Periférica del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM. Para su desarrollo y realización se contó con el financiamiento del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación de la Universidad Nacional Autónoma de México (IN206013 a MMG) y una Beca de CONACYT (628536 a CH).

La Maestría en Ciencias Biológicas está registrada en el Programa para el Fortalecimiento del Posgrado Nacional. Padrón Nacional de Posgrado de Calidad (PNPC).



Universidad Autónoma de Tlaxcala
Posgrado del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta

Maestría en Ciencias Biológicas



POSGRADO EN CIENCIAS
BIOLÓGICAS

**COORDINACIÓN MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
CENTRO TLAXCALA DE BIOLOGÍA DE LA CONDUCTA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA
P R E S E N T E**

Los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del Proyecto de tesis que **Cecilia Hernández Bonilla** realiza para la obtención del grado de Maestra en Ciencias Biológicas, expresamos que, habiendo revisado la versión final del documento de tesis, damos la aprobación para que ésta sea impresa y defendida en el examen correspondiente. El título que llevará es: **“Efecto de la multiparidad sobre la fuerza generada por los músculos obturador interno y rabdoesfínter en la vagina y la uretra de la coneja doméstica (*Oryctolagus cuniculus*)”**.

Sin otro particular, le enviamos un cordial saludo.

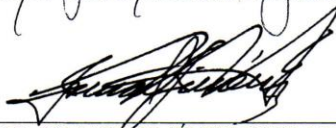
ATENTAMENTE
TLAXCALA, TLAX., ENERO 6 DE 2017




DR. MARGARITA MARTINEZ GÓMEZ



DR. RENÉ ZEMPOALTECA RAMÍREZ



DR. ISMAEL JIMÉNEZ ESTRADA



DRA. DORA LUZ CORONA QUINTANILLA



DR. FRANCISCO CASTELAN



DRA. KENIA LÓPEZ GARCÍA



Sistema Institucional de Gestión de la Calidad Certificado bajo la Norma:
ISO 9001:2008-NMX-CC-9001-IMNC-2008



Km. 1.5 Carretera Tlaxcala-Puebla CP 90070, Tlaxcala, Tlax. Tel/Fax: 01(246)462-15-57 e-mail: posgradoctbcuat@gmail.com

AGRADECIMIENTOS

Al Posgrado del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta de la Universidad Autónoma de Tlaxcala, Unidad Periférica del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM.

Al apoyo recibido por el Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación de la Universidad Nacional Autónoma de México (IN206013a MMG) y una Beca de CONACYT (628536 a CH).

A mis Co-Directores de tesis, los Dres. Margarita Martínez Gómez y René Zempoalteca Ramírez por la transmisión de conocimientos, apoyo y motivación en mi formación académica.

Al comité tutorial por sus comentarios y sugerencias para la realización de la presente tesis. Gracias a los Dres. Ismael Jiménez Estrada, Dora Luz Corona Quintanilla, Francisco Castelán Kenia López García y al apoyo técnico de la QFB Laura García para el desarrollo de los experimentos.

A mis compañeras de laboratorio; gracias a la M. en C. Rhode López Juárez y Biol. Suelem Moreno Pérez, por su amistad y apoyo durante los registros.

DEDICATORIA

A mi familia...

RESUMEN

La multiparidad se considera como la experiencia reproductiva que incluye al menos dos episodios de cópulas, gestaciones, partos y lactancias. El parto es un evento mecánico y hormonal que se ha relacionado con alteraciones en el aparato urogenital y en la musculatura del piso pélvico y su inervación. Así, la multiparidad tiene efectos considerables en la anatomía y fisiología de dichas estructuras.

Nuestro grupo de investigación ha mostrado en la coneja doméstica (*Oryctolagus cuniculus*), que la multiparidad altera diversas características histológicas del aparato urogenital. También, hay cambios morfológicos y disminución de la fuerza contráctil y de la presión intravaginal, así como un daño diferencial en algunos músculos estriados pélvicos y perineales. Todos estos cambios en el aparato urogenital y musculatura estriada indican ajustes plásticos y/o daños que afectan la vida reproductiva y no reproductiva de las hembras de mamíferos.

La musculatura estriada comprende una gran cantidad de músculos estriados pélvicos y perineales y, considerando que los efectos por la multiparidad encontrados hasta ahora son diferenciales, todavía queda por conocer aquellos músculos directamente relacionados a la vagina pélvica y a la uretra, como el músculo obturador interno y rabdoesfínter o también denominando bulboglandular. Es relevante entender la forma y temporalidad en que cada músculo contribuye en la función del aparato urogenital generando presión sobre la vagina y uretra, con una fuerza contráctil particular. Asimismo, determinar si presentan cambios por efecto de la multiparidad.

El objetivo del presente trabajo es evaluar en conejas nulíparas y multíparas la fuerza contráctil en condiciones isométricas y la presión ejercida sobre la vagina pélvica y uretra por los músculos obturador interno o rabdoesfínter. En ambos experimentos se aplicaron estímulos simples y a frecuencias de 4, 10, 20, 50 y 100 Hz.

Los resultados obtenidos muestran que la contracción del músculo obturador interno a 100 Hz, genera mayor presión intravaginal pélvica en las hembras nulíparas en comparación con las multíparas (10.58 ± 0.98 vs 6.38 ± 0.86 mmHg). A nivel de uretra, la presión generada por el músculo obturador interno, no mostró diferencias significativas entre hembras nulíparas

y múltíparas (10.18 ± 9.85 vs 9.85 ± 1.32 mmHg). Asimismo, la fuerza desarrollada por el músculo obturador interno no mostró diferencias en hembras múltíparas con respecto a las nulíparas (0.60 ± 0.07 vs 0.39 ± 0.10 N/g de tejido). Respecto al músculo rabdoesfínter, su contracción a 100 Hz generó mayor presión intravaginal en hembras nulíparas en comparación con las múltíparas (7.85 ± 0.51 vs 3.35 ± 0.94 mmHg). A nivel de uretra, la contracción del músculo rabdoesfínter generó mayor presión intrauretral en hembras nulíparas a diferencia de las múltíparas (9.66 ± 1.66 vs 4.65 ± 0.25 mmHg).

Los resultados muestran que el músculo obturador interno y rabdoesfínter contribuyen de manera diferencial en la generación de la presión intravaginal e intrauretral. Asimismo, la multiparidad afecta de manera distinta a los músculos. Debido a que las propiedades contráctiles del músculo obturador interno no se modifican, es posible que cambios en el tejido de la pared vaginal y uretral, contribuya a los cambios de presión observados en hembras múltíparas. Esto a su vez, podría modificar procesos reproductivos y no reproductivos.

ÍNDICE

	Pag.
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Área pélvica y la musculatura asociada al aparato urogenital femenino.....	1
2. ANTECEDENTES	10
2.1 Participación funcional de la musculatura asociada al aparato urogenital.....	10
2.2 Efecto de la multiparidad sobre la musculatura asociada al aparato urogenital.....	13
2.3 La coneja doméstica como modelo de estudio.....	15
2.3.1. Anatomía del músculo obturador interno y bulboglandular de la coneja.....	17
2.3.2 Actividad refleja de los músculos obturador interno y bulboglandular de la coneja.....	23
2.3.3 Efecto de la multiparidad sobre el aparato urogenital y la musculatura estriada pélvica y perineal de la coneja.....	29
3. JUSTIFICACIÓN	34
4. HIPÓTESIS	35
5. OBJETIVOS	35
5.1 Objetivo general.....	35
5.2. Objetivos específicos.....	36
6. METODOLOGÍA	36
6.1 Diseño experimental.....	36
6.2 Animales.....	36
6.3 Experimento I: Evaluación de la presión generada por los músculos obturador interno y rabdoesfínter sobre la vagina pélvica y uretra.....	37
6.4 Experimento II: Fuerza mecánica desarrollada por el músculo obturador interno....	38
6.5 Análisis estadístico.....	39
7. RESULTADOS	40
7.1 Edad y peso corporal.....	40
7.2 Parámetros morfométricos de los músculos obturador interno y rabdoesfínter.....	40
7.3 Umbral de respuesta para la presión intravaginal pélvica.....	42
7.4 Presión intravaginal pélvica.....	42
7.5 Umbral de respuesta para la presión intrauretral.....	46
7.6 Presión intrauretral.....	47
7.7 Umbral de respuesta para la fuerza contráctil del músculo obturador interno.....	52
7.8 Fuerza mecánica contráctil del músculo obturador interno.....	52
7.9 Presión intravaginal, presión intrauretral, fuerza contráctil y frecuencia.....	55
7.10 Análisis de correlación entre presión intravaginal, presión intrauretral y fuerza contráctil.....	60

8. DISCUSIÓN	62
8.1 Edad y peso corporal.....	62
8.2 Parámetros morfométricos de los músculos obturador interno y rabdoesfínter.....	63
8.3 Umbral de respuesta para la presión intravaginal, presión intrauretral, y fuerza contráctil.....	64
8.4 Presión intravaginal pélvica.....	65
8.5 Presión intrauretral.....	67
8.6 Fuerza contráctil del músculo obturador interno.....	74
8.7 Relación de la frecuencia y la presión intravaginal, presión intrauretral y la fuerza contráctil.....	76
8.8 Correlación entre la presión intravaginal, presión intrauretral y fuerza contráctil....	77
9. CONCLUSIONES	78
9.1 General.....	78
9.2 Particulares.....	78
10. MODELO DE CONTRACCIÓN DE LOS MÚSCULOS OBTURADOR INTERNO Y RABDOESFÍNTER	79
11. PERSPECTIVAS	82
12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	83
13. PUBLICACIONES	94

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
FÍGURA 1. Vista esquemática de los músculos del <i>levator ani</i>	3
FÍGURA 2. Vista lateral que muestra los componentes del sistema de soporte uretral.....	4
FÍGURA 3. Organización arquitectónica del complejo de esfínteres.....	7
FÍGURA 4. Músculos de las paredes de la pelvis.....	9
FÍGURA 5. Vista ventral del aparato urogenital inferior de la coneja.....	16
FÍGURA 6. Vista ventral de la región pélvica de la coneja.....	17
FÍGURA 7. Origen e inserción del músculo obturador interno de la coneja.....	18
FÍGURA 8. Fotografía y esquema del aparato urogenital de la coneja.....	20
FÍGURA 9. Fotografías y esquema del aparato urogenital y vista ventral y dorsal de los tendones del músculo bulboglandular de la coneja	21
FÍGURA 10. Actividad EMG refleja del músculo obturador interno de la coneja en respuesta a la estimulación vaginocervical.....	23
FÍGURA 11. Actividad EMG refleja del músculo bulboglandular de la coneja en respuesta a la estimulación vaginocervical.....	24
FÍGURA 12. Actividad EMG refleja del músculo obturador interno de la coneja en respuesta a la distensión vaginal.....	25
FÍGURA 13. Actividad EMG refleja del músculo bulboglandular de la coneja en respuesta a la distensión vaginal.....	26
FÍGURA 14. Registros simultáneos de cistometogramas y electromiograma del músculo obturador interno obtenidos durante la micción en la coneja.....	27
FÍGURA 15. Registro simultáneo de cistometograma y electromiograma del músculo bulboglandular obtenido durante la micción en la coneja.....	28
FÍGURA 16. Fotografías representativas que muestran las características histológicas de la uretra y la vagina en conejas jóvenes nulíparas y multíparas.....	29
FÍGURA 17. Cistometogramas y electromiogramas de los músculos pubococcígeo, isquiocavernoso y bulboesponjoso registrados simultáneamente durante la micción en conejas vírgenes y multíparas.....	30
FÍGURA 18. Se muestran media \pm DE del área transversal de los tipos de fibras encontradas en las tres regiones del músculo bulboesponjoso y pubococcígeo observadas en conejas jóvenes nulíparas y multíparas.....	31
FÍGURA 19. Registro de la fuerza contráctil expresada en gramos y la presión intravaginal perineal y pélvica expresado en mmHg a 50 y 100 Hz (con 4 segundos de duración) cuando se estimulan los músculos Be, y Pc en hembras nulíparas y hembras multíparas.....	33
FÍGURA 20. Presión de la vagina pélvica durante la contracción de los músculos obturador interno y rabdoesfínter a 1 Hz (con 1 segundo de duración) en hembras nulíparas y multíparas.....	43

FÍGURA 21. Presión intravaginal en la región de la vagina pélvica durante la aplicación de estímulos eléctricos (4, 10 y 20 Hz, con 4 segundos de duración) al músculo obturador interno y rabdoesfínter, en hembras nulíparas y múltíparas.....	44
FÍGURA 22. Presión intravaginal de la vagina pélvica durante la estimulación eléctrica a 50 y 100 Hz (con 4 segundos de duración) del músculo obturador interno y rabdoesfínter, en hembras nulíparas y múltíparas.....	45
FÍGURA 23. Presión intrauretral durante la estimulación eléctrica a 1 Hz (con 1 segundo de duración) al músculo obturador interno y rabdoesfínter, en hembras nulíparas y múltíparas.....	47
FÍGURA 24. Presión intrauretral durante la estimulación eléctrica del músculo obturador interno y rabdoesfínter a 4, 10 y 20 Hz (con 4 segundos de duración) en hembras nulíparas y múltíparas.....	49
FÍGURA 25. Presión intrauretral del músculo obturador interno y rabdoesfínter a 50 y 100 Hz (con 4 segundos de duración) en hembras nulíparas y múltíparas.....	50
FÍGURA 26. Fuerza contráctil del músculo obturador interno en respuesta a la estimulación eléctrica a 1 Hz (con 1 segundo de duración) en hembras nulíparas y múltíparas.....	52
FÍGURA 27. Fuerza contráctil del músculo obturador interno a 4, 10 y 20 Hz (con 4 segundos de duración) en hembras nulíparas y hembras múltíparas.....	53
FÍGURA 28. Fuerza contráctil del músculo obturador interno en respuesta a la estimulación eléctrica a 50 y 100 Hz (con 4 segundos de duración) en hembras nulíparas y hembras múltíparas.....	54
FÍGURA 29. Representación esquemática de la disposición anatómica del músculo obturador interno y su contracción sobre la vagina pélvica y uretra de la coneja.....	80
FÍGURA 30. Representación esquemática de la disposición anatómica del músculo rabdoesfínter y su contracción sobre la vagina pélvica y uretra de la coneja.....	81

ÍNDICE DE TABLAS Y GRÁFICAS

	Pág.
TABLA 1. Edad y peso corporal de hembras nulíparas y multíparas.....	40
TABLA 2. Parámetros morfométricos expresados en centímetros del ancho en su origen e inserción y largo del músculo obturador interno de hembras nulíparas y multíparas.....	40
TABLA 3. Parámetros morfométricos expresados en centímetros del ancho en su origen y en la región media del músculo rabdoesfínter de hembras nulíparas y multíparas.....	41
TABLA 4. Peso del músculo obturador interno y rabdoesfínter de hembras nulíparas y multíparas.....	41
TABLA 5. Respuesta umbral de presión intravaginal del músculo obturador interno y rabdoesfínter para alcanzar la respuesta máxima con un estímulo simple en hembras nulíparas y multíparas.....	42
TABLA 6. Presión intravaginal de la vagina pélvica durante la aplicación de estímulos eléctricos a (4, 10, 20, 50 y 100 Hz, con una duración de 4 segundos) a los músculos obturador interno y rabdoesfínter en hembras nulíparas y multíparas.....	46
TABLA 7. Valores umbral del músculo obturador interno y rabdoesfínter para alcanzar la respuesta máxima con un estímulo simple en hembras nulíparas y multíparas.....	47
TABLA 8. Presión intrauretral expresada en mmHg durante la estimulación eléctrica a 1, 4, 10, 20, 50 y 100 Hz (con una duración de 4 segundos) de los músculos obturador interno y rabdoesfínter en hembras nulíparas y multíparas.....	51
TABLA 9. Valores umbral del músculo obturador interno para alcanzar la respuesta máxima con un estímulo simple en hembras nulíparas y multíparas.....	52
TABLA 10. Fuerza contráctil expresada en N/g del músculo obturador interno a 1 Hz y a diferentes frecuencias de estimulación (4, 10, 20, 50 y 100 Hz, con una duración de 4 segundos), aplicado a las hembras nulíparas y multíparas.....	55
GRÁFICA 1. Relación entre la presión intravaginal de la región pélvica (mmHg) y la frecuencia de estimulación (Hz) del músculo obturador interno de hembras nulíparas y multíparas.....	56
GRÁFICA 2. Relación entre la presión intravaginal de la región pélvica (mmHg) y la frecuencia (Hz) del músculo rabdoesfínter de hembras nulíparas y multíparas.....	57
GRÁFICA 3. Relación entre la presión intrauretral (mmHg) y la frecuencia (Hz) del músculo obturador interno de hembras nulíparas y multíparas.....	58
GRÁFICA 4. Relación entre la presión intrauretral (mmHg) y la frecuencia de estimulación (Hz) del músculo rabdoesfínter de hembras nulíparas y multíparas.....	59
GRÁFICA 5. Relación entre la fuerza contráctil (N/g) y la frecuencia (Hz) del músculo obturador interno en hembras nulíparas y multíparas.....	60

GRÁFICA 6. Correlación entre la presión intravaginal y la fuerza contráctil del músculo obturador interno en hembras nulíparas y multíparas.....	61
GRÁFICA 7. Correlación entre la presión intrauretral y la fuerza contráctil del músculo obturador interno en hembras nulíparas y multíparas.....	62

1. INTRODUCCIÓN

La región pélvica femenina es un sistema complejo constituido por vísceras del aparato urogenital y musculatura estriada pélvica y perineal, con su respectiva inervación. La relación anatómica entre los órganos pélvicos y la musculatura estriada requiere de un fino control nervioso para llevar a cabo funciones urinarias, sexuales y reproductivas.

En la parte caudal de la cavidad pélvica y fuera de la pelvis se localiza la región perineal, donde se encuentra la vagina y uretra distal, el ano, los genitales externos y los músculos perineales, como el isquiocavernoso (Isc) y el bulboesponjoso (Be); ambos participan en el sostén de la parte distal de la vagina y la uretra (Herschorn 2004).

Tanto los músculos pélvicos como los perineales, además del sostén anatómico de las vísceras del aparato urogenital, también participan en funciones del aparato urogenital femenino. Dada la disposición anatómica del aparato urogenital y la musculatura estriada pélvica y perineal en las hembras de mamíferos, procesos reproductivos como las múltiples gestaciones, partos y lactancias pueden alterar dichas estructuras (Huser y cols. 2012).

En la gestación el aumento de peso y tamaño del feto puede generar mayor presión intra-abdominal y dañar a los músculos pélvicos y perineales, así como la inervación. Mientras, en el parto las fibras estriadas y los nervios de esta musculatura se sobredistienden, incluso pueden llegar a romperse, causando diversas patologías, entre ellas, prolapsos de vísceras pélvicas (descenso de vejiga y vagina), partos distócicos (retención del producto durante el parto), incontinencia urinaria y fecal (salida involuntaria de orina y excremento) (Lien y cols. 2004). Por ello, el daño generado a estos músculos estriados y su efecto hacia el aparato urogenital se ha relacionado con los diversos factores que comprende la multiparidad.

La multiparidad se define como la experiencia reproductiva que incluye al menos dos episodios de cópulas, gestaciones, partos y lactancias.

1.1 Área pélvica y la musculatura asociada al aparato urogenital femenino

En el área pélvica se localizan fascias y vísceras del aparato reproductor y urinario. Dichas vísceras participan en funciones reproductivas (cópula, fertilización, gestación y parto) y no reproductivas (continencia y expulsión de orina). Asociada a las vísceras pélvicas se presenta musculatura lisa y estriada que contribuyen a la regulación de sus funciones fisiológicas

(Hollinshead y Rosse 1985, Klutke y Siegel 1995). Cabe mencionar que la relación anatómica entre el aparato reproductor y urinario queda comprendido en lo que se conoce como aparato urogenital (Hollinshead y Rosse 1985).

La pelvis está delimitada por el hueso pélvico o iliaco, formado por dos huesos coxales que se unen al hueso sacro y el cóccix. Cada coxal está formado por la fusión de tres huesos: iliaco, isquion y púbico (Hollinshead y Rosse 1985, Barber 2005). Por lo tanto, la región pélvica se encuentra rodeada por la pelvis y por elementos inferiores de la columna vertebral (Drake y cols. 2005).

La pelvis femenina se divide en dos regiones principales: la región superior y la región inferior. La región superior es la pelvis falsa (mayor) y forma parte del abdomen. La región inferior es la pelvis verdadera (menor) que rodea a la cavidad pélvica. La pelvis verdadera tiene forma cilíndrica, con una abertura superior e inferior. La abertura superior se comunica con la cavidad abdominal, mientras que los músculos del piso pélvico (MPP) cierran la abertura inferior y separan la cavidad pélvica del periné, situado por debajo (Drake y cols. 2005).

Los MPP son fundamentalmente el elevador del ano o *levator ani* (LAN), que consta de tres músculos (pubococcígeo, iliococcígeo y puborectalis) y el coccígeo (Ashton-Miller y cols. 2001, Ashton-Miller y DeLancey 2007) (figura 1). El músculo pubococcígeo también llamado pubovisceral se origina en la parte posterior inferior de la sínfisis púbica y se inserta en la línea media de órganos viscerales y en el rafe anococcígeo. El músculo iliococcígeo se origina lateralmente del arco tendinoso del *levator ani* (ATLA) y se inserta en la línea media del rafe anococcígeo. El músculo puborectalis se origina en la sínfisis púbica, sus fibras pasan por detrás del recto y forman un anillo alrededor de la vagina, el recto y el cuerpo perineal. Este músculo promueve el cierre del hiato urogenital (espacio entre la musculatura estriada del LAN a través de la cual pasa la vagina, la uretra y el recto) (Hollinshead y Rosse 1985, Baber 2005). Finalmente, el músculo coccígeo atraviesa la cavidad pélvica como una hamaca en posición dorsal respecto al músculo LAN. Se inserta en la cara interna y bordes de la espina ciática y en el ligamento sacrociático por fuera y en el borde del cóccix por dentro (Hollinshead y Rosse 1985, Wilson y Wilson 1978).

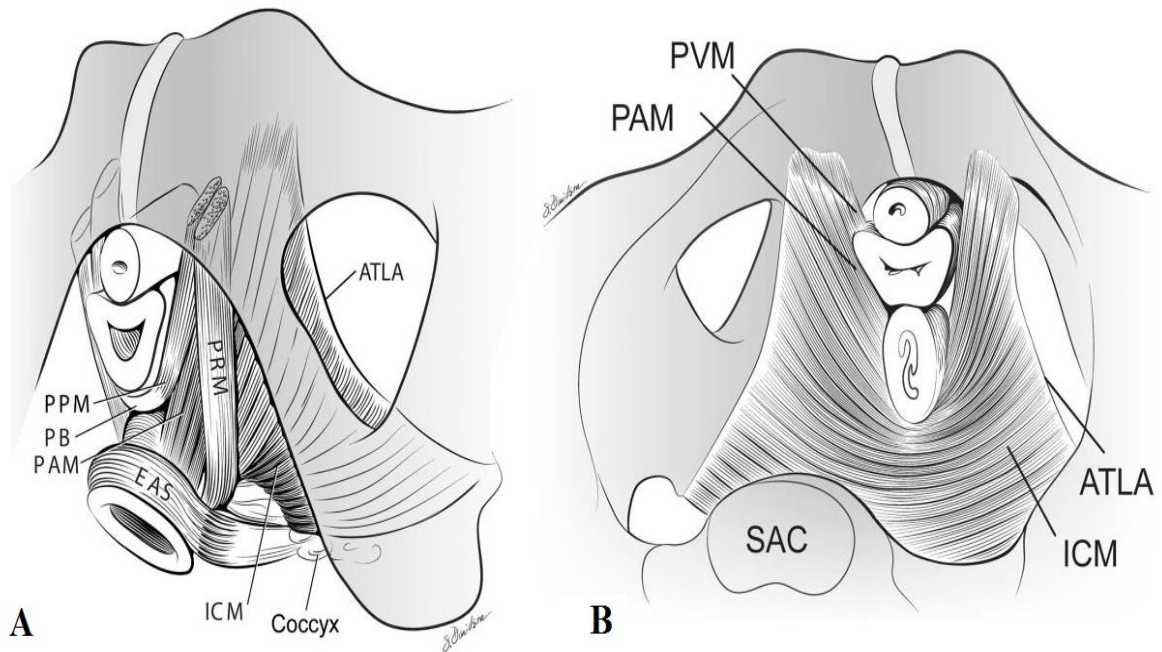


Figura 1. (A) Vista esquemática de los músculos del *levator ani*, después de remover las estructuras membranas vulvares y perineales. Se muestra el arco tendinoso del *levator ani* (ATLA), el esfínter externo del ano (EAS), el músculo puboanal (PAM), el cuerpo perineal (PB), la unidad de dos terminaciones del músculo puboperineal (PPM), el músculo iliococcígeo (ICM) y el músculo puborectalis (PRM). (B) El músculo del *levator ani* se observa sobre el promontorio sacro (SAC), se muestra el músculo pubovaginal (PVM), llamado también músculo pubococcígeo. PAM denota músculo puboanal, El músculo obturador interno ha sido removido para observar claramente el origen del *levator ani* (Tomado de Kearney y cols. 2004).

En humanos, los MPP presentan predominancia de fibras tipo I que son adecuadas para mantener el tono constante (Gosling y cols. 1981). Además, están inervados por el nervio LAN que se origina principalmente de las raíces espinales sacra (S3-S5) y viaja a lo largo de la superficie intrapelvica de los músculos del LAN (Barber y cols. 2002, Thor y DeGroat 2010).

Funcionalmente, los MPP participan en la respuesta sexual pues la distensión vaginal produce que los músculos se contraigan y faciliten el acto sexual (Shafik 1995). La contracción tónica de los MPP mantiene cerrado el hiato urogenital por la compresión de la vagina, la uretra y el recto hacia el hueso púbico, elevando así los órganos pélvicos (Petros

2009). Su contracción mantiene cerrada a la uretra para evitar pérdidas involuntarias de orina cuando un individuo realiza actividades físicas (el movimiento o cambio de postura, toser, estornudar, reír), debido a que se incrementa repentinamente la presión intra-abdominal, a este reflejo se le denomina guardián (Shefchyk 2001, Shefchyk 2002, Fowler y cols. 2008).

Por lo tanto, los MPP participan en funciones fisiológicas reproductivas (cópula y parto) y no reproductivas (continencia y expulsión de orina). Asimismo, la interacción entre los músculos y los ligamentos de soporte proveen una base para el sostén de vísceras de la cavidad pélvica (vagina, vejiga urinaria y uretra) (Ashton-Miller y cols. 2001, Baber 2005, Birder y cols. 2010) (figura 2).

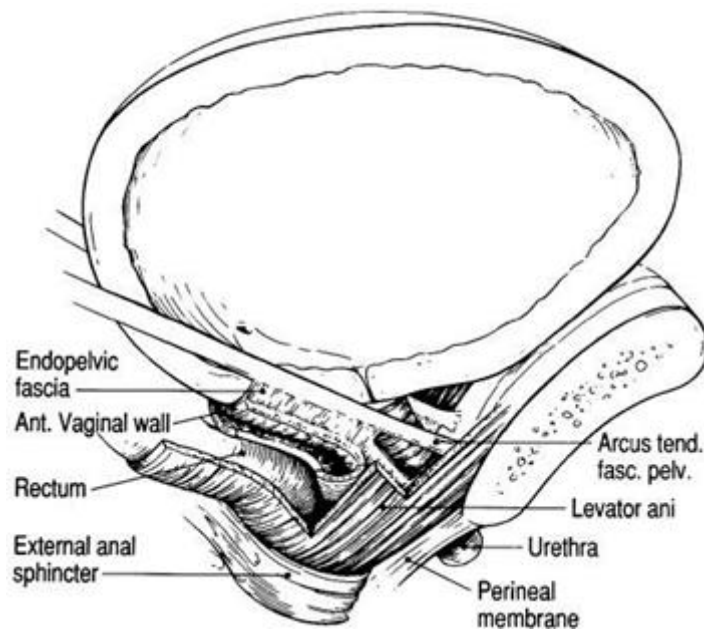


Figura 2. Vista lateral que muestra los componentes del sistema de soporte uretral. Note como los músculos del *levator ani* soportan la vagina y el cuello uretrovesical. Además, la fascia endopélvica bajo la uretra se une a los músculos del *levator ani*. Una contracción del músculo puede conducir a la elevación del cuello uretrovesical (Tomado de Ashton-Miller y cols. 2001).

La vagina es una víscera en forma de conducto que mide de 7 a 8 cm de largo y su ancho es de 2.5 a 3 cm (Geneser 2003). Tiene características fibromusculares y distensibles que se extienden desde el cuello uterino o cérvix hasta la vulva. Histológicamente, la vagina está compuesta por tres capas: a) la capa superficial formada por epitelio escamoso estratificado y una lámina propia, b) la capa media está constituida por musculatura lisa y c) la

capa más externa, es la adventicia formada por tejido conectivo, vasos sanguíneos y nervios (Geneser 2003, De Landsheere y cols. 2013). La vagina es un conducto que permite funciones reproductivas como la cópula y el parto (Quiroz 2004). Anatómicamente, la pared anterior de la vagina se relaciona con la base de la vejiga urinaria y con la uretra; de hecho, la uretra se encuentra fusionada en la pared vaginal anterior (Drake 2005).

El tracto urinario inferior (TUI) es un grupo de estructuras interrelacionadas que son responsables del almacenamiento y la expulsión de orina. Los componentes del TUI son la vejiga urinaria y la uretra, dichas estructuras actúan como una unidad funcional (Barber 2005, Howard y Laine 2006).

La vejiga urinaria es un órgano muscular donde se acumula la orina que llega por los uréteres y en ella permanece hasta su expulsión. Presenta dos regiones: el cuerpo y el cuello vesical. En el cuerpo se almacena la orina y en el cuello vesical se localiza el trígono, una estructura triangular donde desembocan los uréteres (Quiroz 2004). El cuello vesical se une a la uretra, una estructura tubular, que termina en el meato urinario externo. Histológicamente, la pared vesical está constituida por tres capas: adventicia, muscular (músculo detrusor) y la mucosa (Elbadawi 1996). En la mujer, la vejiga urinaria se ubica sobre el piso pélvico, dorsal al pubis y ventral al útero, cérvix y vagina (Elbadawi 1996, Dávila y cols. 2006).

La uretra es un conducto fibromuscular que sirve para permitir la continencia y la evacuación de la orina desde la vejiga urinaria hasta el meato uretral externo. La uretra femenina mide de tres a cuatro centímetros de largo y es aproximadamente de cinco milímetros de diámetro (Herschorn 2004), comienza en el meato uretral interno de la vejiga urinaria y termina en el meato uretral externo entre el clítoris y la apertura de la vagina (DeLancey 2000).

La pared uretral está formada por tres capas: mucosa, submucosa y muscular. La mucosa es una capa de epitelio escamoso estratificado. La submucosa está constituida por tejido conectivo y un prominente plexo arteriovenoso. El plexo vascular presenta vasos sanguíneos orientados longitudinalmente con abundantes arterias musculares, grandes arteriolas y venas de paredes delgadas. Se cree que la abundante red vascular contribuye a la formación de un sello hermético de importancia para el cierre uretral (Huisman 1983,

DeLancey y Ashton-Miller 2004). Finalmente, la capa muscular rodea el plexo vascular y está constituida de músculo liso y estriado (Ashton-Miller y DeLancey 2007).

El músculo liso que forma parte de la uretra tiene una capa interior gruesa de fibras musculares en forma oblicua y longitudinal que a su vez es rodeada por una capa delgada de fibras musculares orientadas circularmente. Este músculo liso comienza en el cuello vesical y se extienden a lo largo de la uretra. Asimismo, está asociado a una considerable cantidad de tejido conectivo. Se sugiere que el músculo liso orientado de manera longitudinal, acorta y amplía la luz uretral durante la micción, mientras que la contracción de la musculatura lisa circular cierra el lumen uretral. La capa de músculo liso circular es más prominente en la uretra media y sus fibras se entremezclan con las fibras circulares estriadas internas del músculo rabdoesfínter uretral (RE) (Huisman 1983, DeLancey y Ashton-Miller 2004, Dávila y cols. 2006).

La musculatura estriada asociada a la uretra, está constituida por un complejo muscular perineal relevante para la continencia urinaria. Este complejo muscular presenta dos porciones distintas: una porción superior, que corresponde al músculo RE y una porción inferior, que comprende al compresor uretral y el esfínter uretrovaginal. Estos músculos son continuos y se extienden de la base de la vejiga urinaria que se encuentra dentro de la cavidad pélvica y continúan a través del hiato urogenital del diafragma pélvico para extenderse alrededor de la vagina en la membrana perineal (Oelrich 1983, DeLancey 1988, Haab y cols. 2001, Drake y cols. 2005, Hinata y Murakami 2014).

El músculo RE es un músculo estriado, sus fibras rodean el lumen uretral. Se encuentra más engrosado en el tercio medio y forma un anillo circular con apariencia de rafe en la línea dorsal media (Elbadawi 1996). Sus fibras están dispuestas en una configuración circular y rodean el músculo liso de la pared uretral. Sus fibras musculares circulares internas se entremezclan con pocas fibras lisas circulares de la uretra y una gran cantidad de tejido conectivo (Oelrich 1983). El músculo RE se compone principalmente de fibras tipo I (contracción lenta) que son adecuadas para mantener el tono constante y en menor proporción fibras de tipo II (contracción rápida) (Gosling y cols. 1981, Morrison 2001, Rodríguez-Veiga y cols. 2005). En relación a ello, su contracción tónica contribuye a generar la presión intrauretral (PIU) necesaria para mantener la continencia urinaria (Gosling y cols. 1981,

Shefchyk 2002). Este músculo, se encuentra inervado por el nervio pudendo que se origina de las raíces nerviosas sacra (S2-S4) (Thorn y de Groat 2010, Montoya y cols. 2011).

La segunda porción del complejo muscular está constituido por el compresor uretral y el esfínter uretrovaginal. Consisten de dos bandas delgadas de músculo estriado que se arquean sobre la superficie anterior del tercio distal de la uretra, adyacente a la membrana perineal. El compresor uretral se origina a cada lado en el hueso isquiopúbico y forma un arco en la pared ventral de la uretra rodeando la parte distal. El esfínter uretrovaginal surge de la pared lateral de la vagina y sus fibras se entremezclan con el compresor uretral en el lado ventral de la uretra. Este músculo rodea la parte distal de la uretra y parte de la vagina pélvica, por lo tanto, actúa como un esfínter de la vagina y de la uretra distal (Oelrich 1983, Haab y cols. 2001, Drake y cols. 2005, Hinata y Murakami 2014). La contracción del compresor uretral y esfínter uretrovaginal podrían comprimir la uretra distal causando un aumento de la PIU (Oelrich 1983, Haab y cols. 2001, Barber 2005, DeLancey 1988) (figura 3).

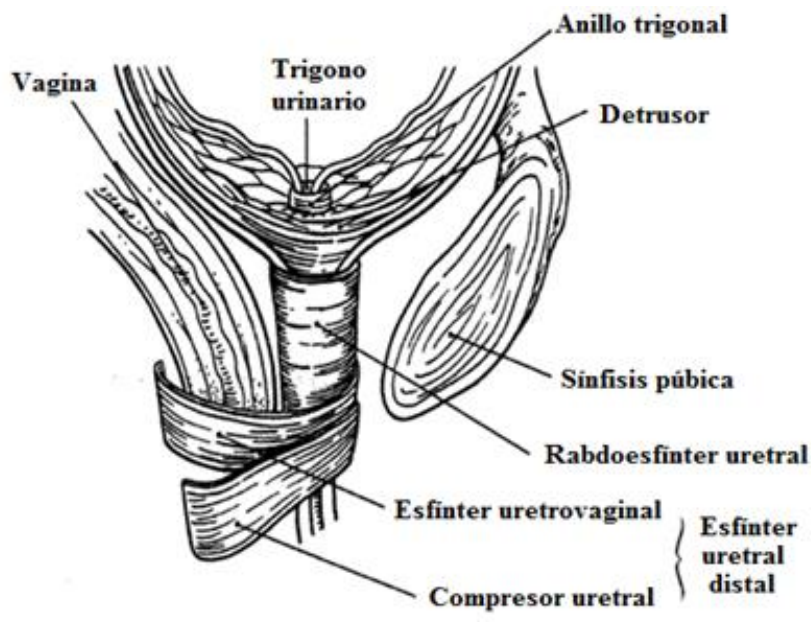


Figura 3: Organización arquitectónica del complejo de esfínteres. Localización de sus tres componentes: el rabdoesfínter uretral, el compresor uretral y el esfínter uretrovaginal (tomado de Haab y cols. 2001).

El funcionamiento apropiado de la uretra depende de la integridad de la musculatura lisa, la musculatura estriada (incluyendo el RE) y el complejo del LAN. Ambos complejos musculares son necesarios para la generación de la PIU para mantener la continencia urinaria. Asimismo, el tejido conectivo y vascular dentro del tejido uretral mantiene el cierre del lumen uretral y con ello la uretra permanezca cerrada durante la continencia (Howard y Laine 2006).

Cabe mencionar, que el músculo RE es considerado fundamental en mantener la PIU necesaria para la continencia urinaria, debido a su relación anatómica y control nervioso hacia la uretra (Shefchyk 2002, DeLancey y cols. 2003). Asimismo, el compresor uretral y el esfínter uretrovaginal contribuyen a incrementar la PIU y la presión intravaginal (PIV) para prevenir la fuga de orina cuando se incrementa la presión intraabdominal (Oelrich 1983).

Por otra parte, un músculo que conforma las paredes laterales de la cavidad pélvica es el obturador interno. En humanos, es un músculo plano, presenta forma de abanico (Drake y cols. 2005). Se origina en la superficie interna de la membrana obturatriz cubriendo gran parte del foramen obturador. Sus fibras musculares convergen para formar un tendón que abandona la cavidad pélvica a través del agujero ciático menor para insertarse en la superficie medial del trocánter mayor del fémur (Kalman 1978, Muhammad y cols. 2003, Drake y cols. 2005, Pine y cols. 2011) (figura 4). Su inervación surge de la superficie ventral de los segmentos medulares (L5, S1, S2 y S3) (Aung y cols. 2001, Drake y cols. 2005).

La función del músculo obturador interno (OI), se ha determinado principalmente a partir de estudios anatómicos (Gray 1989) y de algunos estudios registrando la actividad electromiográfica (EMG) en primates no humanos (Stem y Larson 1993) y en humanos (Hodges y cols. 2014). Por tal motivo, se le ha atribuido funciones diversas como la rotación lateral de la articulación en extensión y abducción, flexionando la cadera (Gray 1989, Drake y cols. 2005); también, se ha sugerido su participación en la estabilización de la cadera (Gray 1989). Incluso, se propone que la unión del LAN al arco tendinoso de la fascia pélvica (ATFP) (una condensación de la fascia que cursa a lo largo de la superficie del músculo OI y extiende anterior a la rama púbica y a la espina isquiática posteriormente) proporciona soporte para gran parte del diafragma pélvico anterior hacia el hueso de la pelvis (DeLancey 1994). El músculo OI a pesar de localizarse en la cavidad pélvica, no se le ha implicado con alguna función reproductiva o no reproductiva.

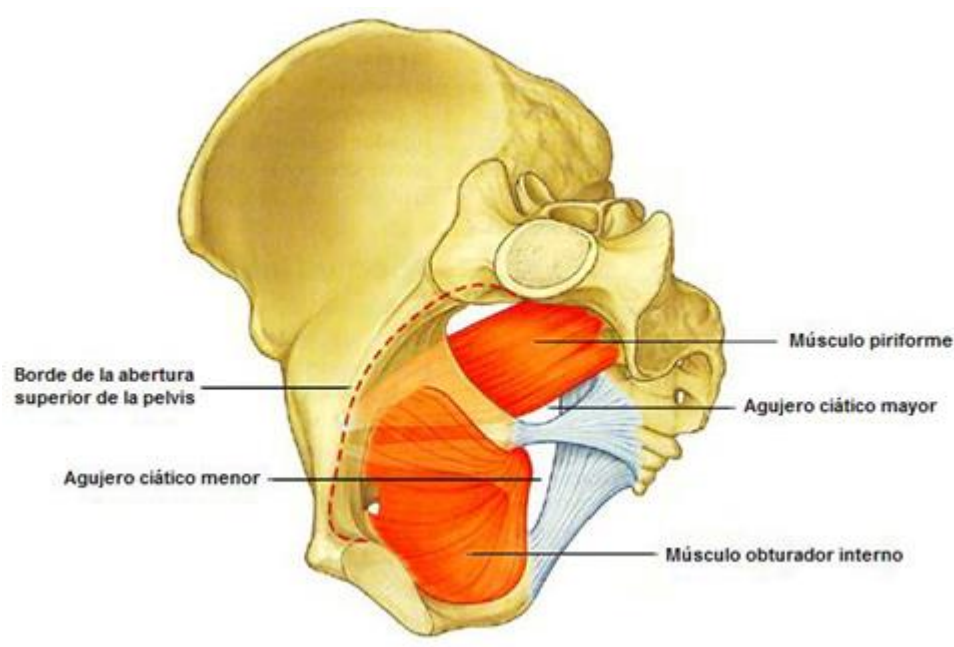


Figura 4: Músculos de las paredes de la pelvis. Vista medial del lado derecho de la pelvis, donde se muestra el músculo obturador interno y el músculo piriforme (tomado de Drake y cols. 2005).

Con respecto a lo anterior, se ha determinado que los músculos del área pélvica participan en diversas funciones del aparato urogenital femenino. Sin embargo, dada la disposición anatómica del aparato urogenital y la musculatura estriada asociada, procesos reproductivos como las múltiples gestaciones, partos y lactancias pueden dañar dichas estructuras (Huser y cols. 2012). Diversos estudios han asociado al parto como uno de los principales factores que afecta a la musculatura estriada pélvica (Allen y cols. 1990, Memon y Handa 2013).

2. ANTECEDENTES

2.1 Participación funcional de la musculatura asociada al aparato urogenital

Diversos estudios realizados en mujeres han contribuido a determinar la participación funcional de la musculatura estriada pélvica y perineal en procesos reproductivos y no reproductivos.

Con respecto a los procesos reproductivos, Shafik (1993) demostró que los músculos perineales: bulboesponjoso e isquiocavernoso se contraen reflejamente en respuesta a la estimulación mecánica de la vagina (reflejo vaginocavernoso). Además, propuso que la contracción de estos músculos durante el parto puede prevenir que la cabeza del feto se deslice rápidamente del cérvix hacia el exterior, evitando así el desgarramiento de la entrada vaginal.

Asimismo, Shafik (1995) registró la actividad EMG del músculo puborectalis en respuesta a la distensión vaginal, a este reflejo se le llamó vagino-puborectalis; se determinó que este músculo parece tener un importante papel en el acto sexual. También, se ha propuesto que la contracción del músculo bulboesponjoso aumenta la presión intravaginal y así reduce el diámetro vaginal para prevenir un prolapso uterino durante los repentinos aumentos de presión intraabdominal (Shafik y cols. 2002).

Por otra parte, se ha mostrado la participación de la musculatura estriada en procesos no reproductivos, como la micción (continencia y expulsión de orina). La continencia urinaria es mantenida cuando la presión intrauretral excede la presión intravesical durante el almacenamiento de la orina y ante situaciones de esfuerzo, debido al incremento repentino de la presión intraabdominal (DeLancey y cols. 2008).

Estudios en mujeres han demostrado que la contracción voluntaria de los MPP incrementa significativamente la PIU (Bo y Talseth 1997, Teleman y Mattiasson 2007). También, se determinó que su contracción contribuye en la generación e incremento de la presión intravaginal (Madill y McLean 2006). Asimismo, se ha propuesto que la contracción del músculo puborectalis tiene un importante papel en la génesis de la presión intravaginal (Jung y cols. 2007). Cabe resaltar, que además de los MPP se ha destacado la importancia del músculo RE en la generación de la PIU necesaria para mantener la continencia urinaria (DeLancey y cols. 2003).

Estudios hechos en animales han servido para comprender la participación de la musculatura estriada pélvica y perineal en la función uretral. En la perra se ha evaluado la participación de los MPP y RE en la generación de la PIU durante la elevación de la presión intraabdominal. Se encontró que la musculatura estriada es la responsable de generar más del 50% de la PIU. De tal manera que tiene la función de transmitir activamente la presión de las vísceras abdominales en el momento del estornudo (Tanagho y cols. 1969, Thüroff y cols. 1982).

En la rata (Kamo y cols. 2003, Kamo y cols. 2004, Kamo y cols. 2007) y la gata (Julia-Guilloteau y cols. 2007), se ha evaluado la PIU durante la elevación de la presión intraabdominal. Los resultados mostraron un incremento significativo de la PIU en la uretra distal, donde se localiza el músculo RE. Este incremento de la PIU es regulado por un mecanismo de cierre uretral activo, donde los MPP y RE se contraen para cerrar la uretra durante la continencia urinaria, siendo el músculo RE el más importante y el que permite la continencia.

El RE considerado de gran importancia para llevar a cabo la continencia urinaria y expulsión de orina; su función difiere entre especies de mamíferos. En humanos y gatos, durante el almacenamiento de la orina, la vejiga se encuentra relajada pero el músculo RE se contrae de manera tónica para mantener la uretra cerrada. Durante la expulsión de la orina, la actividad del músculo RE se inhibe mientras que la vejiga se contrae, esto permite el flujo de orina a través de la uretra (Fowler y cols. 2008).

Estudios en rata han evaluado la actividad EMG del músculo RE durante la micción. Durante el vaciamiento vesical, el músculo RE presenta *bursts* o ráfagas de actividad tónica que permiten la eficiente expulsión de orina y su denervación provoca cambios en la función urodinámica. En rata hembra, la actividad del músculo RE genera picos de presión intravesical y ayuda al eficiente vaciamiento vesical (Streng y cols, 2004, Cruz y Downie 2005, Shih-Ching Chen y cols. 2012).

En la coneja doméstica, se determinaron las propiedades funcionales de un músculo que se propone participa como parte del complejo de esfínteres, denominado bulboglandular o RE. Durante el almacenamiento, el bulboglandular mostró ráfagas de actividad tónica que gradualmente disminuyen hasta inactivarse y en ese momento se inicia la expulsión de orina.

Asimismo, se demostró que su contracción produce incremento en la PIU, concluyendo que el bulboglandular funciona como esfínter en la micción de la coneja (Corona-Quintanilla y cols. 2015).

En otro estudio, en coneja, se determinó el efecto de la estimulación eléctrica del músculo puborectalis (coccígeo) en la generación de la presión vaginal, uretral y anal. La estimulación eléctrica del músculo RE aumentó solo la PIU. De esta manera, la contracción del músculo puborectalis y la del RE contribuyen en la generación de la presión uretral en la coneja (Rajasekaran y cols. 2012).

Con respecto al músculo OI, su participación funcional se ha determinado principalmente en base a estudios anatómicos. Se le ha atribuido funciones diversas como: rotación externa de la cadera y rotación lateral de la articulación en extensión y abducción flexionando la cadera (Gray 1989, Drake y cols. 2005). También, se ha propuesto que la orientación del músculo rotador de la cadera en paralelo con el cuello femoral sugiere un rol en la estabilización de la cadera para mantener la cabeza femoral en el acetabulum (Gray 1989). Además, se propone que la unión del LAN a la fascia subyacente al OI proporciona soporte (unión estable) para los MPP (DeLancey 1994). Incluso, se sugiere que esta relación anatómica puede contribuir al soporte de mecanismos de continencia (Hulme y Nevin 1999, Tuttle y cols. 2016).

Pocos estudios han registrado la actividad EMG del músculo OI para aclarar su función. Stern y Larson (1993), registraron la actividad EMG del músculo OI durante ciertas posturas en primates no humanos como el mono araña, el gibón, el orangután y el chimpancé. Para ello, utilizaron la técnica de telemetría electromiográfica acoplada a un registro simultáneo de video para observar las posturas de los primates no humanos. Este estudio se centró en analizar el bipedalismo, el escalonado vertical, pero también se consideró ciertas posturas y comportamientos aleatorios para elucidar la participación funcional del OI. Los resultados mostraron que el músculo OI es activo durante la posición bípeda, pero existen diferencias entre especies. La abducción horizontal y extensión fueron realizadas en los sujetos que escalonaron verticalmente, en estas situaciones el músculo OI es activo. Asimismo, el músculo es activo durante la rotación lateral cuando este movimiento es acompañado por una abducción.

En seres humanos, usando imágenes de ultrasonido para guiar la colocación de electrodos, se ha registrado la actividad EMG del músculo OI para proveer la primera evidencia de su activación durante funciones simples. Posteriormente, los participantes realizaron esfuerzos isométricos de la cadera como: flexión/extensión, abducción/aducción, rotación interna y externa de la cadera y rotación de la cadera de pie. Los registros mostraron que la amplitud EMG del músculo OI es mayor durante la extensión de la cadera, rotación externa de la cadera y abducción, con mínima o no activación en otras direcciones (Hodges y cols. 2014).

Sin embargo, a pesar de localizarse en la cavidad pélvica, no se le ha implicado con alguna función reproductiva o no reproductiva.

2.2 Efecto de la multiparidad sobre la musculatura asociada al aparato urogenital

Existen factores considerados de riesgo como la gestación y el número de partos que están relacionados con la presencia de desórdenes del piso pélvico.

Durante el embarazo ocurren cambios biomecánicos y hormonales, así como el incremento de peso del feto en las últimas semanas de gestación. Ello puede causar daño a los componentes del piso pélvico, como la musculatura e inervación. En el parto, durante la segunda fase de labor las fibras musculares y/o nervios se sobredistienden longitudinalmente para permitir el descenso progresivo de la cabeza fetal a través de la dilatación completa del cérvix. De manera que si la segunda fase de trabajo de parto se prolonga, puede causar daño a la musculatura estriada (Memon y Handa 2013).

Por tal motivo, diversos estudios en mujeres han asociado el parto como uno de los principales factores que causa denervación parcial del piso pélvico. Allen y cols. (1990) realizaron un estudio con 96 mujeres y mostraron que el parto vaginal causa daño a la inervación de los músculos del piso pélvico. Sin embargo, en el 80% de los casos hay re-inervación en los músculos del piso pélvico, después del parto vaginal. Además, mujeres que tuvieron una prolongada segunda fase de trabajo de parto, mostraron evidencia de mayor daño en los nervios.

Para identificar la relación entre el período de distensión o estiramiento máximo de los tejidos blandos del canal del parto y su denervación Lien y cols. (2004) desarrollaron un

modelo geométrico en 3D de los músculos del piso pélvico, esto con el fin de predecir el estiramiento de los músculos del *levator ani*, durante la segunda fase de trabajo de parto. Se obtuvieron una serie de imágenes de resonancia de mujeres vírgenes sanas. Se determinó que el estiramiento de los músculos es proporcional al tamaño de la cabeza del feto y se encontró que el músculo pubovisceral medial se somete a un gran estiramiento durante el parto. Por lo tanto, parece estar en mayor riesgo de sufrir lesiones relacionadas con la distensión de sus fibras musculares.

En otro estudio realizado en mujeres que tuvieron partos vaginales, se encontró una disminución significativa de la presión intravaginal e intra-anal durante la contracción de los músculos del piso pélvico en comparación con los niveles registrados durante el embarazo (Meyer y cols. 1998).

También se ha correlacionado la alta prevalencia de incontinencia urinaria con el parto y el daño que puede causar sobre el aparato urogenital y su musculatura estriada. DeLancey y cols. (2003) realizaron un estudio para describir la apariencia y la ocurrencia de anomalías en los músculos del *levator ani* mediante escaneo por resonancia magnética en mujeres nulíparas y en mujeres después de su primer parto vaginal. En la evaluación de los escaneos se identificaron anomalías de los músculos del *levator ani* en las mujeres primíparas y no en las nulíparas. Estas anomalías se identificaron en el músculo pubovisceral y en el músculo iliococciógeo.

En modelos animales también se ha demostrado que el parto causa daño a la musculatura estriada y/o a sus componentes nerviosos. Un estudio realizado en rata encontró que el parto induce desorganización histológica al RE y de su inervación (Rocha y cols. 2007), esto debido al daño ocasionado por la distensión muscular durante la gestación y expulsión fetal.

En coneja se propone que durante el parto el feto ejerce presión sobre el aparato urogenital y sobre los músculos pélvicos y perineales, provocando daño a las estructuras y a su inervación (Fajardo y cols. 2008, Martínez-Gómez y cols. 2011).

Sin embargo, falta identificar el mecanismo de daño o alteración por la multiparidad en los músculos directamente relacionados con la uretra, como el RE y OI. Por lo tanto, resulta relevante evaluar la participación de la musculatura pélvica en modelos animales, como la

coneja doméstica, para proporcionar una mejor comprensión acerca de las patologías asociadas a la experiencia reproductiva.

2.3 La coneja doméstica como modelo de estudio

La coneja doméstica (*Oryctolagus cuniculus*) es un buen modelo para estudiar procesos fisiológicos reproductivos: la cópula y el parto y no reproductivos: micción y defecación, debido a su topografía anatómica y fisiológica (Cruz y cols. 2002, Fajardo y cols. 2008, Corona-Quintanilla y cols. 2009, Cruz y cols. 2010, Martínez-Gómez y cols. 2011).

En la coneja, la cópula y el parto son rápidos comparados con otras especies politocas como la rata. Se caracteriza por tener cópulas con una duración menor a un minuto, implicando para el macho una sola intromisión acompañada de una serie breve de acelerados movimientos pélvicos, asegurando la eyaculación y la ovulación refleja (Beyer y cols. 1980). El parto sucede alrededor del día 31 de gestación y tiene una duración de diez minutos en promedio y expulsa diez o más crías (Hudson y cols. 1999).

Otro proceso fisiológico que se lleva a cabo en el aparato urogenital es la micción; tanto machos como hembras presentan diferentes patrones conductuales para expulsar la orina: en chorro, chisguete, goteo y en rocío, existiendo diferencias con respecto a la cantidad de orina evacuada y el blanco al que es dirigida (Bell 1980, Martínez-Gómez y cols. 2007). Aunado a dichas características conductuales se ha descrito musculatura estriada relacionada anatómicamente con el aparato urogenital, lo cual implica su participación en la regulación funcional de la micción (Martínez-Gómez y cols. 1997).

El aparato urogenital de la coneja presenta dos úteros que terminan en dos cervices, unidos a una vagina larga (Martínez-Gómez y cols. 1997), de aproximadamente 18 cm de largo, con tres regiones: la vagina abdominal, de aproximadamente 11 cm que se extiende desde los cérvix hasta la parte superior de la sínfisis púbica; la vagina pélvica, de aproximadamente 4 cm, se encuentra en la cavidad pélvica y se encuentra cubierta por un prominente plexo venoso; la vagina perineal, de aproximadamente 3 cm que se localiza fuera de la cavidad pélvica (Xelhuantzi 2006).

La uretra mide en promedio 30 mm de longitud y se distinguen tres regiones: la región proximal unida al cuello de la vejiga urinaria, la región media cercana a la vagina pélvica y la

distal que desemboca en la vagina pélvica, formando un único conducto urogenital donde ocurren procesos reproductivos y no reproductivos (Xelhuantzi 2006, Rodríguez-Antolín y cols. 2009).

Asociados al aparato urogenital inferior se encuentran los músculos estriados pélvicos y perineales, algunos de los cuales son homólogos a los de la mujer (Martínez-Gómez y cols. 1997, Cruz y cols. 2002, Cruz y cols. 2010) (figura 5).

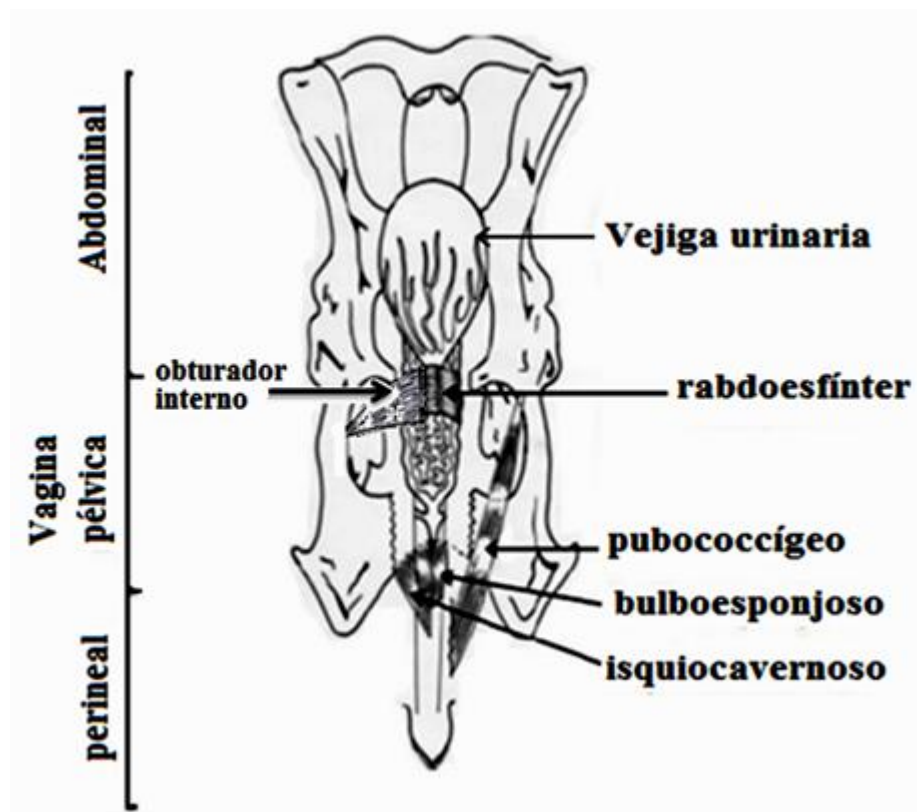


Figura 5. Vista ventral del aparato urogenital inferior de la coneja. Se observan las tres regiones de la vagina (abdominal, pélvica y perineal) y la musculatura estriada adyacente a la uretra y a la vagina. En la parte ventral de la vagina pélvica se aprecia la uretra distal, formando un conducto urogenital (modificado de Martínez-Gómez y cols. 1997).

2.3.1 Anatomía del músculo obturador interno y bulboglandular de la coneja

La musculatura estriada asociada al aparato urogenital se clasifica en dos grupos: músculos pélvicos y perineales. Los músculos pélvicos se encuentran dentro de la cavidad pélvica (coccígeo, iliococcígeo, pubococcígeo, obturador externo y obturador interno). Los músculos perineales están asociados con la porción vaginal (isquiocavernoso, bulboesponjoso y bulboglandular o RE) (Martínez-Gómez y cols. 1997, Cruz 2002, Cruz y cols. 2010).

Los músculos de interés para este trabajo son el obturador interno y el bulboglandular o RE. El músculo OI se localiza en la región ventral al plexo venoso, la vagina pélvica y probablemente con la uretra (figura 6) (Martínez-Gómez y cols. 1997, Cruz 2002, Sánchez-Zayas 2014).

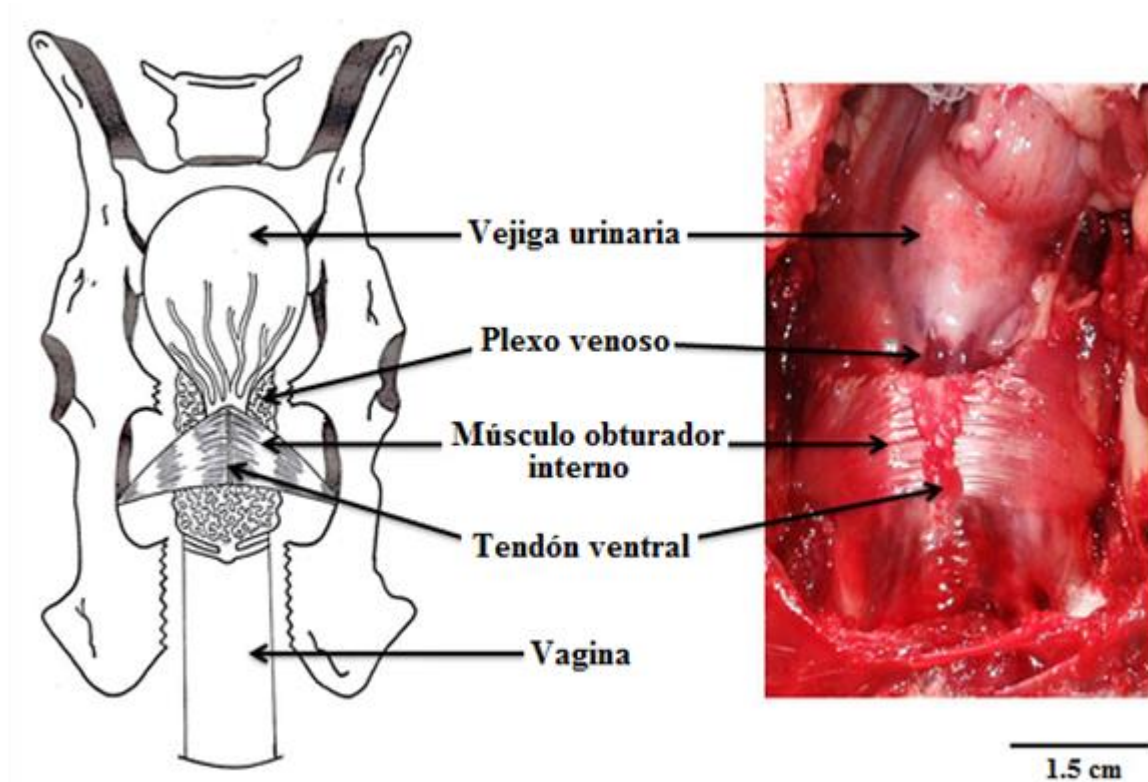


Figura 6. Vista ventral de la región pélvica de la coneja. En el dibujo y en la foto se ha removido la sínfisis púbica, se muestran las estructuras adyacentes al músculo obturador interno, incluyendo la vejiga urinaria, la uretra, el plexo venoso y la vagina pélvica (tomado de Sánchez-Zayas 2014).

El OI es un músculo bilateral que cubre la pared ventral de la vagina pélvica y parte del foramen obturador. Presenta una estructura plana con forma triangular; se origina en la superficie interior de la pared anteromedial de la pelvis ocupando la mitad de la parte rostral de la sínfisis púbica mediante un tendón pegada a esta, donde se observa que las fibras se adosan al tendón ventral por medio de tejido conectivo. Las fibras de cada músculo convergen en una dirección ventrolateral para formar un tendón que sale de la pelvis para insertarse posteriormente en la superficie medial del trocánter mayor del fémur (figura 7) (Sánchez-Zayas 2014).

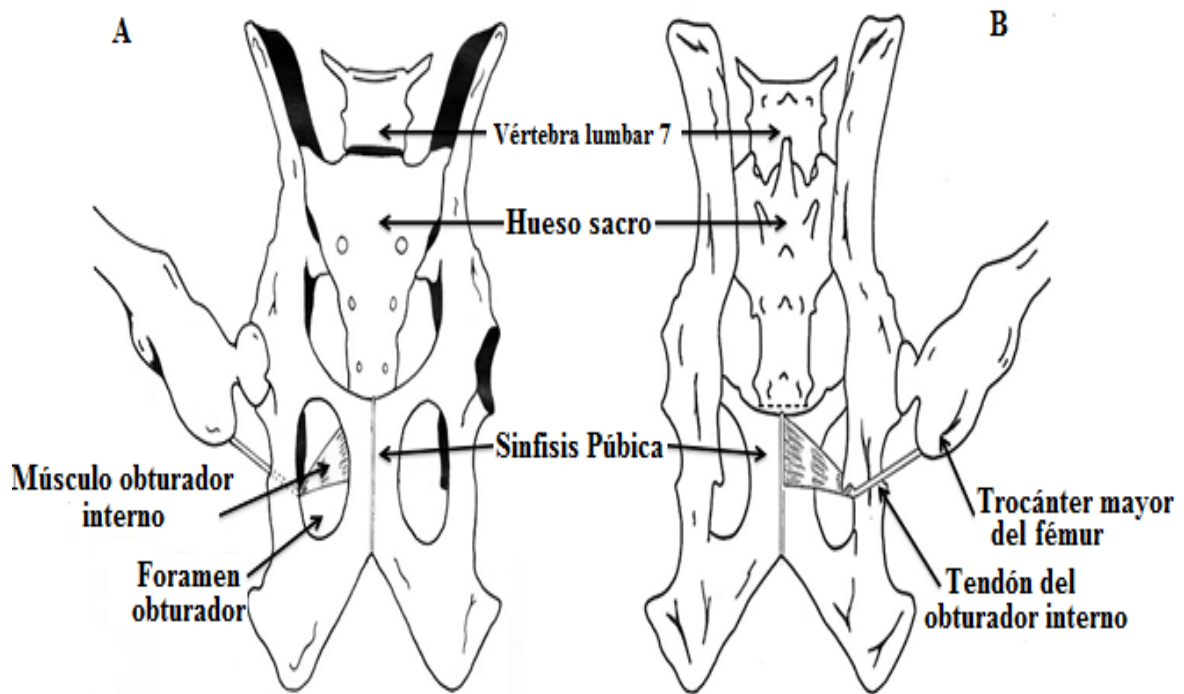


Figura 7. Origen e inserción del músculo obturador interno de la coneja. A, vista ventral. B, vista dorsal. Se observa que el músculo obturador interno se origina en la superficie interior de la pared anteromedial de la pelvis ocupando la mitad de la pared rostral de la sínfisis púbica mediante un tendón pegada a esta. Las fibras de cada músculo convergen para formar un tendón que sale de la pelvis para insertarse en el trocánter mayor del fémur (tomado de Sánchez-Zayas 2014).

Con respecto a su inervación, se ha descrito que del tronco S2-S3 da origen a tres ramas, de las cuales, una de ellas contribuye junto con otra rama del tronco lumbosacro en la formación del nervio que se dirige al músculo OI (Hernández 2005). Otro estudio describió que el OI se encuentra inervado por el nervio que surge de la anastomosis de ramas que surgen de los forámenes intervertebrales de la primera hasta la tercera vértebra sacra (S1, S2 y S3) (Sánchez-Zayas 2014).

La estimulación eléctrica del músculo OI produce contracción de sus fibras de la periferia hacia el centro del músculo, haciendo compresión en el plexo venoso, la vagina pélvica y posiblemente en la uretra (Cruz 2002, Sánchez-Zayas 2014). Además, la estimulación unilateral de este músculo provocó movimientos de la pierna ipsilateral (Carro 1997, Martínez-Gómez y cols. 1997).

Con respecto al músculo bulboglandular o RE, se encuentra anatómicamente relacionado con el plexo venoso, la vagina pélvica y la uretra. Este músculo está constituido de una fina capa de fibras estriadas asociadas a la uretra (Martínez-Gómez y cols. 1997, Cruz 2002, López-Juárez 2011) (figura 8).

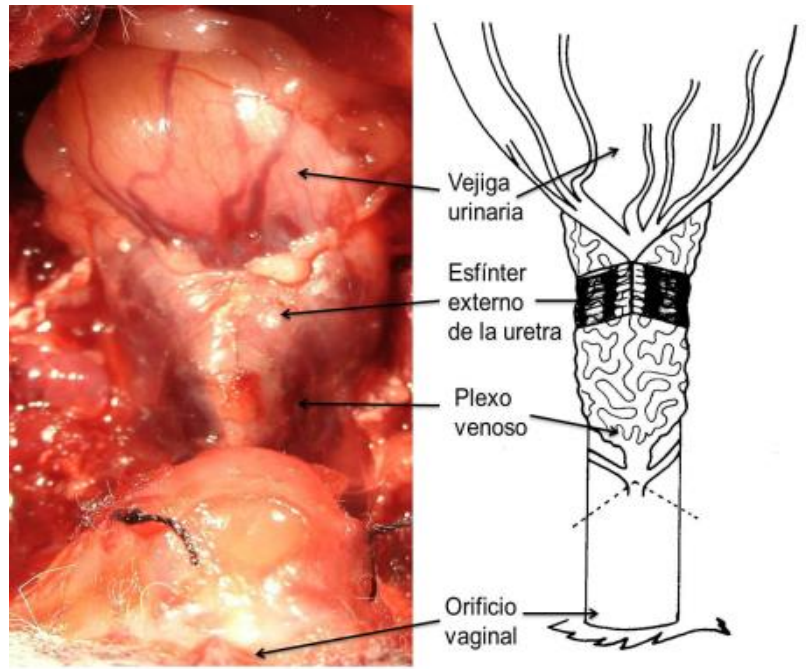


Figura 8. Fotografía y esquema del aparato urogenital de la coneja. Vista ventral donde se muestran las estructuras adyacentes al bulboglandular o RE, incluyendo vejiga urinaria, uretra y plexo venoso; el músculo obturador interno fue removido para poder observar las estructuras internas (Tomado de López-Juárez 2011).

Las fibras de la musculatura estriada del bulboglandular o RE están unidas a la porción ventral y dorsal del plexo venoso por medio de un tendón ventral (ligamento uretral) y a un tendón dorsal. Sus fibras musculares están orientadas circularmente, formando un cinturón de fibras estriadas que rodean el plexo venoso, la vagina pélvica y la uretra distal en la línea media. Se observa un incremento en el número de fibras justo donde se hace un solo conducto de la uretra con la vagina pélvica. Además, las fibras se adosan al tendón ventral por medio de tejido conectivo. Cabe señalar, que el tendón ventral de esta musculatura estriada se

comparte con las fibras del músculo obturador interno, por lo que las fibras estriadas de ambos músculos comparten parte del tejido conectivo que los unirá al tendón ventral (López-Juárez 2011, Corona-Quintanilla y cols. 2015) (figura 9).

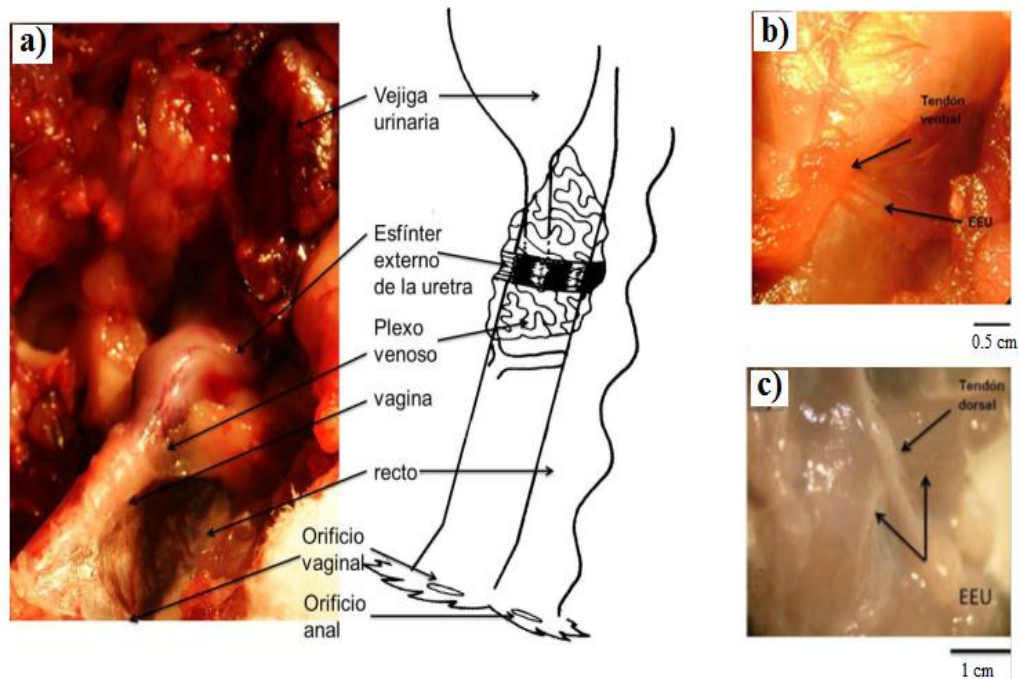


Figura 9. Fotografías y esquema del aparato urogenital y vista ventral y dorsal de los tendones del músculo bulboglandular o RE de la coneja. a) vista lateral de la vejiga urinaria, la desembocadura de la uretra, músculo bulboglandular, plexo venoso, recto, vagina, ano y orificio vaginal. b) vista ventral, se observa la musculatura estriada del bulboglandular y el tendón ventral al que se unen. c) vista dorsal, se observa el tendón dorsal y la disposición de las fibras de la musculatura estriada del músculo bulboglandular. Tanto en la vista ventral como en la dorsal se observa la disposición de manera circular de las fibras estriadas del músculo bulboglandular (Tomado de López-Juárez 2011).

Las fibras estriadas del músculo bulboglandular o RE están inervadas principalmente por ramas que emergen de los segmentos sacros S2-S3 (López-Juárez 2011, Corona-Quintanilla y cols. 2015).

La estimulación eléctrica del músculo bulboglandular o RE provocó una contracción concéntrica, es decir, el movimiento del músculo fue hacia el centro de la uretra y la vagina pélvica. Se observó que su contracción ejerce presión sobre el plexo venoso contra las paredes

de la uretra y la vagina pélvica. Se ha sugerido que su contracción produce resistencia y mantenimiento de la presión uretral (Martínez-Gómez y cols. 1997, Cruz 2002, López-Juárez 2011, Corona-Quintanilla y cols. 2015).

Con base en los estudios de anatomía y de acuerdo a la contracción que presentan los músculos obturador interno y bulboglandular en relación a las vísceras urogenitales, como la vagina pélvica y uretra, se sugiere su probable participación en procesos reproductivos (cópula y parto) y no reproductivos (micción, defecación) de la coneja.

2.3.2 Actividad refleja de los músculos obturador interno y bulboglandular de la coneja

Estudios previos han contribuido a determinar la posible participación funcional del músculo OI y bulboglandular o RE en diferentes procesos fisiológicos. En relación a ello, se ha descrito la actividad EMG refleja del músculo OI y bulboglandular en respuesta a la estimulación vaginocervical (Cruz 2002).

El músculo OI presentó actividad EMG refleja durante la estimulación de la vagina perineal y pélvica. La estimulación de la vagina abdominal y del cérvix no indujo respuesta electromiográfica, pero se presentó una postdescarga al término de la estimulación (figura 10). Se sugiere que el músculo OI podría activarse reflejamente durante la cópula en la coneja (Cruz 2002).

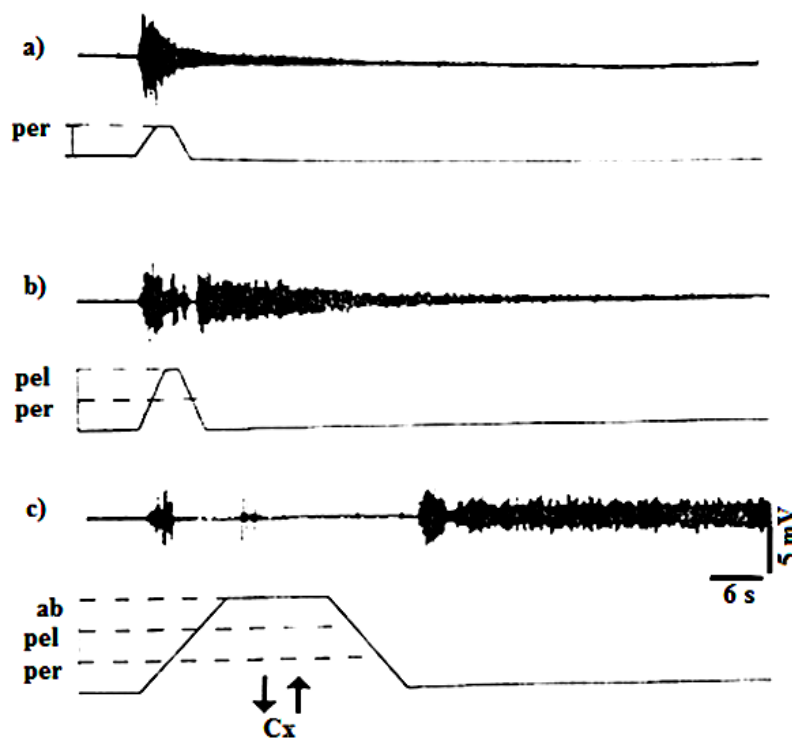


Figura 10. Actividad EMG refleja del músculo obturador interno de la coneja en respuesta a la estimulación vaginocervical. La estimulación de la vagina perineal y pélvica indujo actividad EMG durante la estimulación, aunque de menor amplitud cuando se alcanzó a tocar la vagina pélvica. Durante la estimulación de la vagina abdominal y del cérvix no presentó actividad EMG refleja pero si al terminar la estimulación, presentándose postdescarga de larga duración. Se muestra cada una de las regiones de la vagina estimulada mecánicamente: perineal (per), b) pélvica (pel), c) abdominal (ab) y cérvix (cx) (tomado de Cruz 2002).

Con respecto al músculo bulboglandular, la estimulación de la vagina perineal y pélvica indujo actividad EMG refleja durante el periodo de estimulación y presentó una postdescarga después de la estimulación. Sin embargo, al estimular la vagina abdominal y el cervix no se presentó actividad EMG refleja (figura 11). También, se sugiere que el músculo bulboglandular se active reflejamente durante la cópula en la coneja (Cruz 2002).

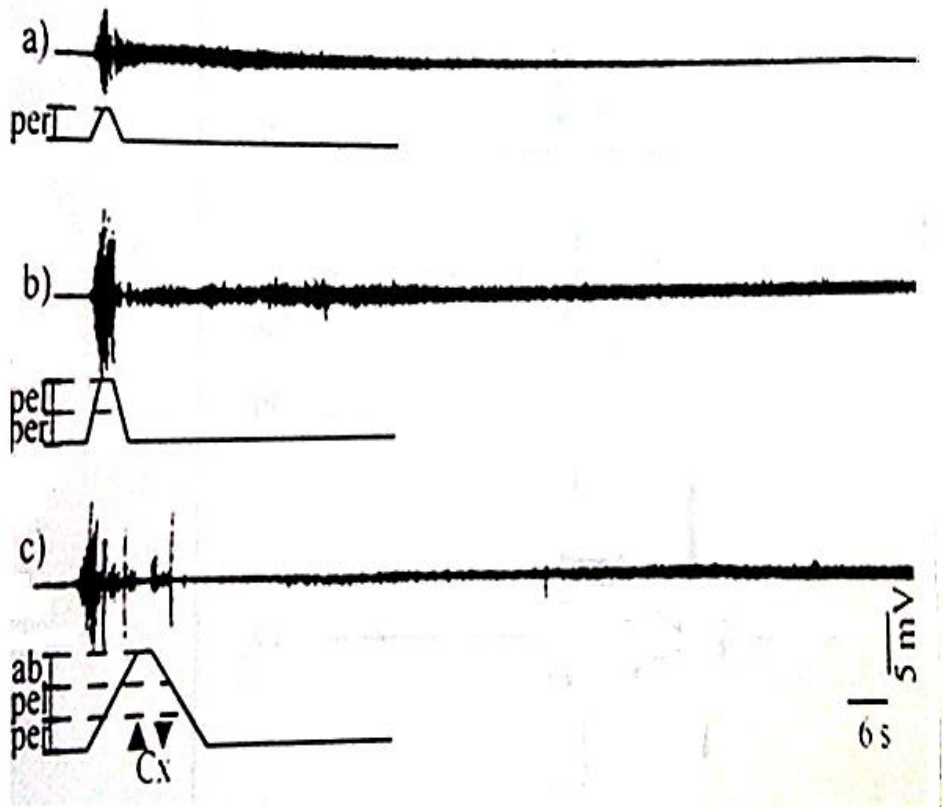


Figura 11. Actividad EMG refleja del músculo bulboglandular de la coneja en respuesta a la estimulación vaginocervical. La estimulación de la vagina perineal y pélvica indujo actividad EMG durante el periodo de estimulación, después de la estimulación presentó postdescarga de menor amplitud y larga duración. Durante la estimulación de la vagina abdominal hasta el cervix no presentó actividad EMG refleja. Se muestra cada una de las regiones de la vagina estimulada mecánicamente: a) perineal (per), b) pélvica (pel), c) abdominal (ab) y cervix (cx) (tomado de Cruz 2002).

También, se ha registrado la actividad EMG refleja del músculo OI y bulboglandular en respuesta a la distensión vaginal. Para ello, un globo inflado del tamaño de una cría fue desplazado en cada una de las regiones del tracto vaginal hasta su expulsión, para simular la estimulación mecánica de la cría durante su expulsión en el parto (Cruz 2002).

El músculo OI presento actividad EMG de corta duración durante la distensión de la vaginal abdominal que desapareció cuando el globo fue desplazado a la vagina pélvica. La distensión de la vagina perineal produjo respuesta EMG y postdescarga de larga duración (figura 12) (Cruz 2002).

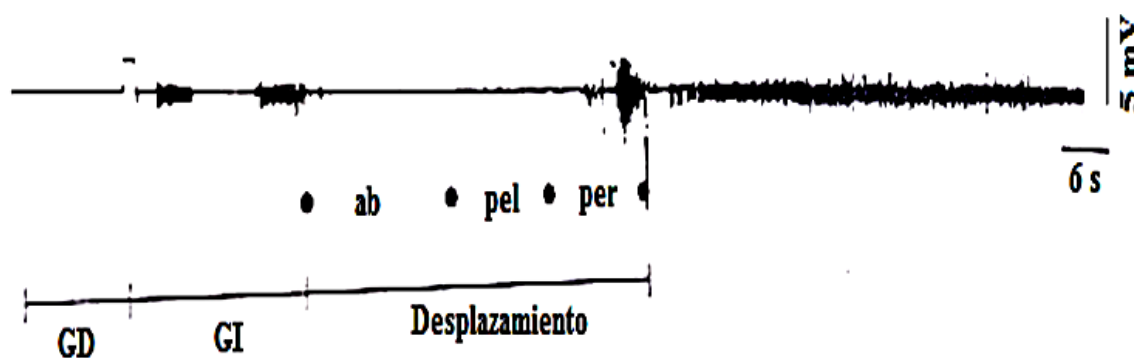


Figura 12. Actividad EMG refleja del músculo obturador interno de la coneja en respuesta a la distensión vaginal. Al inflar el globo en la vagina abdominal se obtuvo actividad EMG de corta duración que desapareció cuando el globo fue desplazado a la vagina pélvica. La distensión de la vagina perineal produjo respuesta EMG de mayor amplitud y una postdescarga de larga duración. Se muestra la distensión de cada una de las regiones del tracto vaginal: a) perineal (per), b) pélvica (pel) y c) abdominal (ab). Los círculos llenos delimitan las regiones del tracto vaginal. GD: globo desinflado, GI: globo inflado (tomado de Cruz 2002).

En el músculo bulboglandular, la distensión de la vagina abdominal produjo actividad EMG refleja que se mantuvo mientras el globo fue desplazado en esa región. Cuando el globo distendió la vagina pélvica, la actividad EMG desapareció. No obstante, la distensión de la vagina perineal indujo la actividad EMG refleja (figura 13) (Cruz 2002).

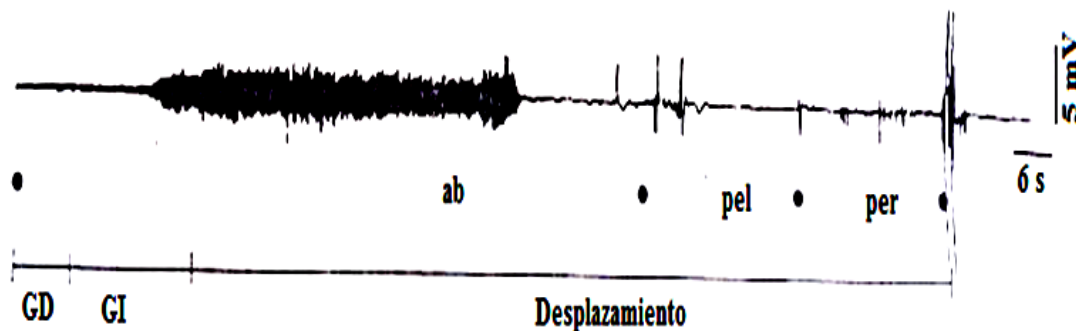


Figura 13. Actividad EMG refleja del músculo bulboglandular de la coneja en respuesta a la distensión vaginal. El desplazamiento del globo en cada región vaginal mostró que la distensión de la vagina abdominal y perineal, indujo actividad EMG refleja. Contrario a lo que sucede al distender la vagina pélvica. Se muestra la distensión de cada una de las regiones del tracto vaginal: a) perineal (per), b) pélvica (pel) y c) abdominal (ab). Los círculos llenos delimitan las regiones del tracto vaginal. GD: globo desinflado, GI: globo inflado (tomado de Cruz 2002).

Por otra parte, se ha registrado la actividad EMG refleja del músculo OI y bulboglandular durante la micción. Para ello, se registraron simultáneamente tanto cistometogramas y electromiogramas durante la micción inducida (Sánchez-Zayas 2014, Corona-Quintanilla y cols. 2015).

El músculo OI mostró actividad EMG refleja diferencial y secuencial durante la micción. Durante la fase de almacenamiento de la orina, el músculo se activa reflejamente de manera fásica y durante la fase de expulsión, el músculo inhibe su actividad; posteriormente, el músculo presenta postdescarga. En base a estos resultados, se propone que su contracción participe en la continencia urinaria, la expulsión de la orina y en modular la cantidad de orina emitida durante la micción en la coneja (figura 14) (Sánchez-Zayas 2014).

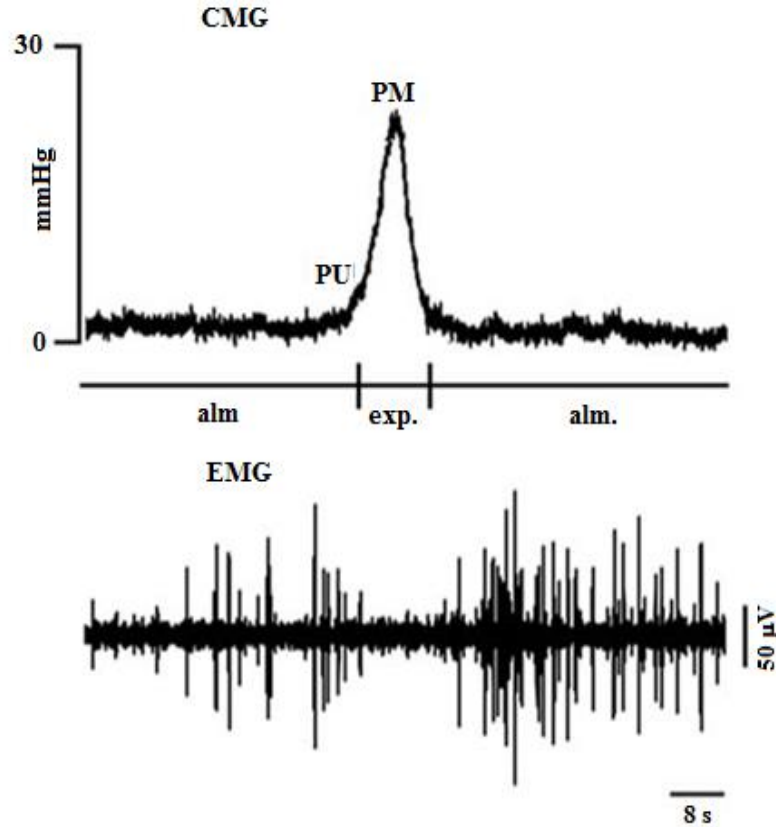


Figura 14. Registros simultáneos de cistometogramas y electromiograma del músculo obturador interno obtenidos durante la micción en la coneja. El EMG muestra que el músculo obturador interno se activa de manera fásica durante la fase de almacenamiento, se inhibe su actividad en la fase de expulsión y continúa su actividad después de la expulsión. PU = presión umbral, PM = Presión máxima, aml. = almacenamiento, exp. = expulsión (tomado de Sánchez-Zayas, 2014).

En otro estudio se determinó el efecto de la contracción del músculo bulboglandular sobre la presión uretral y su participación durante la micción inducida; se demostró que la estimulación eléctrica del músculo bulboglandular ejerce presión sobre la uretra. Además muestra actividad tónica en ráfagas durante la fase de almacenamiento de la orina, su actividad se inhibe durante la fase de expulsión y nuevamente se activa (figura 15). Por otro lado, el bloqueo farmacológico (con lidocaína) de su actividad provoca cambios significativos en la función urodinámica, por lo que el músculo bulboglandularis funciona como un esfínter durante la micción de la coneja (Corona-Quintanilla y cols. 2015).

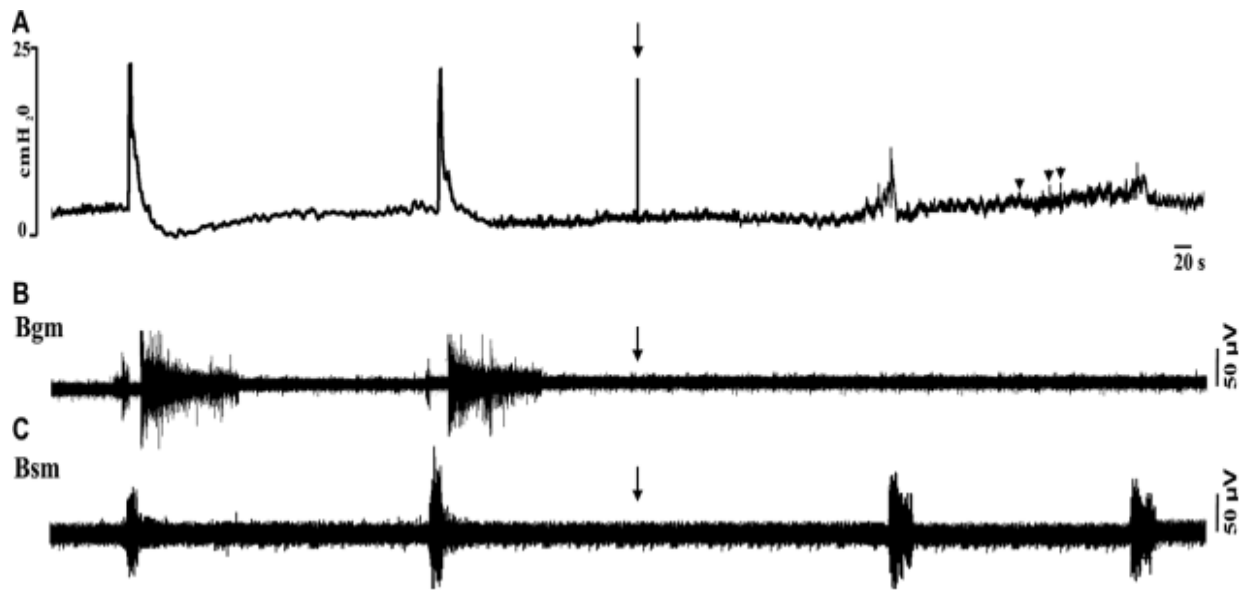


Figura 15: Registro simultaneo de cistometograma y electromiograma del músculo bulboglandular obtenido durante la micción en la coneja. A) Muestra la función de la vejiga, a través del cistometograma, antes y después de las inyecciones bilaterales de lidocaína al 2% (flecha) en el músculo bulboglandularis. B) Se muestra la actividad EMG refleja del músculo bulboglandular durante la micción. El músculo mostro actividad tónica en la fase de almacenamiento y disminuye gradualmente hasta inhibirse en el inicio de la fase de almacenamiento. Posteriormente, el músculo se activa nuevamente cuando la presión vesical regresa a su nivel basal Algunos goteos aparecieron cuando la actividad del músculo se bloqueó (puntas de flecha). C) Mientras que la actividad de otro músculo perineal, el bulboesponjoso, no es afectado. s segundos (Tomado de Corona-Quintanilla y cols. 2015).

Estos hallazgos indican la importancia de los músculos OI y bulboglandular asociados anatómicamente a la vagina pélvica y uretra de la coneja. Por tanto, es probable que su contracción contribuya a regular diversos procesos fisiológicos como la cópula, el parto y la micción. Así, es importante determinar la presión que genera la contracción de estos músculos sobre la vagina pélvica y la uretra, lo que permitirá comprender la participación funcional de la musculatura estriada.

2.3.3 Efecto de la multiparidad sobre el aparato urogenital y la musculatura estriada pélvica y perineal de la coneja

En la coneja se ha evaluado el efecto de la multiparidad sobre algunos componentes del piso pélvico. Xelhuantzi y cols. (2014) encontraron diferencias significativas en el arreglo histológico de las paredes de la uretra distal y la vagina pélvica en conejas jóvenes nulíparas y múltiparas. Los resultados mostraron que la multiparidad reduce el espesor del epitelio, la cantidad de musculatura lisa, la musculatura estriada y el colágeno de las paredes de la uretra distal y la vagina pélvica. También, se observó un mayor lumen en la uretra y vagina en conejas jóvenes múltiparas a diferencia de las jóvenes nulíparas (figura 16). Por lo tanto, se determinó que la multiparidad altera las características histológicas de la uretra y la vagina. Estos cambios son asociados con modificaciones en procesos no reproductivos, como la micción.

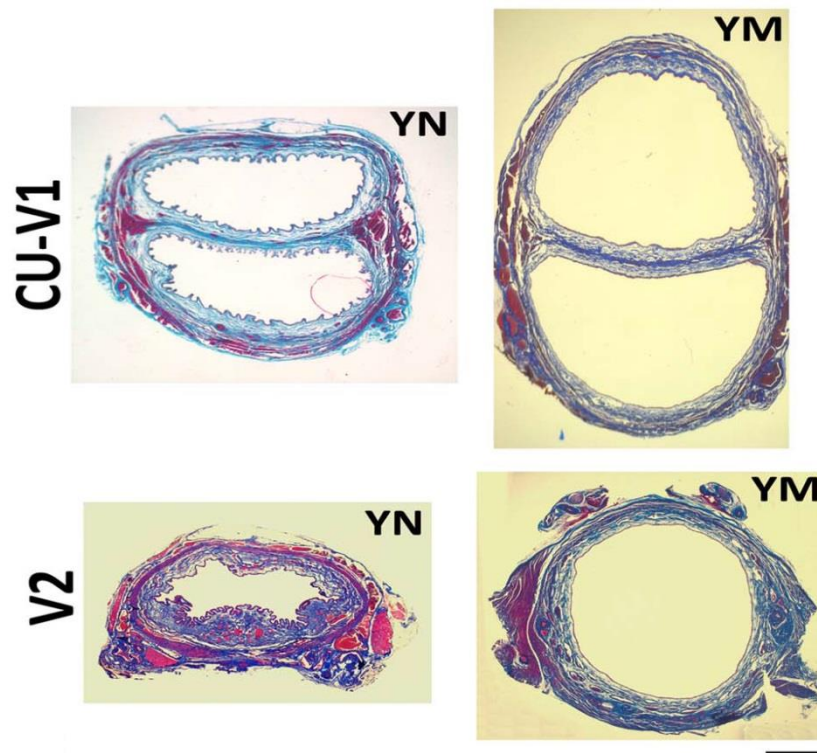


Figura 16. Fotografías representativas que muestran las características histológicas de la uretra caudal (CU), la vagina pélvica craneal (V1), la vagina pélvica caudal (V2), y la pared compartida entre las regiones de la CU y V1 en secciones transversales teñidas con tricromica de Masson en conejas jóvenes nulíparas (YN) y conejas jóvenes múltiparas (YM) Bar= 2.5 mm (tomado de Xelhuantzi y cols. 2014).

En relación a ello, se ha determinado que la multiparidad modifica la actividad de la musculatura estriada pélvica y perineal durante la micción. Martínez-Gómez y cols. (2011) registraron simultáneamente cistometogramas y la actividad EMG de un músculo pélvico, como el pubococcígeo y dos músculos perineales, el isquiocavernoso y el bulboesponjoso durante la micción, en conejas jóvenes nulíparas y multíparas. Los resultados muestran que la multiparidad provocó que los músculos estriados presentaran un patrón de actividad alterado durante la micción y con modificaciones significativas en los parámetros urodinámicos (figura 17). Los cambios en la urodinamia podrían ser provocados por alteraciones en la actividad de los músculos estriados en conejas jóvenes multíparas.

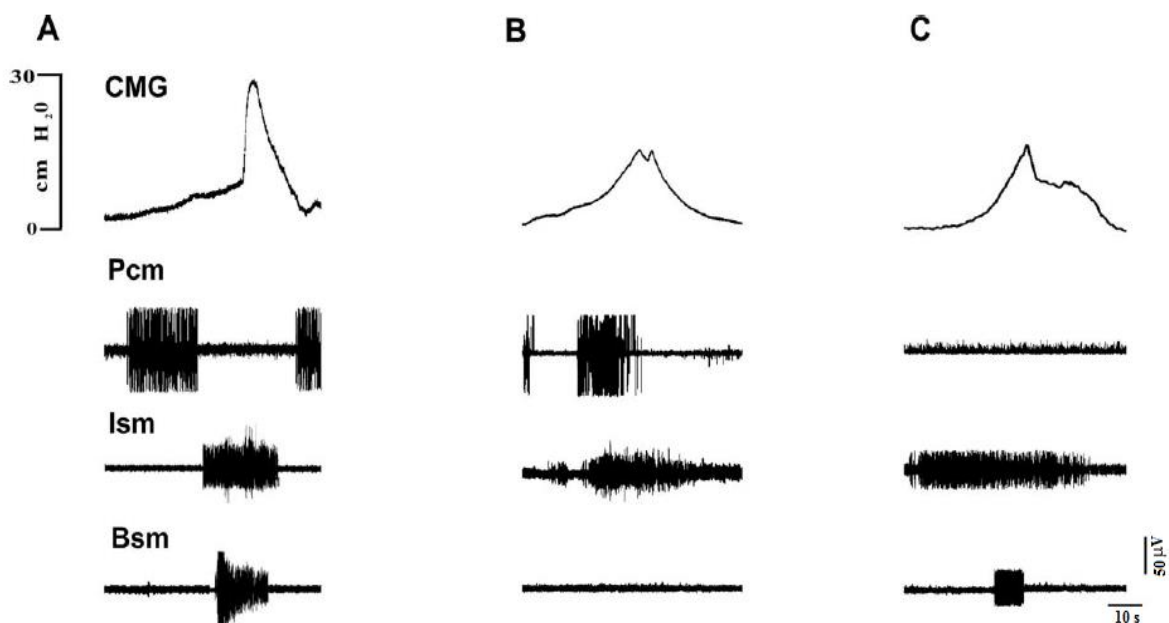


Figura 17. Cistometogramas y electromiogramas de los músculos pubococcígeo, isquiocavernoso y bulboesponjoso registrados simultáneamente durante la micción en conejas vírgenes (A) y multíparas (B, C). En conejas jóvenes vírgenes, la activación temporal y coordinada de los músculos pubococcígeo, isquiocavernoso y bulboesponjoso ocurren durante las fases de la micción. CMG y EMG registrados fueron diferentes en conejas jóvenes multíparas, así como también la activación de los músculos estriados (tomado de Martínez-Gómez y cols. 2011).

Así mismo se han reportado cambios morfológicos en la musculatura estriada pélvica y perineal de hembras multíparas. Fajardo y cols. (2008) describieron las características morfológicas y las propiedades contráctiles de un músculo pélvico, el pubococcígeo y uno perineal, el bulboesponjoso en conejas jóvenes nulíparas y multíparas. Mediante la técnica de Negro Sudan se observó la composición relativa del tipo de fibras de los músculos estriados. Tres tipos de fibras musculares fueron encontradas en la región de origen, la región media y la región de inserción de los músculos. El músculo pubococcígeo presentó una gran cantidad de fibras oscuras (tipo I) y pocas fibras claras (tipo II), mientras que el músculo bulboesponjoso presentó una gran cantidad de fibras claras (tipo II) y pocas fibras intermedias y oscuras (tipo I). Además, en hembras multíparas encontraron una menor área transversal de las fibras musculares de los músculos estriados pélvicos y perineales (figura 18).

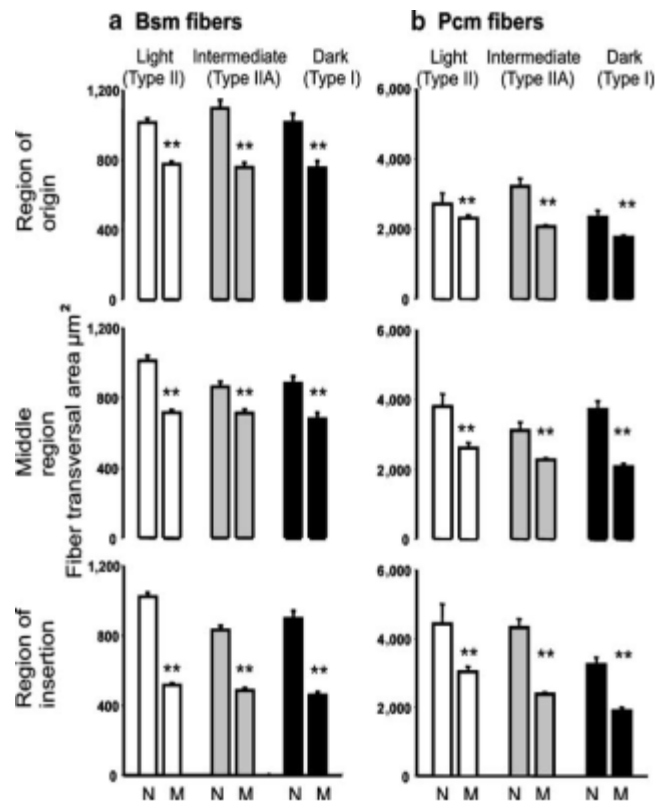


Figura 18. Se muestran media \pm DE del área transversal de los tipos de fibras encontradas en las tres regiones del músculo bulboesponjoso (a) y pubococcígeo (b) observadas en conejas jóvenes nulíparas (N) y multíparas (M). En todos los casos, las hembras multíparas tuvieron áreas de células musculares más pequeñas (tomado de Fajardo y cols. 2008).

Igualmente, mostraron que la contractilidad de las fibras que componen a los músculos estriados disminuye, dando como resultado una disminución de la fuerza contráctil ante un estímulo de contracción simple y otro tetánico. Así, la multiparidad está relacionada con cambios morfológicos que podrían afectar la fuerza contráctil de la musculatura estriada pélvica y perineal sobre estructuras del aparato urogenital, como la vagina pélvica y perineal (Fajardo y cols. 2008).

En relación a ello, López-Juárez y cols. (en preparación) evaluaron en conejas nulíparas y múltiparas la fuerza contráctil y la presión ejercida sobre la vagina perineal y pélvica por los músculos bulboesponjoso y pubococígeo. Para ambos experimentos, los músculos estriados fueron estimulados eléctricamente a diferentes trenes de estimulación (1, 4, 10, 20, 50 y 100 Hz) hasta alcanzar la tetanización. Los resultados mostraron que en conejas múltiparas se disminuye la fuerza contráctil generada por los músculos. Asimismo, la PIV perineal y pélvica disminuyó en hembras múltiparas. Sin embargo, la contracción del músculo pubococígeo en múltiparas a frecuencias altas aumento significativamente la PIV pélvica (figura 19). Por lo tanto, se concluyó que la multiparidad no tiene los mismos efectos sobre la musculatura pélvica y perineal asociada al aparato urogenital de la coneja doméstica. Esto radica probablemente en su localización anatómica, la función que pudieran desempeñar cada uno de los músculos y el daño diferencial que muestran los músculos pélvicos y perineales (López-García y cols. 2014).

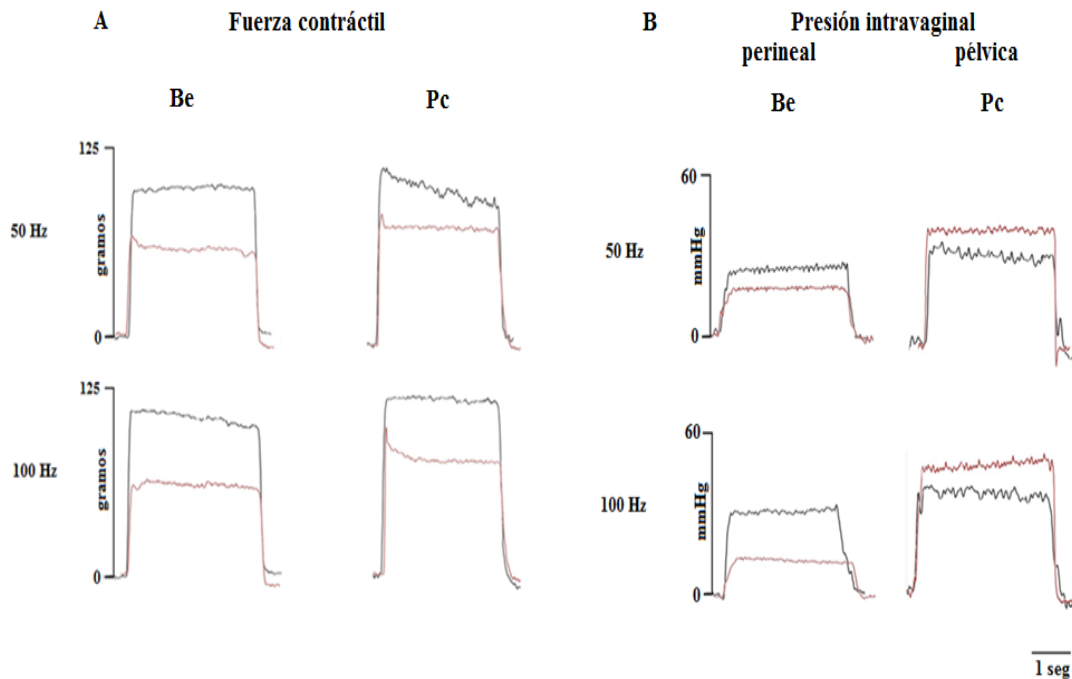


Figura 19. Registro de la fuerza contráctil expresada en gramos (A) y la presión intravaginal perineal y pélvica (B) expresado en mmHg a 50 y 100 Hz (con 4 segundos de duración) cuando se estimulan los músculos Be, y Pc en hembras nulíparas (trazo negro) y hembras múltíparas (trazo rojo). Se muestra que la multiparidad disminuye la fuerza contráctil desarrollada por los músculos estriados, así como la presión generada por el músculo Be sobre la vagina perineal (tomado de López-Juárez y cols. en preparación).

Estos estudios muestran que la multiparidad altera la organización anatómica e histológica del aparato urogenital (Xelhuantzi y cols. 2014). Además se muestran cambios morfológicos de algunos músculos estriados, disminución de la fuerza contráctil y de la presión intravaginal. Todos estos cambios estructurales modificarían la participación funcional de la musculatura estriada en procesos como la cópula, el parto y la micción (Fajardo y cols. 2008, Martínez-Gómez y cols. 2011, López-Juárez y cols. en preparación). Sin embargo, para comprender de manera integral el efecto de la multiparidad sobre la compleja musculatura estriada es necesario saber si otros músculos como el OI y bulboglandular que tiene una relación anatómica directa con la vagina pélvica y uretra, podrían presentar también alteraciones por el efecto de la multiparidad. Por tal motivo, se requiere cuantificar la fuerza

contráctil y la PIU e PIV generada por la contracción de estos músculos en hembras multíparas.

3. JUSTIFICACIÓN

La región pélvica femenina es un sistema complejo constituido por vísceras del aparato urogenital y musculatura estriada pélvica y perineal, con su respectiva inervación. La relación anatómica entre los órganos pélvicos y la musculatura estriada requiere de un fino control nervioso para llevar a cabo funciones urinarias, sexuales y reproductivas. Sin embargo, dada la disposición anatómica que presenta la musculatura estriada en relación al aparato urogenital, procesos reproductivos como las múltiples gestaciones y partos pueden dañar dichas estructuras.

En la mujer, el parto y la paridad son considerados factores de riesgo que incrementan la incidencia de desórdenes del piso pélvico. Por lo tanto, la multiparidad tiene efectos considerables en la anatomía y fisiología del aparato urogenital y de la musculatura estriada femenina. Sin embargo, el mecanismo de lesión o daño sobre estas estructuras no es bien conocido. Por tal motivo, es necesario utilizar modelos animales que permitan comprender el efecto de la multiparidad sobre los componentes del piso pélvico.

En nuestro laboratorio, se utiliza como modelo de estudio a la coneja doméstica, porque es un modelo adecuado para estudiar las bases fisiológicas de procesos reproductivos y no reproductivos. Con base a esto, se ha mostrado la importancia de la participación funcional de músculos estriados pélvicos y perineales relacionados al aparato urogenital. Por otra parte, se ha mostrado que la multiparidad altera las características histológicas del aparato urogenital. Además se muestran cambios morfológicos, disminución de la fuerza contráctil y de la presión intravaginal, así como un daño diferencial en algunos músculos estriados pélvicos y perineales. Los cambios en el aparato urogenital y la musculatura estriada indican ajustes plásticos y/o daños que afectan la vida reproductiva y no reproductiva de las hembras de mamíferos.

Sin embargo, no se ha identificado el efecto de la multiparidad sobre músculos directamente relacionados a la vagina pélvica y uretra, como el músculo RE o también denominando bulboglandular y el obturador interno.

Por todo lo anterior, es que consideramos necesario entender la forma y temporalidad en que cada músculo contribuye en la función del aparato urogenital generando presión sobre la vagina y uretra, con una fuerza contráctil particular. Asimismo, es crítico determinar si presentan cambios por efecto de la multiparidad. En este estudio se cuantificará la presión intravaginal, intrauretral, así como la fuerza contráctil generada por la contracción de estos músculos en hembras nulíparas y múltiparas. Ello permitirá comprender no solo un posible daño, sino básicamente la participación funcional de la musculatura estriada pélvica en su conjunto durante los procesos reproductivos y no reproductivos. De manera general, se contribuiría al entendimiento de patologías asociadas con la experiencia reproductiva y eventualmente a la eficacia de las terapias.

4. HIPÓTESIS

- I. En conejas domésticas, la contracción del músculo obturador interno y rabdoesfínter con una fuerza contráctil característica, provoca aumento de la presión en vagina y uretra.
- II. La multiparidad disminuye la fuerza contráctil de ambos músculos y la presión generada por su contracción.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Determinar en la coneja domestica el efecto de la multiparidad sobre las propiedades contráctiles y la presión generada en vagina y uretra por los músculos obturador interno y rabdoesfínter durante su contracción.

5.2 Objetivos específicos

- I. Determinar en conejas nulíparas y multíparas la fuerza contráctil desarrollada por los músculos obturador interno y rabdoesfínter.
- II. Determinar en conejas nulíparas y multíparas la presión generada por la contracción de los músculos obturador interno y rabdoesfínter sobre la vagina pélvica.
- III. Determinar en conejas nulíparas y multíparas la presión generada por la contracción de los músculos obturador interno y rabdoesfínter sobre la uretra distal.

6. METODOLOGÍA

6.1 Diseño experimental

Se considera que este estudio tiene un diseño factorial completamente aleatorizado, de un solo factor (paridad) y con dos niveles (hembras nulíparas y multíparas).

6.2 Animales

Se utilizaron 24 conejas adultas de la raza Chinchilla *Oryctolagus cuniculus* de 11 a 12 meses de edad. Las hembras se mantuvieron alojadas 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 20 ± 2 °C, con 200 gramos de alimento (Conejina de Purina Chow) y agua *ad libitum*.

La condición de multiparidad (cuatro partos), se obtuvo al aparear a las conejas de manera consecutiva inmediatamente después de los primeros tres partos. Después del cuarto parto, se dejaron transcurrir 20 días para permitir a las hembras alcanzar un estado hormonal similar al de las hembras nulíparas para posteriormente realizar los registros.

Las conejas se distribuyeron en dos grupos: nulíparas (n=12) y multíparas (n=12). Cada condición (nulíparas y multíparas), se dividieron en dos grupos experimentales. En el primer grupo se evaluó la PIU y la PIV, generada por la contracción de los músculos OI y RE (n=6) y en el segundo grupo se evaluó la fuerza mecánica contráctil (n=6).

6.3 Experimento I. Evaluación de la presión generada por los músculos obturador interno y rabdoesfínter sobre la vagina pélvica y uretra

Para evaluar la PIU y la PIV se utilizaron 6 conejas nulíparas y 6 multíparas. Las conejas se anestesiaron con uretano (Sigma Chemical, USA; 1.6 g/Kg diluido al 20% en agua destilada), administrado por vía intraperitoneal. Posteriormente, las hembras fueron colocadas en posición decúbito dorsal para exponer a la vejiga urinaria, para ello se realizó una pequeña incisión sobre la piel y los músculos abdominales. Una vez expuesta la vejiga urinaria, se drenó antes de iniciar la cirugía.

Colocación del globo. Para determinar la presión generada por la musculatura estriada sobre la vagina pélvica, se realizó una pequeña incisión en el ápice vesical de la vejiga urinaria, por donde se introdujo un catéter flexible de 1.5 mm diámetro externo a través de la vejiga urinaria. Este catéter se arrastró hasta la salida del tracto vaginal. Una vez fuera del tracto urogenital, se sujetó a un globo amarrado con un hilo de sutura.

Posteriormente, el globo se llevó hacia el interior del tracto urogenital hasta la región de la vagina pélvica, donde se encuentran localizados los músculos estriados de interés. El globo fue inflado con 3.0 cm de solución salina (9% a 39 °C). El catéter con el globo, se conectó a un transductor de presión (Grass PT 300) y este a su vez, se conectó a un amplificador (Grass 7P1G DC). Posteriormente, el amplificador se conectó a otro canal del polígrafo (Grass 7P511), una vez que se amplificó la señal, ésta se envió al programa PolyView 2.5 (Grass) instalado en una computadora de escritorio Pentium IV que capturó y almacenó la información. De esta manera se registró la PIV pélvica. Para corroborar la posición del globo, se presionó el globo manualmente, hasta que se observó un aumento significativo de la presión en el sistema de registro.

Para determinar la presión generada por la musculatura estriada sobre la uretra, el catéter nuevamente se llevó hasta la salida del tracto urogenital. Una vez fuera del tracto urogenital, se colocó otro globo sujetado con un hilo de sutura. Entonces, el globo se introdujo de 5-6 cm hacia el interior del tracto urogenital a nivel de la uretra.

El globo se infló con 2.0 cm de solución salina (9% a 39°C) y su catéter se conectó al transductor de presión (Grass PT 300) y amplificador (Grass 7P1G DC), que está conectado a

un polígrafo (Grass 7P511) y un programa PolyView 2.5 (Grass). De esta manera se registró la PIU. Para corroborar la posición del globo, se presionó el globo manualmente, hasta que se observó un aumento significativo de presión en el sistema de registro.

Cirugía de los músculos. Para la estimulación eléctrica, se disecaron los músculos estriados de interés. Debido a que una parte considerable del tracto vaginal está cubierto por la sínfisis púbica, esta se removió cortándola cuidadosamente para evitar algún daño a los músculos estriados, también se ligaron los vasos sanguíneos para evitar sangrados excesivos.

Se localizaron los forámenes y se realizaron cortes laterales a la sínfisis púbica hacia la cara lateral del arco isquiático y se hizo otro corte en la parte distal a la vejiga urinaria, al separar el hueso se desinsertó el músculo bulboesponjoso, al levantarlo, al mismo tiempo se separó el músculo obturador externo y de esta manera se localizó el músculo OI. Para exponer al músculo RE, se procedió cuidadosamente a cortar el origen e inserción del músculo OI, para descubrir por completo el plexo venoso e identificarlo.

Estimulación. Una vez localizados los músculos, se les insertó de manera lateral electrodos bipolares de plata (0.1 mm de diámetro). Los electrodos se conectaron a un estimulador (Grass S48). Se aplicaron pulsos cuadrados de intensidad y frecuencia variable, con la duración fija. De manera inicial, se aplicaron estímulos simples para encontrar el valor umbral. En seguida, se aplicaron los estímulos multiplicando los valores umbral hasta alcanzar la máxima fuerza. Finalmente, al conocer este valor, se aplicó este estímulo modificando la frecuencia hasta alcanzar la tetanización (4, 10, 20, 50 y 100 Hz con una duración de 4 segundos). Cada registro se realizó por triplicado, con un intervalo de 5-8 minutos para descansar los músculos. La PIV y la PIU se expresaron en mmHg.

6.4 Experimento II: Fuerza mecánica desarrollada por el músculo obturador interno

En este experimento se utilizaron 6 conejas nulíparas y 6 multíparas anestesiadas con uretano y se disecó el músculo OI como se describió en el experimento 1. Una vez localizado el músculo, se les insertó de su origen a nivel del tendón ventral.

Posteriormente, el tendón se separó del tejido conectivo circundante y se sujetó mediante un hilo a un transductor de fuerza (Grass FT03E). El transductor se conectó a un amplificador (Grass 7P1G DC) que a su vez, se conectó a otro canal del polígrafo (Grass

7P511) que envía la señal al programa PolyView 2.5 (Grass) instalado en una computadora de escritorio Pentium IV para capturar y almacenar los datos. El músculo se registró por triplicado, con un intervalo de 5-8 minutos para descansar el músculo.

Estimulación. El músculo se estimuló mediante un generador de pulsos cuadrados (Grass S48), a través de electrodos bipolares de plata (0.1 mm de diámetro), insertados lateralmente al músculo. La intensidad de estimulación se incrementó de forma gradual hasta obtener una respuesta máxima. El músculo se estiró para obtener la respuesta máxima de amplitud y eliminar los efectos de los componentes elásticos en el músculo. Se aplicó pulsos eléctricos únicos cuadrados (1 Hz con 0.5 ms de duración), para dar una sacudida simple hasta encontrar el valor umbral (descrito en el experimento 1). Posteriormente, se aplicaron estímulos cuadrados, aumentando la frecuencia de los trenes de estimulación (4, 10, 20, 50 y 100 Hz con 4 segundos de duración), hasta fusionar la respuesta muscular (tétanos). La fuerza contráctil se normalizó en Newton por gramo de tejido (N/g), mediante la siguiente fórmula:

$$F \text{ (N/g)} = \frac{\text{Fuerza contráctil (g)}}{1000 * 9.81 / \text{peso del músculo (g)}}$$

Siendo F la fuerza total que desarrolla el músculo por cada gramo de tejido, el valor de 9.81 por efecto de la gravedad, entre el peso del músculo en g multiplicado por 1000.

6.5 Análisis estadístico

Los datos se analizaron con la prueba de normalidad de Shapiro Wilks. Para determinar diferencias significativas entre grupos se realizó una prueba de t de Student para datos no pareados ($P \leq 0.05$). Para los datos no paramétricos se utilizó la prueba de U de Mann Whitney ($P \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con el paquete de análisis estadístico SPSS (versión 23.0 para Windows, SPSS Inc., Chicago, IL).

7. RESULTADOS

7.1 Edad y peso corporal

A continuación, se muestran los datos de las seis hembras nulíparas y seis hembras múltiparas. El peso corporal de las hembras múltiparas fue significativamente menor con respecto a las nulíparas ($t_6= 2.505$, $P= 0.031$) (Tabla 1).

Tabla 1. Edad y peso corporal de hembras nulíparas (N, n=6) y múltiparas (M, n=6).

	N	M	P
Edad (meses)	11 ± 0.00	11.66 ± 0.21	0.065
Peso (Kg)	3.97 ± 0.11	3.58 ± 0.10	0.031*

Se reporta promedio ± error estándar.

Prueba t de Student, estadísticamente significativo (* $P<0.05$).

7.2 Parámetros morfométricos de los músculos obturador interno y rabdoesfínter

En hembras nulíparas se observó que el músculo OI mide de ancho 1.72 ± 0.03 cm en su punto de origen y 1.65 ± 0.08 cm de ancho en su punto de inserción y tiene una longitud de 2.40 ± 0.06 cm. Sin embargo, se encontró un aumento significativo del ancho en su origen del músculo OI en hembras múltiparas con respecto a las nulíparas ($t_6= -2.776$, $P= 0.020$). Asimismo aumentó del ancho de su inserción del músculo OI hembras múltiparas en comparación con las nulíparas ($t_6= -3.891$, $P= 0.003$). El largo del músculo presentó valores similares para ambas condiciones ($t_6= -0.504$, $P= 0.625$) (Tabla 2).

Tabla 2. Parámetros morfométricos expresados en centímetros del ancho en su origen e inserción y largo del músculo obturador interno de hembras nulíparas (N, n=6) y múltiparas (M, n=6).

Músculo OI		N	M	P
Ancho (cm)	Origen	1.72 ± 0.03	2.10 ± 0.13	0.020*
	Inserción	1.65 ± 0.08	2.15 ± 0.09	0.003**
Largo (cm)		2.40 ± 0.06	2.45 ± 0.07	0.625

Se reporta promedio ± error estándar.

Prueba t de Student, estadísticamente significativo (* $P<0.05$).

Con respecto al músculo RE, se observaron valores similares del ancho en su origen de las hembras múltiparas con respecto a las nulíparas ($t_6= 0.974$, $P= 0.353$). Se mostró una disminución en el ancho de la región media del músculo en hembras múltiparas con respecto a las nulíparas ($t_6= 3.459$, $P= 0.006$) (Tabla 3).

Tabla 3. Parámetros morfométricos expresados en centímetros del ancho en su origen y en la región media del músculo rabdoesfínter de hembras nulíparas (N, n=6) y múltiparas (M, n=6).

Músculo RE		N	M	P
Ancho (cm)	Origen	1.06 ± 0.07	0.96 ± 0.06	0.353
	Región Media	1.76 ± 0.19	1.06 ± 0.05	0.006**

Se reporta promedio ± error estándar.

Prueba t de Student, estadísticamente significativo (* $P<0.05$).

El peso en gramos de cada uno de los músculos se tomó después de la estimulación eléctrica. El peso húmedo del músculo OI fue similar en hembras múltiparas y nulíparas ($t_6=-0.022$, $P= 0.983$). Sin embargo, para el músculo RE se observó una disminución significativa del peso húmedo en hembras múltiparas con respecto a las nulíparas ($t_6= 2.321$, $P= 0.045$) (Tabla 4).

Tabla 4. Peso del músculo obturador interno y rabdoesfínter de hembras nulíparas (N, n=6) y múltiparas (M, n=6).

Músculo	Peso (g)		
	N	M	P
OI	0.46 ± 0.06	0.46 ± 0.04	0.983
RE	0.29 ± 0.03	0.18 ± 0.02	0.045*

Se reporta promedio ± error estándar.

Prueba t de Student, estadísticamente significativo (* $P<0.05$).

7.3 Umbral de respuesta para la presión intravaginal pélvica

Para obtener el valor umbral de respuesta para la PIV pélvica se siguió el mismo protocolo que para determinar el valor umbral de la PIU. El músculo OI, no mostró diferencias significativas del valor umbral en las hembras multíparas con respecto a las nulíparas ($t_6= 1.103$, $P= 0.296$). En cuanto al músculo RE, se observó una reducción significativa en el valor umbral en la respuesta de la PIV en las hembras multíparas con respecto a las nulíparas ($t_6= 4.108$, $P= 0.002$) (Tabla 5).

Tabla 5. Respuesta umbral de presión intravaginal del músculo obturador interno y rabdoesfínter para alcanzar la respuesta máxima con un estímulo simple en hembras nulíparas (N, n=6) y multíparas (M, n=6).

Músculo	N Volts (V)	M Volts (V)	<i>p</i>
Obturador interno	0.61 ± 0.01	0.56 ± 0.04	0.296
Rabdoesfínter	1.00 ± 0.02	0.70 ± 0.06	0.002**

Se reporta promedio ± error estándar.

Prueba t de Student, estadísticamente significativo (* $P<0.05$).

7.4 Presión intravaginal pélvica

Durante la aplicación de un estímulo simple a 1 Hz al músculo OI, y cuando el globo se encontraba en la región de la vagina pélvica, se obtuvieron valores similares en las hembras multíparas con respecto a las nulíparas ($t_6= 2.186$, $P=0.054$). Sin embargo, al estimular al músculo RE se produjo una disminución significativa de la PIV en las hembras multíparas con respecto a las nulíparas ($t_6= 2.287$, $P=0.045$) (figura 20).

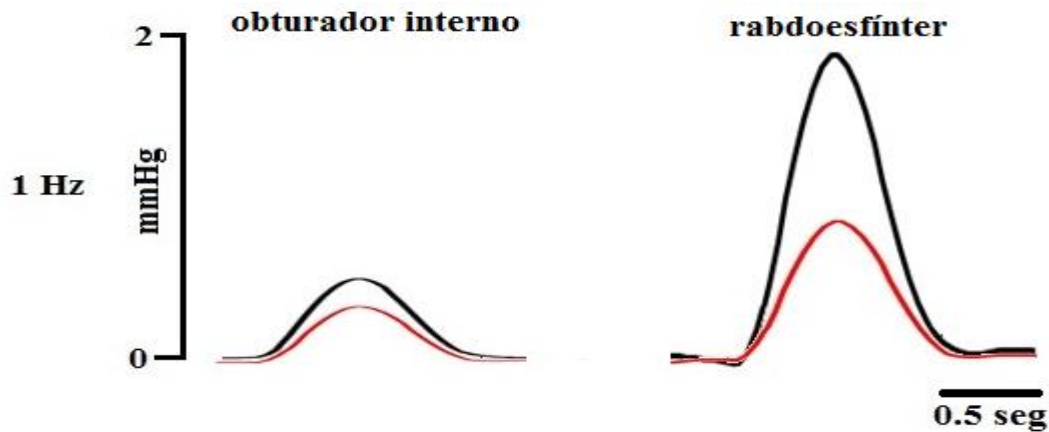


Figura 20. Presión de la vagina pélvica durante la contracción de los músculos obturador interno y rabdoesfínter a 1 Hz (con 1 segundo de duración) en hembras nulíparas (trazo negro) y múltiparas (trazo rojo).

Durante la aplicación del estímulo a 4 Hz, los músculos OI y RE se contrajeron siguiendo la frecuencia de estimulación. Se observó una disminución significativa de la PIV generada por el músculo OI en las hembras múltiparas con respecto a las nulíparas ($t_6= 3.425$, $P=0.006$). Con respecto al músculo RE, también se observó una disminución significativa de la PIV en hembras múltiparas al compararse con las nulíparas ($t_6= 3.769$, $P=0.004$).

Al estimular a 10 Hz, la respuesta de los músculos OI y RE siguieron la frecuencia de estimulación. Al estimular al músculo OI se observó una disminución significativa de la PIV en hembras múltiparas con respecto a las nulíparas ($t_6= 3.365$, $P=0.007$). Asimismo, al estimular al músculo RE se presentó una disminución significativa de la PIV en hembras múltiparas ($t_6= 3.409$, $P=0.007$).

Durante la estimulación a 20 Hz, la respuesta del músculo OI siguió la frecuencia de estimulación. Sin embargo, al estimular el músculo RE se observó la tetanización de sus fibras musculares. Al estimular a 20 Hz, el músculo OI mostró una disminución de la PIV en hembras múltiparas con respecto a las nulíparas ($t_6= 2.593$, $P= 0.027$). Asimismo, el músculo RE presentó una disminución significativa de la PIV en hembras múltiparas con respecto a las nulíparas ($t_6= 2.911$, $P= 0.016$) (figura 21).

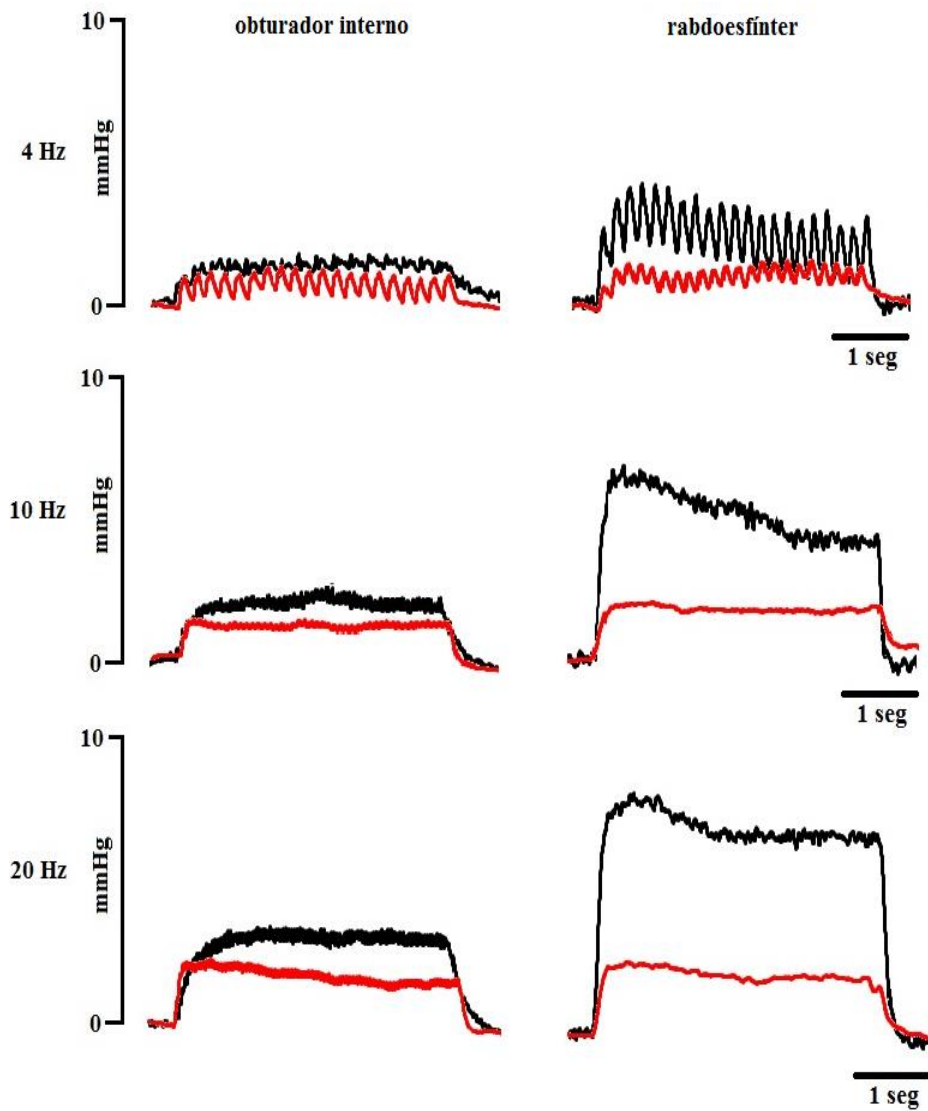


Figura 21. Presión intravaginal en la región de la vagina pélvica durante la aplicación de estímulos eléctricos (4, 10 y 20 Hz, con 4 segundos de duración) al músculo obturador interno y rabdoesfínter, en hembras nulíparas (trazo negro) y múltiparas (trazo rojo).

Durante la estimulación eléctrica a 50 y 100 Hz, se observó la tetanización de las fibras musculares del OI y RE. A 100 Hz, el músculo OI se fatiga mientras que el músculo RE mantiene contracción tónica. Al estimular a 50 Hz, el músculo OI mostró una disminución de la PIV en hembras multíparas con respecto a las nulíparas ($t_6= 4.963$, $P= 0.001$). El músculo RE también presentó una disminución significativa de la PIV en hembras multíparas con respecto a las nulíparas ($t_6= 4.099$, $P=0.002$). De la misma manera al estimular a 100 Hz, el músculo OI ($t_6= 3.204$, $P= 0.009$) y RE ($t_6= 4.187$, $P=0.002$) mostraron una disminución significativa en la PIV de hembras multíparas con respecto a las nulíparas (figura 22).

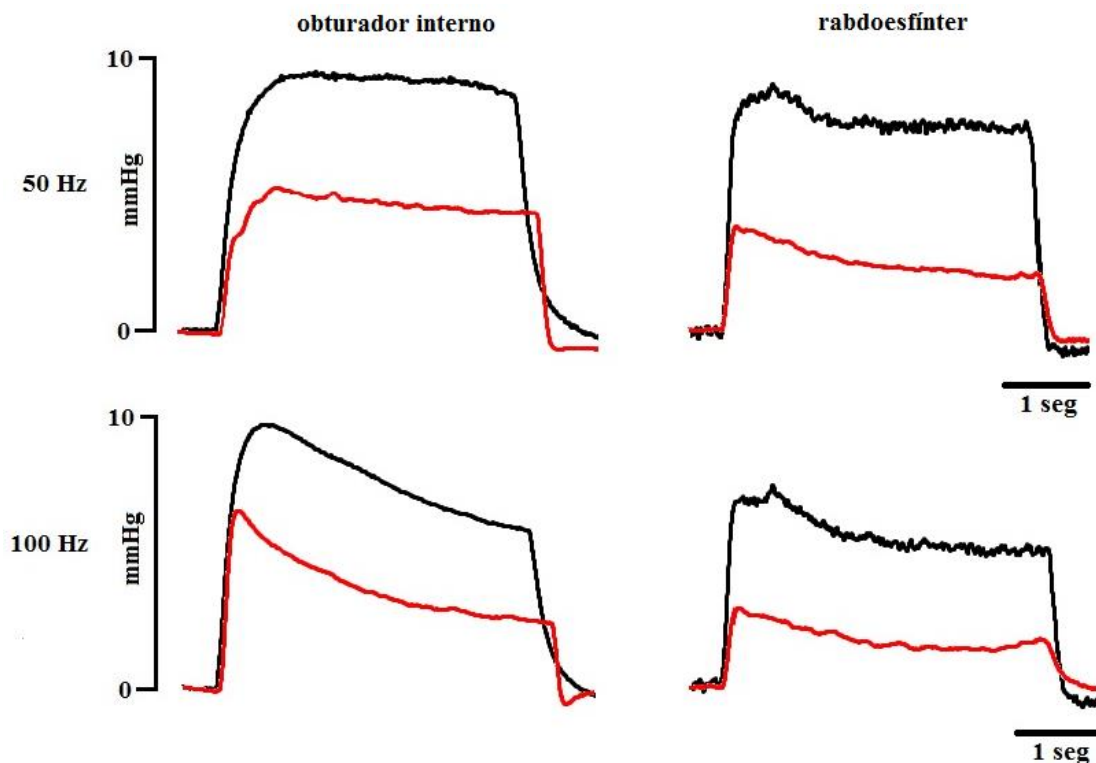


Figura 22. Presión intravaginal de la vagina pélvica durante la estimulación eléctrica a 50 y 100 Hz (con 4 segundos de duración) del músculo obturador interno y rabdoesfinter, en hembras nulíparas (trazo negro) y multíparas (trazo rojo).

Tabla 6. Presión intravaginal obtenida de la vagina pélvica durante la aplicación de estímulos eléctricos a (4, 10, 20, 50 y 100 Hz, con una duración de 4 segundos) a los músculos obturador interno y rabdoesfínter en hembras nulíparas y multíparas.

PIV (mmHg)					
Frecuencia (Hz)	Músculo	N	M	% de diferencia	p
1	OI	1.44 ± 0.37	0.61 ± 0.07	-57.64	0.054
	RE	1.79 ± 0.29	1.04 ± 0.14	-41.90	0.045*
4	OI	1.83 ± 0.38	0.53 ± 0.02	-71.04	0.006**
	RE	2.65 ± 0.44	0.86 ± 0.17	-67.55	0.004**
10	OI	2.91 ± 0.45	1.32 ± 0.13	-54.64	0.007**
	RE	5.66 ± 0.95	2.35 ± 0.18	-58.49	0.007**
20	OI	4.87 ± 1.09	1.95 ± 0.25	-59.96	0.027*
	RE	9.71 ± 1.91	3.83 ± 0.62	-60.56	0.016*
50	OI	10.69 ± 0.52	6.07 ± 0.76	-43.22	0.001**
	RE	13.24 ± 1.90	4.37 ± 1.02	-67	0.002**
100	OI	10.58 ± 0.98	6.38 ± 0.86	-39.7	0.009**
	RE	7.85 ± 0.51	3.35 ± 0.94	-57.33	0.002**

Media ± error estándar.

Prueba t de Student, estadísticamente significativo (*P<0.05).

Obturador interno = OI, Rabdoesfínter = RE, Hertz = Hz.

7.5 Umbral de respuesta para la presión intrauretral

El valor umbral se determinó mediante la aplicación de estímulos simples al OI y RE. Para determinar el valor umbral se incrementó el estímulo lentamente hasta observar la contracción muscular mínima, al obtener este valor se multiplicó hasta alcanzar la respuesta máxima (4 veces umbral). Para el músculo OI, el valor umbral fue el mismo en las hembras multíparas con respecto a las nulíparas ($t_6=0.000$, $P= 1.000$). Asimismo, para el músculo RE no se observaron diferencias significativas en el valor umbral de las hembras multíparas en comparación con las nulíparas ($t_6= 1.574$, $P= 0.147$) (tabla 7).

Tabla 7. Valores umbral del músculo obturador interno y rabdoesfínter para alcanzar la respuesta máxima con un estímulo simple en hembras nulíparas (N, n=6) y múltiparas (M, n=6).

Músculo	N Volts (V)	M Volts (V)	<i>p</i>
Obturador interno	0.43 ± 0.02	0.43 ± 0.03	1.000
Rabdoesfínter	0.85 ± 0.11	0.63 ± 0.07	0.147

Se reporta promedio ± error estándar.

Prueba t de Student, estadísticamente significativo (* $P < 0.05$).

7.6 Presión intrauretral

Durante la aplicación de un estímulo simple a 1 Hz al músculo OI, cuando el globo se encontraba en la región de la uretra, no se observaron diferencias significativas de la PIU en hembras múltiparas con respecto a las nulíparas ($t_6 = 1.936$, $P = 0.082$). Pero, la estimulación del músculo RE se mostró una disminución significativa de la PIU en hembras múltiparas en comparación con las nulíparas ($t_6 = 2.397$, $P = 0.037$) (Figura 23).

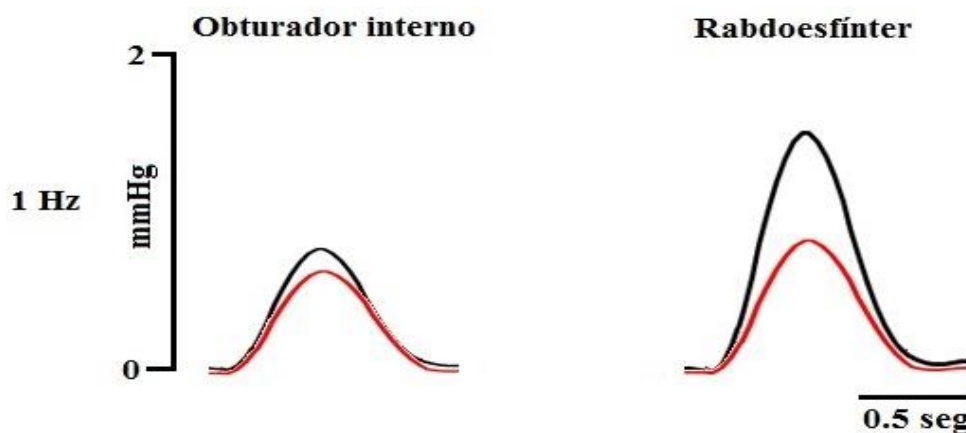


Figura 23. Presión intrauretral durante la estimulación eléctrica a 1 Hz (con 1 segundo de duración) al músculo obturador interno y rabdoesfínter, en hembras nulíparas (trazo negro) y múltiparas (trazo rojo).

Al estimular a 4 y 10 Hz, los músculos se contrajeron siguiendo la frecuencia de estimulación. Durante la estimulación a 4 Hz, el músculo OI no presentó diferencias significativas de la PIU generada en hembras multíparas con respecto a las nulíparas ($t_6 = -0.102$, $P = 0.921$). Sin embargo, al estimular al músculo RE se observó una disminución significativa de la PIU en las hembras multíparas con respecto a las nulíparas ($t_6 = 3.017$, $P = 0.013$). Al estimular a 10 Hz, el músculo OI presentó valores similares entre hembras multíparas y nulíparas ($t_6 = -1.233$, $P = 0.246$). Mientras, que el músculo RE mostró una disminución significativa de la PIU en hembras multíparas con respecto a las nulíparas ($t_6 = 3.157$, $P = 0.010$).

Durante la estimulación a 20 Hz, la respuesta del músculo OI siguió la frecuencia de estimulación. No obstante, al estimular el músculo RE se comenzó a observar la tetanización de las fibras musculares. Al estimular a 20 Hz, el músculo OI no mostró diferencias significativas de la PIU en hembras multíparas con respecto a las nulíparas ($t_6 = -0.471$, $P = 0.648$). Sin embargo, al estimular al músculo RE se observó una disminución significativa de la PIU en hembras multíparas con respecto a las nulíparas ($t_6 = 2.713$, $P = 0.022$) (figura 24).

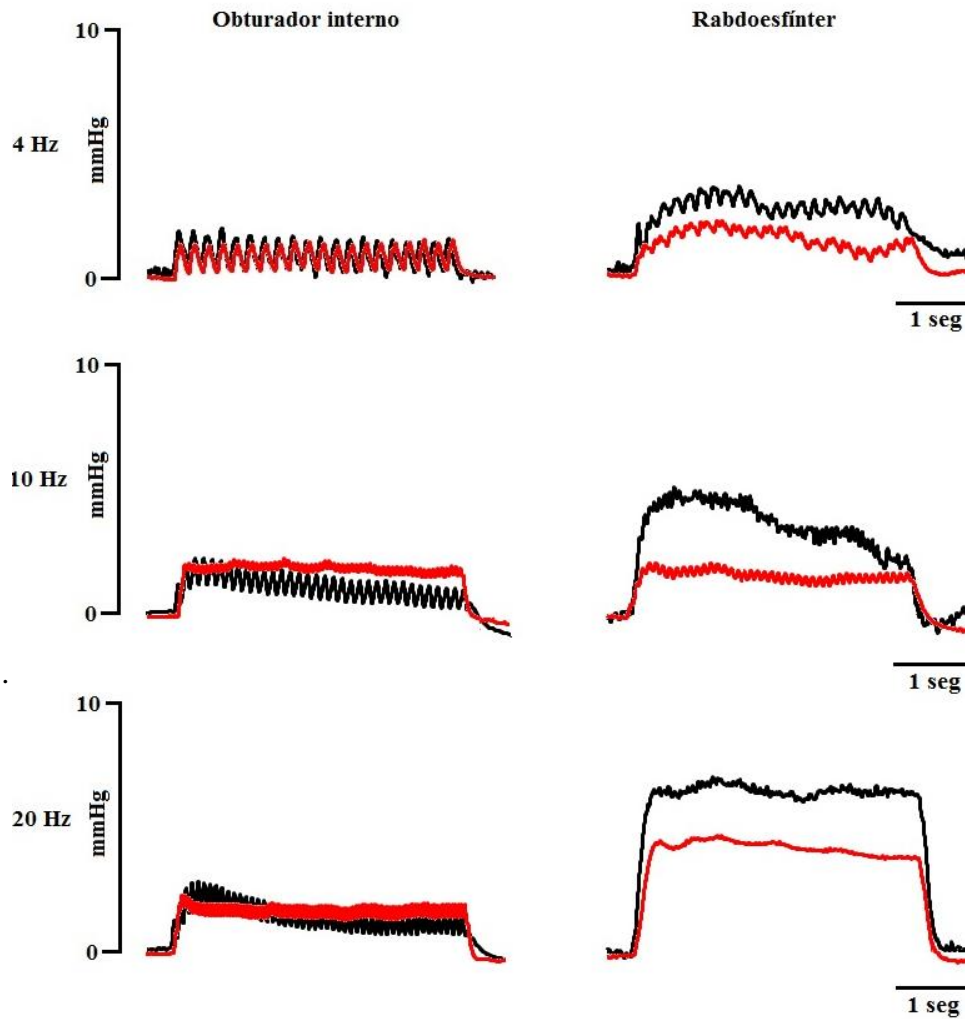


Figura 24. Presión intrauretral durante la estimulación eléctrica del músculo obturador interno y rabdoesfínter a 4, 10 y 20 Hz (con 4 segundos de duración) en hembras nulíparas (trazo negro) y múltíparas (trazo rojo).

La estimulación a 50 y 100 Hz, las fibras del OI y RE muestran tetanización. Durante la estimulación a 100 Hz, el músculo OI se fatiga, mientras que el músculo RE presenta contracción tónica. Al estimular a 50 Hz, el músculo OI no presentó diferencias significativas de la PIU generada en hembras múltíparas con respecto a las nulíparas ($t_6 = -0.501$, $P = 0.627$). Asimismo, el músculo RE no mostró una disminución significativa de la PIU en hembras múltíparas al compararse con las nulíparas ($t_6 = 1.872$, $P = 0.091$). Al estimular a 100 Hz, el

músculo OI no mostró cambios significativos de la PIU en hembras multíparas con respecto a las nulíparas ($t_6= 0.183$, $P= 0.858$). El músculo RE presentó una disminución en los valores de la PIU en las hembras multíparas al compararse con las nulíparas ($t_6= 2.969$, $P= 0.014$) (figura 25).

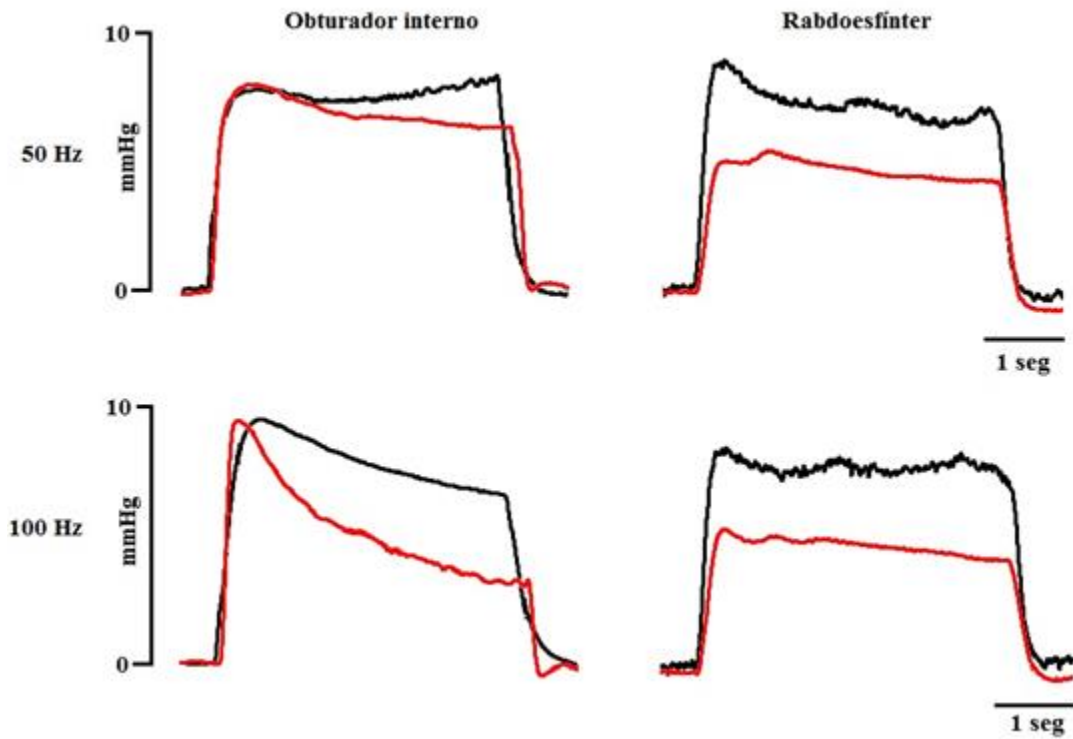


Figura 25. Presión intrauretral del músculo obturador interno y rabdoesfínter a 50 y 100 Hz (con 4 segundos de duración) en hembras nulíparas (trazo negro) y multíparas (trazo rojo).

Tabla 8. Presión intrauretral expresada en mmHg durante la estimulación eléctrica a 1,4, 10, 20, 50 y 100 Hz (con una duración de 4 segundos) de los músculos obturador interno y rabdoesfínter en hembras nulíparas y múltiparas.

PIU (mmHg)					
Frecuencia (Hz)	Músculo	N	M	% de diferencia	P
1	OI	1.40 ± 0.37	0.66 ± 0.07	-52.86	0.082
	RE	1.79 ± 0.38	0.81 ± 0.12	-54.75	0.037*
4	OI	1.37 ± 0.34	1.42 ± 0.30	3.64	0.921
	RE	3.80 ± 0.84	1.20 ± 0.18	-68.51	0.013*
10	OI	1.61 ± 0.18	2.21 ± 0.45	37.26	0.246
	RE	6.45 ± 1.36	2.04 ± 0.31	-68.37	0.010*
20	OI	2.88 ± 0.54	3.56 ± 1.34	23.61	0.648
	RE	7.08 ± 0.78	4.26 ± 0.67	-39.80	0.022*
50	OI	8.20 ± 1.58	9.32 ± 1.59	13.65	0.627
	RE	9.78 ± 1.69	5.75 ± 1.32	-41.20	0.091
100	OI	10.18 ± 1.24	9.85 ± 1.32	-3.25	0.858
	RE	9.66 ± 1.66	4.65 ± 0.25	-48.13	0.014*

Media ± error estándar.

Prueba t de Student, estadísticamente significativo (*P<0.05).

Obturador interno = OI, Rabdoesfínter = RE, Hertz = Hz.

7.7 Umbral de respuesta para la fuerza contráctil del músculo obturador interno

Para determinar el umbral de respuesta para la fuerza contráctil del músculo OI se siguió el mismo protocolo que para determinar el valor umbral en la máxima respuesta de la PIU y PIV. El valor umbral no se mostró diferencias significativas en hembras multíparas con respecto a las nulíparas ($t_6 = 1.249$, $P = 0.240$) (Tabla 9).

Tabla 9. Valores umbral del músculo obturador interno para alcanzar la respuesta máxima con un estímulo simple en hembras nulíparas (N, n=6) y multíparas (M, n=6).

Músculo	N Volts (V)	M Volts (V)	<i>p</i>
Obturador interno	0.73 ± 0.03	0.61 ± 0.08	0.240

Se reporta promedio ± error estándar.

Prueba t de Student, estadísticamente significativo (* $P < 0.05$).

7.8 Fuerza mecánica contráctil del músculo obturador interno

Los registros representativos de la mecánica isométrica se graficaron en gramos. Los datos estadísticos de la fuerza contráctil del músculo OI se normalizaron y se muestran en N/g de tejido. La fuerza del músculo OI en respuesta a la estimulación eléctrica de 1 Hz se comportó de forma similar en las multíparas con respecto a las nulíparas ($t_6 = 1.019$, $P = 0.332$) (figura 26).

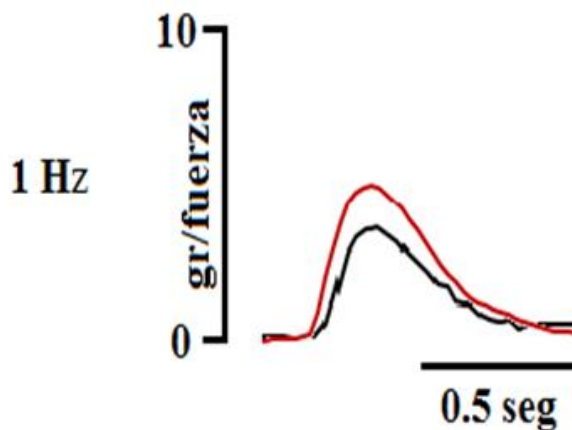


Figura 26: Fuerza contráctil del músculo obturador interno en respuesta a la estimulación eléctrica a 1 Hz (con 1 segundo de duración) en hembras nulíparas (trazo negro) y multíparas (trazo rojo).

Durante la aplicación de estímulos a 4, 10 y 20 Hz, la respuesta del músculo OI se contrajo de acuerdo a la frecuencia de estimulación. Al estimular a 4 Hz, no se observaron diferencias significativas de la fuerza contráctil generada en hembras multíparas con respecto a las nulíparas ($t_6= 1.459$, $P= 0.175$). Durante la aplicación del estímulo a 10 Hz, el músculo no mostró diferencias significativas en la fuerza contráctil para ambas condiciones ($t_6= 2.081$, $P= 0.064$). Asimismo, al estimular a 20 Hz el músculo no mostró diferencias significativas de la fuerza contráctil al comparar hembras multíparas y nulíparas ($t_6= 1.820$, $P= 0.099$) (figura 27).

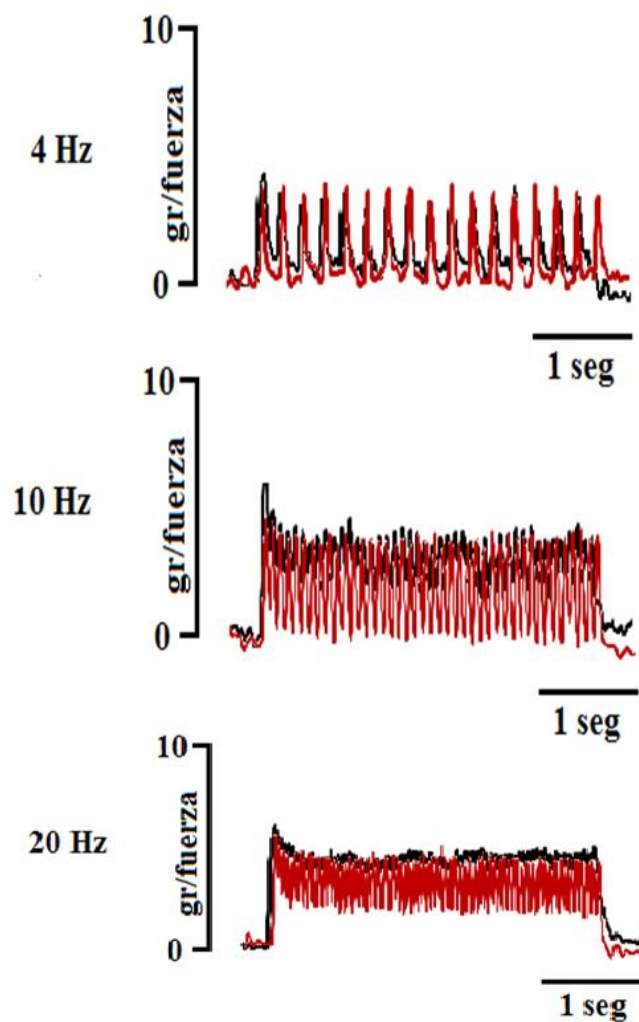


Figura 27. Fuerza contráctil del músculo obturador interno a 4, 10 y 20 Hz (con 4 segundos de duración) en hembras nulíparas (trazo negro) y hembras multíparas (trazo rojo).

A partir de las frecuencias de 50 y 100 Hz, se comenzó a observar que las fibras musculares del OI se tetanizaron y a 100 Hz, el músculo OI se fatigó en ambas condiciones. La fuerza desarrollada por el músculo OI a 50 Hz no mostró diferencias significativas en hembras multíparas con respecto a las nulíparas ($t_6 = 1.412$, $P = 0.188$). De la misma manera, al continuar con el estímulo de 100 Hz se comportó de forma similar al comparar multíparas contra nulíparas ($t_6 = 1.569$, $P = 0.148$) (figura 28).

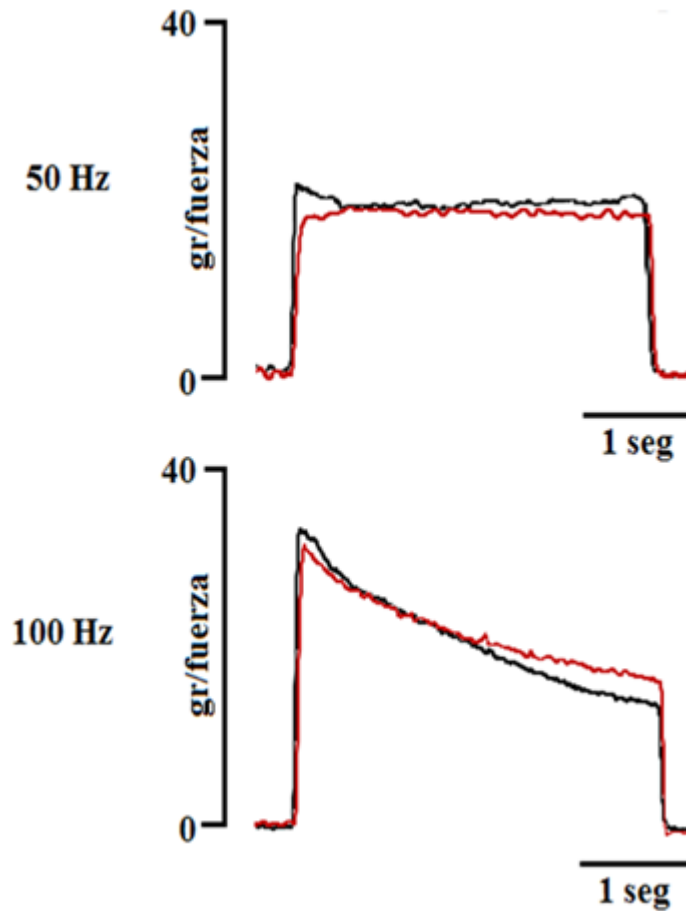


Figura 28. Fuerza contráctil del músculo obturador interno en respuesta a la estimulación eléctrica a 50 y 100 Hz (con 4 segundos de duración) en hembras nulíparas (trazo negro) y hembras multíparas (trazo rojo).

Tabla 10. Fuerza contráctil expresado en N/g del músculo obturador interno a 1 Hz y a diferentes frecuencias de estimulación (4, 10, 20, 50 y 100 Hz, con una duración de 4 segundos), aplicado a las hembras nulíparas y múltiparas.

Fuerza contráctil (N/g)				
Frecuencia (Hz)	N	M	% de diferencia	P
1	0.08 ± 0.02	0.06 ± 0.01	-25	0.332
4	0.09 ± 0.03	0.05 ± 0.01	-44.45	0.175
10	0.11 ± 0.02	0.05 ± 0.01	-54.55	0.064
20	0.13 ± 0.03	0.07 ± 0.01	-46.16	0.099
50	0.32 ± 0.04	0.23 ± 0.04	-28.13	0.188
100	0.60 ± 0.07	0.39 ± 0.10	-35	0.148

Media ± error estándar.

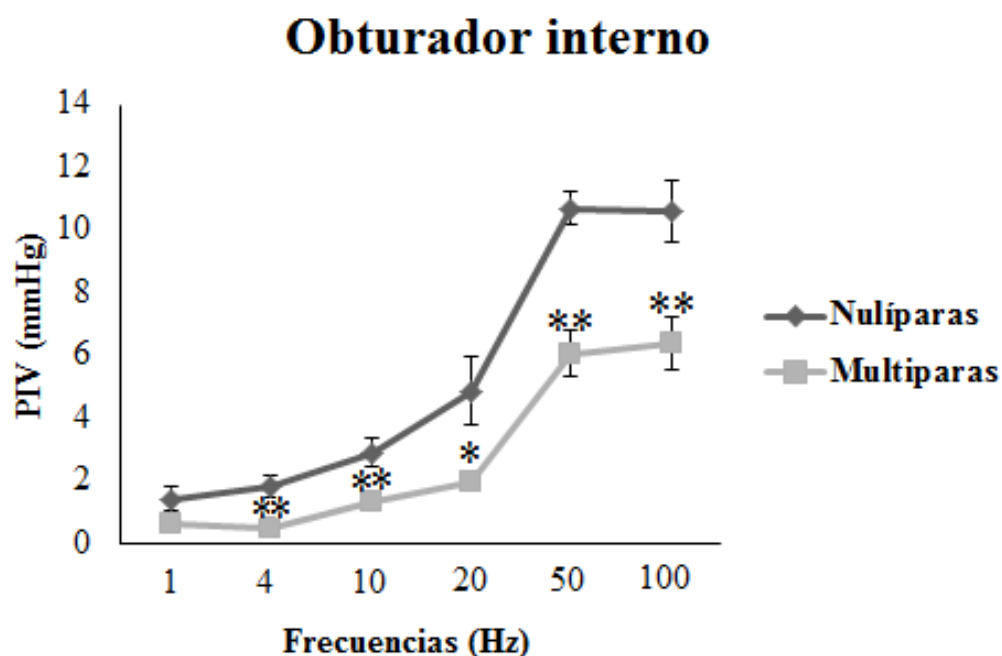
Prueba t de Student, estadísticamente significativo (*P<0.05).

Hertz = Hz.

7.9 Presión intravaginal, presión intrauretral, fuerza contráctil y frecuencia

En relación a la entre la PIV y frecuencia, se observó una correlación existente entre la frecuencia aplicada al músculo OI y la presión generada sobre la vagina pélvica. La curva de hembras nulíparas mostró que conforme se aumentaba la frecuencia de estimulación, la PIV también se aumentaba. Al estimular a frecuencias bajas (4, 10 y 20 Hz) se observó poco incremento de la PIV. Sin embargo, a frecuencias altas (50 y 100 Hz) la presión se estabilizó, es decir, el músculo ya no desarrolló mayor fuerza. A 50 Hz se alcanzó un valor máximo de 10.69 ± 0.52 mmHg. Respecto a la curva generada en hembras múltiparas, también se mostró

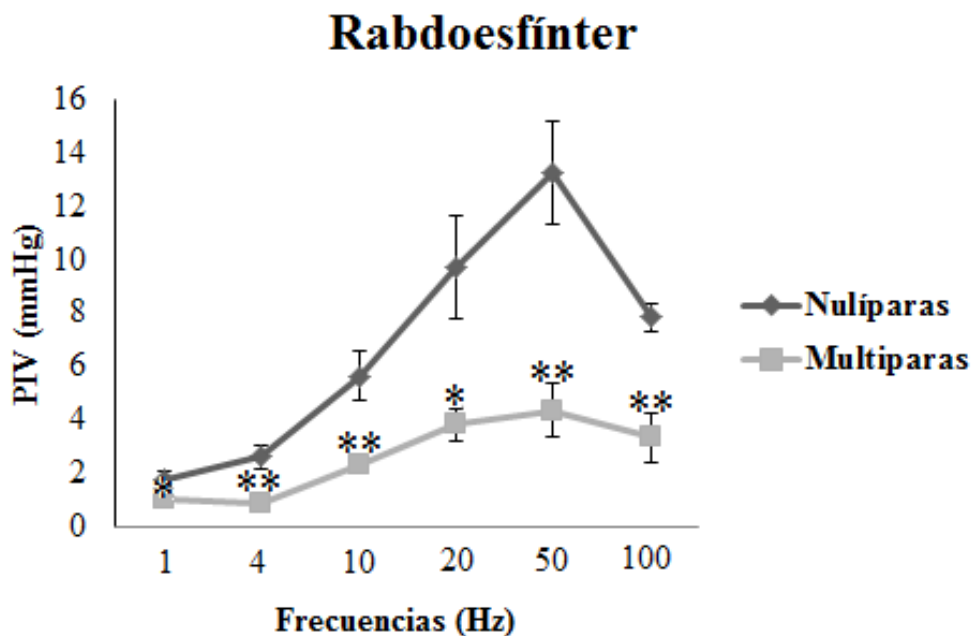
un ligero incremento de la PIV pélvica a frecuencias bajas. No obstante, a frecuencias altas se aumentó la PIV y no pareció estabilizarse. Al estimular a 100 Hz, se alcanzó un valor máximo de 6.38 ± 0.86 mmHg. Se encontró que hay una disminución significativa de la PIV generada por la contracción del músculo OI en hembras multíparas con respecto a las nulíparas (Gráfica 1).



Gráfica 1. Relación entre la presión intravaginal de la región pélvica (mmHg) y la frecuencia de estimulación (Hz) del músculo obturador interno de hembras nulíparas y multíparas. Se reporta promedio \pm error. Prueba t de Student, estadísticamente significativo (* $P < 0.05$).

La estimulación eléctrica al músculo RE produjo una correlación existente entre la frecuencia de estimulación y la presión generada sobre la vagina pélvica. La curva de hembras nulíparas mostró que al aumentar la frecuencia de estimulación, la PIV pélvica también incrementaba. Al estimular a 50 Hz, la PIV alcanzó un valor máximo de 13.24 ± 1.90 mmHg. Sin embargo, al estimular a 100 Hz se provocó una disminución de la PIV alcanzando un valor de 7.85 ± 0.51 mmHg. Respecto a la curva generada en las hembras multíparas se provocó un

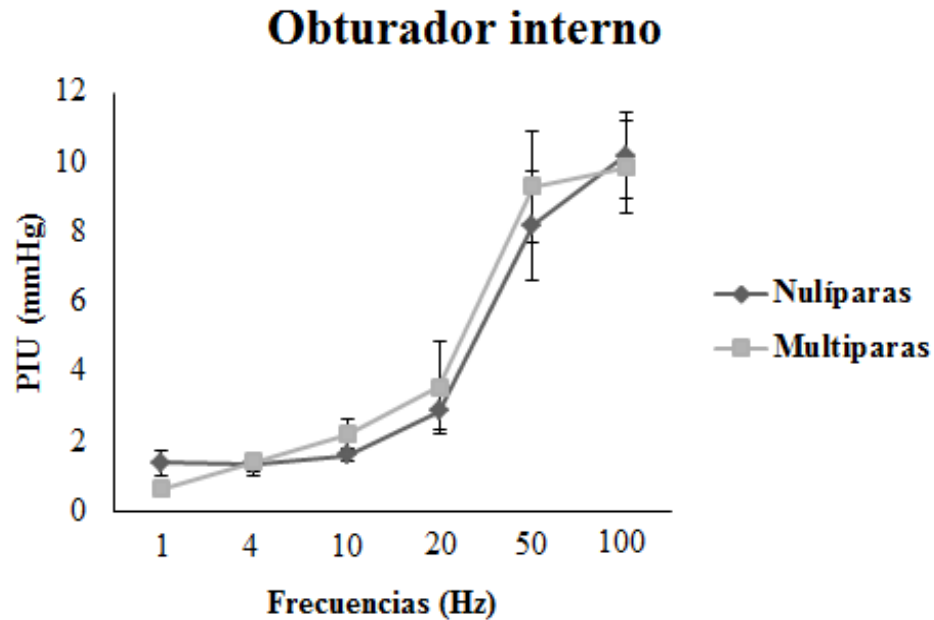
ligero incremento de PIV pélvica a distintas frecuencias de estimulación. Al estimular a 50 Hz, la PIV alcanzó un valor máximo de 4.37 ± 1.02 mmHg. Sin embargo, a 100 Hz se observó una disminución de la PIV pélvica obteniéndose un valor de 3.35 ± 0.94 mmHg. En general, se observó una disminución significativa de la PIV generada por la contracción del músculo RE en hembras multíparas con respecto a las nulíparas (Gráfica 2).



Gráfica 2. Relación entre la presión intravaginal de la región pélvica (mmHg) y la frecuencia (Hz) del músculo rabdoesfínter de hembras nulíparas y multíparas. Se reporta promedio \pm error. Prueba t de Student, estadísticamente significativo (* $P < 0.05$).

Durante la estimulación eléctrica aplicada al músculo OI se observó una correlación entre la frecuencia aplicada al músculo y la presión generada sobre la uretra. En hembras nulíparas se mostró que conforme se aumentaba la frecuencia de estimulación del OI también se incrementaba la presión en la uretra. La estimulación a 4, 10, 20 Hz produjo un pequeño incremento de la PIU generada por el músculo OI. Sin embargo, a frecuencias de 50 y 100 Hz se observó mayor incremento en la PIU. A 100 Hz, el músculo OI generó la mayor PIU con un valor máximo de 10.18 ± 1.24 mmHg.

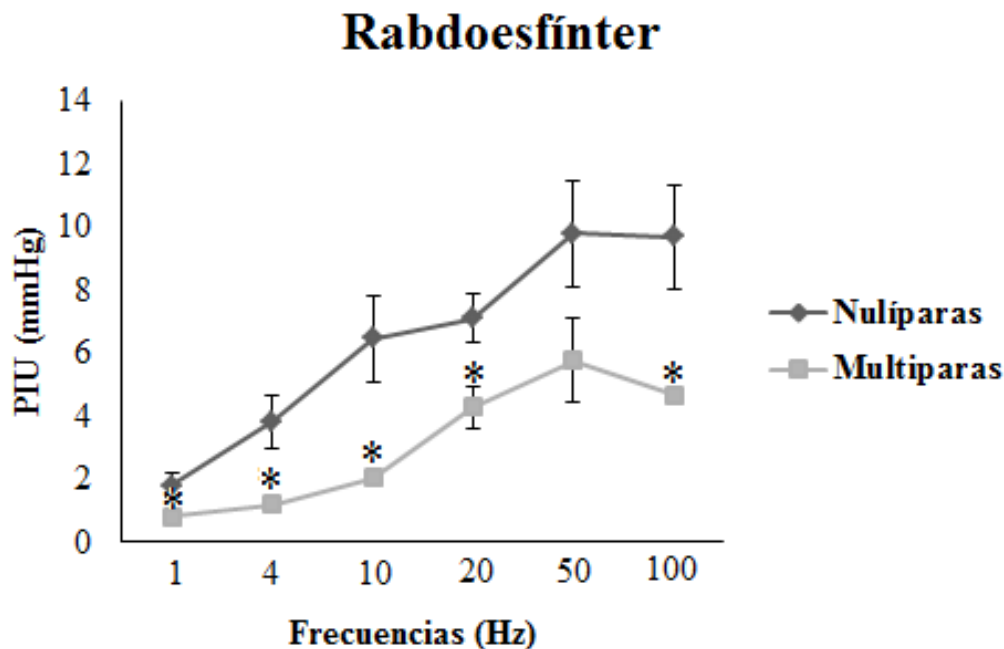
En las hembras multíparas se observó la misma tendencia. La estimulación eléctrica a 100 Hz del músculo OI produjo un incremento máximo en la PIU de 9.85 ± 1.32 mmHg, ligeramente menor a las hembras nulíparas, por lo que no se encontraron diferencias significativas en la PIU generada por el músculo OI en hembras multíparas con respecto a las nulíparas (Gráfica 3).



Gráfica 3. Relación entre la presión intrauretral (mmHg) y la frecuencia (Hz) del músculo obturador interno de hembras nulíparas y multíparas. Se reporta promedio \pm error. Prueba t de Student, estadísticamente significativo (* $P < 0.05$).

La estimulación eléctrica aplicada al músculo RE produjo una correlación entre la frecuencia de estimulación y la presión generada sobre la uretra. En las hembras nulíparas se observa un incremento de la PIU a medida que se aumentó la frecuencia de estimulación del RE. La curva muestra una meseta a las frecuencias de 50 y 100 Hz. A 50 Hz se generó una presión máxima en la uretra de 9.78 ± 1.69 mmHg. Esta misma tendencia se observó en las hembras multíparas. Sin embargo, existen diferencias significativas con respecto a las

nulíparas. La estimulación a 50 Hz incrementó la presión a 5.75 ± 1.32 mmHg y una disminución en la PIU a 100 Hz de 4.65 ± 0.25 mmHg (Gráfica 4).



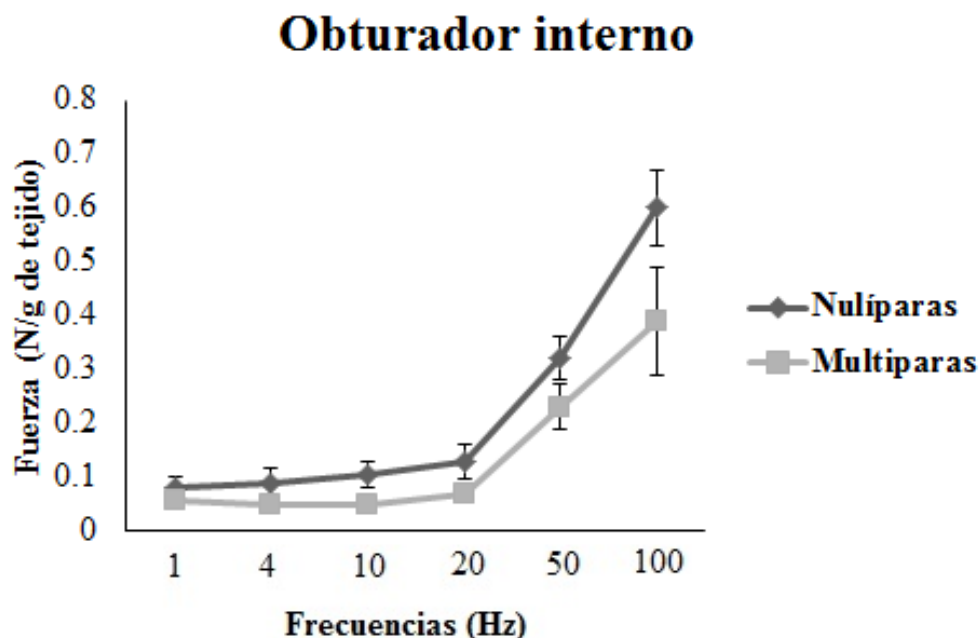
Gráfica 4. Relación entre la presión intrauretral (mmHg) y la frecuencia de estimulación (Hz) del músculo rabdoesfínter de hembras nulíparas y múltiparas. Se reporta promedio \pm error. Prueba t de Student, estadísticamente significativo (* $P < 0.05$).

Para la relación entre la fuerza contráctil del músculo OI y frecuencia, los datos normalizados de la fuerza se presentan en N/g de tejido. Durante la estimulación eléctrica al músculo OI en hembras de ambas condiciones (nulíparas y múltiparas), se mostró que al aumentar la frecuencia de estimulación también la fuerza se aumentaba.

En hembras nulíparas se observó que a frecuencias de 4, 10 y 20 Hz se incrementa la fuerza contráctil generada por el músculo OI. A medida que se aumentó la frecuencia de estimulación (50 y 100 Hz) se obtuvo un mayor incremento de la fuerza contráctil. A 100 Hz, se obtuvo un valor máximo de 0.600 N/g.

Respecto a las hembras múltiparas se observó la misma tendencia en los resultados. Durante el incremento de la frecuencia de los trenes de estimulación se incrementaba la fuerza contráctil desarrollada por el músculo OI. Al estimular a 100 Hz, el músculo OI desarrollo

0.390 N/g. Sin embargo, no se muestran diferencias significativas de la fuerza contráctil generada por el músculo OI en hembras multíparas con respecto a las nulíparas (Gráfica 5).

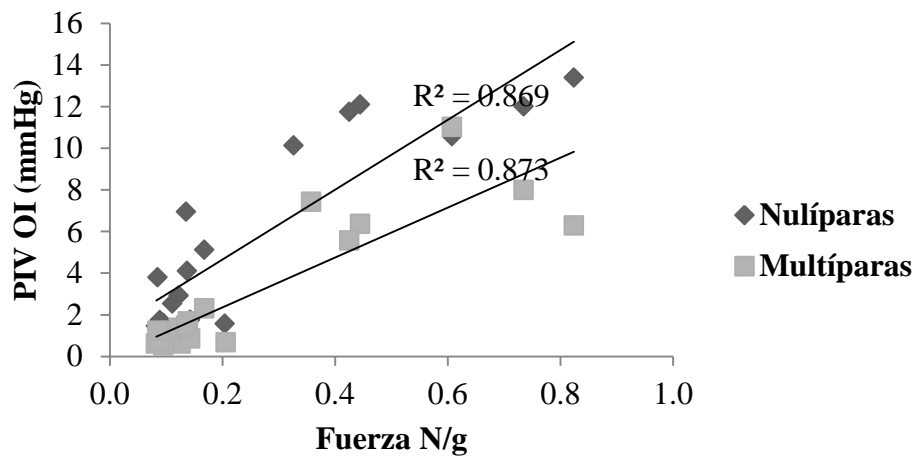


Gráfica 5. Relación entre la fuerza contráctil (N/g) y la frecuencia (Hz) del músculo obturador interno en hembras nulíparas y multíparas. Se reporta promedio \pm error. Prueba t de Student, estadísticamente significativo (* $P < 0.05$).

7.10 Análisis de correlación entre presión intravaginal, presión intrauretral y fuerza contráctil

Los datos mostrados en las gráficas de correlación para la fuerza isométrica se tomaron de los datos normalizados (N/g de tejido). Al realizar la prueba de correlación de Pearson se mostró una correlación positiva entre la PIV y la fuerza contráctil del músculo OI en hembras nulíparas ($r = 0.869$, $n = 18$, $P = 0.001$). También, se encontró una asociación lineal entre la PIV y la fuerza contráctil del músculo OI en hembras multíparas ($r = 0.873$, $n = 18$, $P = 0.001$). Se muestra una correlación positiva cercana a 1, por lo tanto, al incrementar la fuerza contráctil del músculo OI la PIU fue mayor (Gráfica 6).

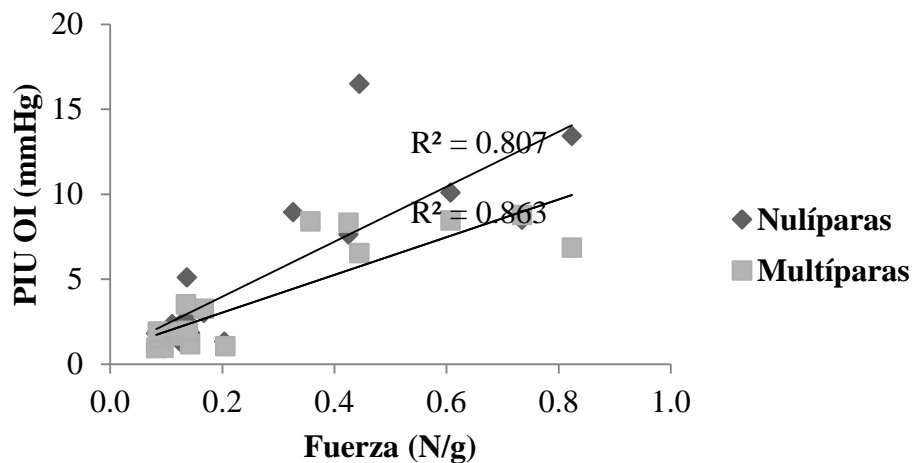
Obturador interno



Gráfica 6. Correlación entre la presión intravaginal y la fuerza contráctil del músculo obturador interno en hembras nulíparas y multíparas. Se muestra promedios \pm error estándar y coeficiente de regresión. Nulíparas ($P= 0.001^{***}$). Multíparas ($P= 0.001^{***}$).

De la misma manera, se observó una asociación lineal entre la PIU y la fuerza contráctil del músculo OI en hembras nulíparas ($r= 0.807$, $n= 18$, $P= 0.001$). Se encontró una correlación positiva cercana a 1, es decir, al incrementar la fuerza contráctil la PIU es mayor. De la misma manera se muestra una asociación lineal entre la PIU y la fuerza contráctil del músculo OI en hembras multíparas ($r= 0.863$, $n= 18$, $P= 0.001$). Se observó una correlación positiva cercana a 1, así que al incrementar la fuerza contráctil la PIU fue mayor (Gráfica 7).

Obturador interno



Gráfica 7. Correlación entre la presión intrauretral y la fuerza contráctil del músculo obturador interno en hembras nulíparas y múltiparas. Se muestra promedios \pm DE y coeficiente de regresión. Nulíparas ($P= 0.001^{***}$). Múltiparas ($P= 0.001^{***}$).

8. DISCUSIÓN

En el presente estudio se encontró que la multiparidad afecta la fuerza contráctil de los músculos obturador interno y rabdoesfínter, así como la presión intravaginal e intrauretral generada por su contracción. Pero los efectos son diferenciales de acuerdo al músculo en cuestión.

8.1 Edad y peso corporal

Los registros se realizaron en conejas adultas nulíparas y múltiparas de 11 a 12 meses de edad, bajo las mismas condiciones de bioterio. El peso corporal fue significativamente menor en las hembras múltiparas respecto a las nulíparas. Nuestros resultados, en este aspecto fueron similares a los obtenidos por López-Juárez y cols. (2013).

Durante la cirugía, en las hembras múltiparas se observó mayor cantidad de grasa subcutánea pélvica y abdominal que en hembras nulíparas. En la gestación y lactancia, la grasa

tiene vinculación con el sostenimiento energético durante estos procesos fisiológicos (Rebuffe-Scrive 1990, Bohler y cols. 2010). Probablemente esto se deba a la existencia de un mayor gasto energético en las multíparas para adecuarse a diversos procesos fisiológicos como los descritos en la mujer (Lukacz y cols. 2006). En la mujer, estos procesos se han asociado con disfunciones del aparato urogenital (Ashton-Miller y DeLancey 2009, Sigurdardottir y cols. 2011, Altaweel y Alharbi 2012).

8.2 Parámetros morfométricos de los músculos obturador interno y rabdoesfínter

Los datos obtenidos en este estudio son los primeros que muestran los cambios morfométricos del músculo OI y RE. El músculo OI fue más ancho en su origen e inserción en las hembras multíparas respecto a las hembras nulíparas. Esto quizá se deba a que es un músculo plano con forma triangular que cubre la pared ventral de la vagina pélvica (Sánchez-Zayas 2014). Por lo que durante el parto, el paso de los fetos puede distender el conducto vaginal y a su vez empujar el músculo contra la superficie interior de la sínfisis púbica, provocando que sea más plano. Se observó que el músculo es más plano en las hembras multíparas como consecuencia de los consecutivos partos.

El largo del músculo OI fue similar entre hembras multíparas y nulíparas. Esto probablemente está relacionado a que se origina en la cavidad pélvica pero se inserta en la superficie medial del trocánter mayor del fémur. Por lo tanto, su inserción no guarda una estrecha relación anatómica con el conducto vaginal como los músculos perineales de la coneja (Martínez-Gómez y cols. 1997, Sánchez-Zayas 2014). La disposición anatómica del músculo OI sugiere que además de generar PIV y PIU, participe en otras funciones, debido a que la estimulación unilateral de este músculo provocó movimientos de la pierna ipsilateral (Carro 1997).

Respecto al músculo RE, se observó una disminución significativa del ancho en la región media en las hembras multíparas. Esto probablemente está relacionado a que es un músculo cuyas fibras musculares están dispuestas en configuración circular, formando un cinturón de fibras estriadas que rodean el plexo venoso y la vagina pélvica (López-Juárez 2011, Corona-Quintanilla y cols. 2015). Por lo que el paso de los fetos durante el parto puede distender el conducto vaginal y por ende al músculo RE. Este evento podría

provocar la sobredistensión de sus fibras musculares e incluso llegar a su ruptura. En coneja, se ha demostrado que la multiparidad reduce el área cubierta por la musculatura estriada de las paredes de la uretra distal y la vagina pélvica (Xelhuantzi y cols. 2014). Esto a su vez, se relaciona con una disminución significativa del peso del músculo obtenido en las hembras multíparas.

La disposición anatómica que presenta el músculo RE en relación al aparato urogenital favorece a que sea más susceptible a daño en comparación con el músculo OI. En conejas multíparas, se ha demostrado que el daño y la regeneración de la musculatura estriada pélvica y perineal son diferentes. Esto podría depender la localización anatómica, la composición del tipo de fibras y esfuerzo muscular durante el parto de cada musculo (López-García y cols. 2014).

8.3 Umbral de respuesta para la presión intravaginal, presión intrauretral y fuerza contráctil

En el presente estudio se observaron valores similares en el umbral que se requirió para generar la PIU mediante la contracción de los músculos OI y RE en las hembras multíparas y nulíparas. Asimismo, el valor umbral para el registro de la PIV generada por la contracción del músculo OI fue similar entre hembras multíparas y nulíparas. Sin embargo, se obtuvo una disminución significativa en el valor umbral que se requirió para generar la PIV por el músculo RE en hembras multíparas.

Probablemente, las diferencias en el valor umbral para la PIV están relacionadas a los cambios histológicos de la pared vaginal por el efecto de la multiparidad (Xelhuantzi y cols. 2014). En la coneja, se ha descrito que la pared de la vagina pélvica está compuesta de cuatro capas desde el lumen a la periferia por: mucosa, submucosa, músculo liso y una capa externa constituida de fibras de musculatura estriada que rodea a la uretra y la vagina pélvica (Rodríguez-Antolín y cols. 2009).

Por otro lado, quizá el paso de los fetos a través del tracto vaginal durante el parto puede comprimir algunos nervios que podrían modificar la morfología y la función de la musculatura estriada (Fajardo y cols. 2008).

El valor umbral para el registro de la fuerza contráctil del músculo OI fue similar entre hembras multíparas y nulíparas. Estos resultados sugieren que el músculo OI no sufre daño producto de la multiparidad.

8.4 Presión intravaginal pélvica

Los resultados del presente trabajo indican que los músculos OI y RE generan PIV pélvica. El registro de la presión generada sobre la vagina pélvica se realizó en condiciones isotónicas. La presión se registró justo debajo de la localización anatómica de ambos músculos estriados. Asimismo, se registró una disminución significativa de la PIV en hembras multíparas durante la estimulación proporcionada a los músculos estriados.

Respecto a estos resultados, en un estudio previo se mostró en la coneja, que los músculos pélvicos y perineales generan PIV. Los músculos bulboesponjoso e isquiocavernoso generaron presión en la vagina perineal y no en la vagina pélvica, mientras que el músculo pubococcígeo generó presión solo en la vagina pélvica. En este estudio la presión se registró justo debajo de la localización de los músculos. Asimismo, se observó una disminución de la PIV en hembras multíparas durante la estimulación proporcionada a los músculos bulboesponjoso e isquiocavernoso. Sin embargo, la contracción del músculo pubococcígeo en las hembras multíparas a frecuencias bajas se comportó de manera similar al bulboesponjoso e isquiocavernoso. Al aumentar la frecuencia de estimulación (50 y 100 Hz), la PIV aumentó significativamente en las hembras multíparas. La PIV generada sobre las diferentes regiones de la vagina, se relaciona con la posición anatómica de los músculos pélvicos y perineales (López-Juárez y cols. en preparación).

Estos hallazgos, muestran que la multiparidad afecta el desempeño de los músculos perineales (bulboesponjoso, isquiocavernoso y rabdoesfínter), aunque no de manera similar a los músculos pélvicos (obturador interno y pubococcígeo). Ellos, probablemente por la localización anatómica y la función que pudieran desempeñar cada uno de los músculos. Los músculos perineales se encuentran estrechamente relacionados a la región ventral del canal vaginal. Sin embargo, el músculo pubococcígeo no tiene relación directa con las vísceras urogenitales y el músculo OI cubre la pared ventral de la vagina pélvica pero su inserción es

fuera de la cavidad pélvica (Martínez-Gómez y cols. 1997, Cruz y cols. 2010, Sánchez-Zayas 2014, López-Juárez y cols. en preparación).

En coneja, la multiparidad es asociada con cambios en la morfología y en las características funcionales de los músculos estriados pélvicos y perineales adyacentes al tracto urogenital. Algunos de estos cambios se han atribuido a las fluctuaciones hormonales relacionadas a la experiencia reproductiva, al estiramiento de las fibras estriadas o al aplastamiento de los nervios durante el parto (Fajardo y cols. 2008, Martínez-Gómez y cols. 2011, López-García y cols. 2013).

Probablemente la disminución en la PIV en hembras multíparas está directamente relacionada a las características histológicas de la pared vaginal pélvica, como ya se ha mencionado.

Por otra parte, algunos estudios han demostrado la contribución algunos músculos estriados pélvicos y perineales en la generación de la PIV. En mujeres se propone que la contracción del músculo bulboesponjoso incrementa la presión intravaginal y ayuda a reducir el diámetro vaginal para prevenir el prolapso uterino durante repentinos aumentos de presión intra-abdominal (Shafik y cols. 2002). También, se ha propuesto que la contracción del músculo puborectalis tiene un importante rol en la génesis de la PIV (Jung y cols. 2007). En modelos animales como en la rata hembra, se ha mostrado que la estimulación eléctrica del músculo pubococcígeo incrementa la PIV (Pacheco y cols. 1989). En coneja, la estimulación eléctrica del músculo puborectalis (coccígeo) incrementa la presión en el canal vaginal (Rajasekaran y cols. 2012).

En el presente estudio demostramos que la contracción del músculo OI y RE, generan e incrementan la PIV pélvica. Por lo tanto, podrían participar en procesos reproductivos como la cópula y el parto, que requieren aumentos en la PIV sumándose a otros músculos estriados que regulan estas funciones en la coneja.

En coneja se ha descrito la actividad EMG refleja del músculo OI y RE en respuesta a la estimulación vaginocervical. Ambos músculos presentaron actividad EMG refleja durante la estimulación de la vagina pélvica y perineal, contrario a lo que sucede durante la estimulación de la vagina abdominal y cérvix, donde no hubo actividad EMG refleja. Los resultados obtenidos en el presente trabajo apoyan la idea que estos músculos estriados podrían activarse

durante la cópula, cuando el macho inserta el pene en la vagina. La contracción de estos músculos podría incrementar la PIV, aumentando la estimulación que recibe el pene y facilitando la eyaculación durante el apareamiento (Cruz 2000, Cruz y cols. 2010).

De la misma forma, la presión ejercida por el feto a nivel cervical y vaginal puede inhibir la activación de los músculos OI y RE, para permitir el paso del feto por la cavidad pélvica. Ello su vez, previene el incremento de la PIV e inducción de las contracciones abdominales para promover el paso de las crías a través de la región pélvica durante el parto (Cruz y cols. 2002). Este evento se presenta en un periodo de tiempo de tres a doce minutos (diez minutos en promedio) expulsando diez o más crías (Hudson y cols. 1999). Tales características funcionales se han relacionan a la musculatura estriada pélvica y perineal asociada al aparato urogenital de la coneja.

8.5 Presión intrauretral

Los resultados del presente estudio indican que el músculo OI y RE generan PIU. El registro de la presión generada sobre la uretra se realizó en condiciones isotónicas. La presión se registró justo debajo de la localización anatómica de ambos músculos.

Los datos obtenidos en este estudio son los primeros que muestran que el músculo OI genera presión sobre la uretra. Estos resultados sugieren que su contracción contribuye en los mecanismos de continencia urinaria en la coneja. Esto porque se ha determinado mediante registros simultáneos de electromiogramas y cistometrogramas que dicho músculo se activa reflejamente durante la micción. En dicho estudio se observó que el músculo OI se activa de manera fásica durante el almacenamiento y en la fase de expulsión este músculo se inhibe. Después de la expulsión de orina, el músculo presenta postdescarga (Sánchez-Zayas 2014). Con base en estos resultados y los obtenidos en el presente estudio determinamos que la contracción del músculo OI contribuye a generar presión en la uretra para ayudar a mantener el cierre uretral durante el almacenamiento de la orina.

Anatómicamente, el músculo OI cubre la pared ventral de la vagina pélvica justo donde la uretra desemboca en la línea media de la pared ventral de la misma (Sánchez-Zayas 2014). Por tal motivo, su relación anatómica cercana a la uretra favorece a que su contracción ejerza mayor PIU que el músculo RE.

Con respecto al músculo RE, nuestros resultados son consistentes con los obtenidos por Corona-Quintanilla y cols. (2015), donde demostraron que la contracción del músculo RE genera PIU. En dicho estudio también se describió que el músculo RE o también llamado bulboglandular está constituido de fibras musculares estriadas orientadas circularmente rodeando la uretra distal y la vaginal pélvica. Además, se observó, al estimular eléctricamente al músculo, que su contracción era concéntrica provocando el cerrado de la luz de la vagina y de la uretra. La estimulación de sus fibras estriadas presiona el plexo venoso contra las paredes de la uretra y la vagina pélvica. Por tal motivo, la forma de contracción de sus fibras sugiere que la función de este músculo es cerrar la luz de la uretra durante la continencia, es decir, la contracción de sus fibras hace que el plexo venoso también se comprima, realizando un cerrado hermético para evitar la salida de orina. Por lo planteado anteriormente y los resultados obtenidos en el presente estudio indican que la contracción del músculo bulboglandular es esencial en la generación e incremento de la PIU en la coneja.

En el mismo estudio se evaluó la actividad EMG refleja del músculo bulboglandular durante la micción inducida. Los resultados mostraron que dicho músculo presenta una ráfaga de actividad tónica en la fase de almacenamiento que gradualmente disminuye hasta apagarse con el inicio de la fase de vaciamiento. Además, se determinó que el músculo bulboglandular es relevante para ambas fases de la micción (continencia y expulsión de orina), debido a que su bloqueo con lidocaína disminuye la presión que desencadena la fase de vaciamiento y causa episodios de goteo de solución salina durante el almacenamiento. Asimismo, la fase de vaciamiento es también afectada por el bloqueo de la actividad del músculo reduciendo el volumen de solución salina expelida por el meato urogenital y la presión máxima observada durante el vaciamiento, ambas variables involucradas en la contractibilidad del músculo detrusor (Corona-Quintanilla y cols. 2015).

La actividad tónica del músculo bulboglandular durante la fase de almacenamiento se relaciona con los resultados obtenidos en este trabajo. El músculo bulboglandular o RE presentó contracción tónica al ser estimulado a frecuencias de 20, 50 y 100 Hz. Las respuestas contráctiles están relacionadas con la composición del tipo de fibras musculares. Una alta composición de fibras rápidas (tipo IIa/IIc) han sido descritas para el esfínter uretral en la rata (Buffini y cols. 2010), la cordera (Rodríguez-Veiga y cols. 2005) y en el conejo (Okamura y

cols. 1989). En conejas jóvenes nulíparas se ha determinado que presentan en mayor proporción fibras rápidas respecto a fibras lentas (Tokunaka y cols. 1993). Se sugiere que dicha organización está relacionada con la resistencia y el mantenimiento de la presión uretral (Rodríguez-Veiga y cols. 2005).

Por lo tanto, el arreglo anatómico de las fibras del músculo bulboglandular rodeando a la uretra distal y la vagina pélvica, la habilidad de su contracción para incrementar la PIU y la relevancia de su actividad para la continencia urinaria y eficiente vaciamiento sugiere que el músculo bulboglandular actúa como un esfínter externo de la uretra descrito en otras especies (López-Juárez 2011, Corona-Quintanilla y cols. 2015).

Hay una gran variabilidad en la anatomía y en los nombres dados a la musculatura estriada uretral entre especies (Thorn y de Groat 2010). Por ejemplo, el esfínter externo de la uretra en la rata hembra está constituido de fibras estriadas que rodean la uretra (apenas observado a simple vista). Es localizado solo detrás de la porción media de la sínfisis púbica. Además, no hay una estructura tendinosa en la línea media de la uretra donde las fibras del esfínter podrían ser unidas. Las fibras se originan en la pared uretral y lateralmente para insertarse en la pared ventral de la vagina. En hembras, el esfínter es poco desarrollado mientras que en el macho es más extenso y grueso (Cruz y Downie 2005). Histológicamente, se observó que está dividida en cuatro paquetes delimitados por tejido conectivo, cada paquete contiene el mismo número y tamaño de fibras y se ubican dos en la parte anterior que coinciden con la parte media anterior y dos porciones que concuerdan en la parte media posterior de la uretra (Praud y cols. 2003).

En cordera, el esfínter externo de la uretra es identificado en la línea media de la uretra. Tiene forma de omega y una mayor abundancia de fibras musculares estriadas en el aspecto ventral y lateral (Rodríguez-Veiga y cols. 2005). En gata, se ha descrito que el esfínter externo de la uretra está constituido de fibras de musculatura estriada localizadas en la parte distal de la uretra (Julia-Guilloteau y cols. 2007). En el mono Rhesus, el esfínter uretral se encuentra en el tercio medio de la uretra y sus fibras estriadas rodean a la uretra y la vagina (Ganzer y cols. 2004). En la mujer, la musculatura estriada asociada a la uretra, ha sido descrita como un complejo muscular llamado esfínter urogenital estriado. Este complejo está constituido por tres músculos: el rabdoesfínter que rodea a la uretra proximal, el esfínter

uretrovaginal que rodea a la parte distal de la uretra y parte de la vagina pélvica y el compresor uretral que rodea la parte distal de la uretra (Oelrich 1983).

En coneja, la musculatura estriada asociada a la uretra fue primeramente denominada músculo bulboglandular. Este músculo se describió como una fina capa de musculatura estriada que corre ventrodorsalmente rodeando el plexo venoso, la uretra distal y la vagina pélvica (Martínez-Gómez y cols. 1997). En otro estudio de anatomía gruesa, se describió que sus fibras estriadas presentan una disposición circular, observándose como un cinturón de fibras estriadas justo donde se hace un solo conducto de la uretra con la vagina. Sus fibras estriadas rodean el plexo venoso, la porción media de la uretra distal y la vagina pélvica. Además, los fascículos de fibras estriadas son unidos a la porción ventral y dorsal del plexo venoso por un ligamento uretral (López-Juárez 2011). Esta musculatura estriada no tiene uniones a estructuras esqueléticas y actúa como un verdadero esfínter (su contracción no produce movimiento excepto constricción del lumen) (Thorn y de Groat 2010).

Histológicamente, en coneja se observó que la pared de la uretra distal y la vagina pélvica presentan una capa de músculo liso y estriado. La capa de músculo liso está compuesta de fibras con orientación longitudinal y circular entremezcladas con abundante tejido conectivo. La capa de musculatura estriada está compuesta de fibras con orientación circular rodeando a la uretra y la vagina pélvica. Sus fibras estriadas se encuentran entremezcladas con un plexo venoso y abundante tejido conectivo, encontrándose más abundantes en las paredes laterales (Xelhuantzi 2006, Rodríguez-Antolín y cols. 2009, López-Juárez 2011, Xelhuantzi y cols. 2014). También, se propuso que el número de rugosidades en la mucosa de la uretra distal y la vagina pélvica podrían participar en la apertura y cierre del lumen de estas dos estructuras que junto con el abundante tejido conectivo y la musculatura estriada pueden ayudar a mantener la continencia urinaria durante el llenado vesical y promover la expulsión de orina. Por lo tanto, las fibras del músculo estriado en la uretra distal y la vagina pélvica podrían actuar como un esfínter durante la micción, confiriendo mayor capacidad contráctil a estas regiones (Rodríguez-Antolín y cols. 2009).

A partir de los estudios histológicos, anatómicos y funcionales de la musculatura estriada asociada a la uretra y vagina proponemos que el músculo bulboglandular debe ser

considerado como un esfínter externo de la uretra en la coneja (Rodríguez-Antolín y cols. 2009, López-Juárez 2011, Corona-Quintanilla y cols. 2015).

Es importante señalar que la musculatura estriada de la uretra ha sido históricamente referida por muchos nombres, incluyendo esfínter externo de la uretra, esfínter uretral externo, músculo estriado uretral, entre otros. Sin embargo, recientemente se ha remplazado el término esfínter externo de la uretra por el de “rabdoesfínter” debido a que no es realmente externo al TUI. El RE uretral es considerado como un verdadero esfínter dado que es un componente intrínseco del TUI. Este término es derivado del latín rhabdo (por estriado) y esfínter (sujetar firmemente) (Jankowski y cols. 2003, Thorn y de Groat 2010, Hung-Yen Chin y cols. 2012). Por tanto, en el presente estudio proponemos que el músculo bulboglandular debe ser considerado como rabdoesfínter.

Otro aspecto importante, es que las fibras del músculo RE se adosan a un tendón ventral por medio de tejido conectivo, por lo que las fibras del músculo OI y fibras del músculo RE comparten parte del tejido conectivo que los unirá al mismo tendón ventral (López-Juárez 2011, Sánchez-Zayas 2014, Corona-Quintanilla y cols. 2015). La organización anatómica de ambos músculos estriados se asemeja un esfínter urogenital estriado descrito para la mujer que regula la continencia urinaria (Oelrich 1983). Las fibras estriadas del músculo RE rodea a la uretra distal y la vagina de la coneja, esto se asemeja a un esfínter uretrovaginal en la mujer. Asimismo, el OI cubre la pared ventral de la vagina pélvica y uretra, por tal motivo, puede ejercer una función similar al músculo compresor uretral de la mujer (Corona-Quintanilla y cols. 2015). La organización anatómica del músculo OI y RE, su actividad refleja durante el almacenamiento de la orina y la generación de PIU, sugiere que actúan como un complejo esfintérico que mantiene el cierre uretral durante la continencia urinaria en la coneja.

Por otra parte, se ha determinado que otros músculos también contribuyen a la generación de la presión uretral y vaginal. Por ejemplo, un estudio realizado en coneja nulíparas, determinó que la estimulación eléctrica al músculo puborectalis (coccígeo) incremento la presión en los canales: anal, vaginal y uretral. Por tal motivo, se mostró que el músculo puborectalis contribuye significativamente en la generación de la PIU (Rajasekaran y cols. 2012).

En otro estudio, se demostró la activación temporal y coordinada de algunos músculos estriados pélvicos y perineales durante la micción: un músculo pélvico (pubococcígeo) se activa durante el almacenamiento de la orina (Corona-Quintanilla y cols. 2009). Más adelante se observó que su contracción inhibe la contracción vesical mientras facilita el cierre uretral (Corona-Quintanilla y cols. 2013). Así, la contracción del músculo pubococcígeo también participa en la continencia urinaria y genera presión en la región vaginal donde desemboca la uretra para contribuir a mantener el cierre uretral durante el almacenamiento de la orina en la coneja (Martínez-Gómez y cols. 1997, López-Juárez 2013).

A partir de estos estudios, se sugiere que la contracción del músculo pubococcígeo y puborectalis participan en la generación de la presión uretral para mantener el cierre uretral durante el almacenamiento de la orina en la coneja. Asimismo, los resultados obtenidos en el presente estudio demuestran que el músculo OI y RE también generan e incrementan la PIU. Además, por la disposición anatómica que presentan dichos músculos en relación a la uretra y la vagina, contribuyen con la resistencia y el mantenimiento de la PIU (Martínez-Gómez y cols. 1997, López-Juárez 2011, Corona-Quintanilla y cols. 2015).

En otros modelos animales se ha mostrado la participación de la musculatura estriada en la generación de la PIU. En rata (Kamo y cols. 2003, Kamo y cols. 2004, Kamo y cols. 2007) y en gata (Julia-Guilloteau y cols. 2007), se demostró que el músculo RE y pubococcígeo incrementan la PIU para prevenir la fuga de orina durante el incremento repentino de la presión intraabdominal. En la mujer, también se ha descrito que la apertura o cierre uretral es determinado por la contracción o relajación del músculo pubococcígeo y RE, los cuales son relevantes para incrementar la PIU durante la continencia urinaria (Shefchyk 2002, DeLancey y cols. 2003, Baber y cols. 2005).

Estos hallazgos muestran la importancia de la participación de los músculos pélvicos y perineales en la función uretral. En coneja, dado que la uretra desemboca en la vagina pélvica sitio donde se localizan los músculos OI y RE, es probable su participación en los diferentes patrones conductuales de expulsión de orina (chorro, chisguete, goteo o roció) descritas para el macho por Bell (1980) y para la hembra por Martínez-Gómez y cols. (2007). La forma más usual de evacuar un gran volumen de orina es en chorro y cuando evacua en pequeñas cantidades es en roció. De manera, que no solo son capaces de mantener la continencia

urinaria, sino también regulan la cantidad de orina emitida y la dirección de esta. Por ello, es probable que la contracción de ambos músculos contribuyan a mantener la continencia urinaria y a modular la cantidad de orina emitida durante la micción, sumándose a otros músculos estriados para estas funciones.

Por otra parte, los resultados mostrados en el presente estudio indican que la condición de multiparidad no disminuye la PIU generada por la contracción del músculo OI. Sin embargo, se registró una disminución significativa de la PIU generada por el músculo RE. Estas diferencias probablemente están relacionadas a la disposición anatómica de los músculos estriados en relación con el aparato urogenital (Martínez-Gómez y cols. 1997). El músculo OI cubre la pared ventral de la vagina pélvica pero su inserción es fuera de la cavidad pélvica (Sánchez-Zayas 2014). Sin embargo, el músculo RE rodea a la uretra y la vagina pélvica (López-Juárez 2011). Por lo que el paso de los fetos durante el parto puede distender el conducto vaginal y por ende al músculo RE. Este evento podría provocar la sobredistensión de sus fibras musculares favoreciendo a ser más susceptible a daño en comparación con el músculo OI.

Posiblemente, la disminución de la PIU en hembras multíparas está relacionada a cambios en las características histológicas de la pared uretral. En hembras multíparas los límites entre la lámina propia, submucosa y capa de músculo liso son indistinguibles. El grosor del epitelio es más delgado y el número y longitud de pliegues epiteliales es inferior. Asimismo, el grosor y área cubierta por los vasos sanguíneos, musculatura lisa y estriada es menor (Xelhuanzi y cols. 2014).

En conejas, se ha mostrado que la activación coordinada de músculos estriados pélvicos (pubococcígeo) y perineales (bulboesponjoso e isquiocavernoso) es modificada durante la micción en hembras multíparas. Además, la urodinamia también es modificada por la multiparidad. Se observaron alteraciones en el valor umbral, volumen residual, duración de vaciamiento y la presión máxima. Por tal motivo, la multiparidad causa actividad descoordinada de músculos estriados pélvicos y perineales y modificación de algunos parámetros urodinámicos (Martínez-Gómez y cols. 2011). Por otra parte, quizá la disminución de la PIU generada por el músculo RE podría contribuir en la modificación de estos parámetros urodinámicos en hembras multíparas. Sin embargo, no se sabe si la multiparidad

modifica la actividad EMG refleja del músculo RE y OI durante la micción. Las modificaciones en las variables urodinámicas se han asociado a cambios estructurales y funcionales de la musculatura estriada posiblemente como resultado de su distensión durante el parto (Fajardo y cols. 2008).

8.6 Fuerza contráctil del músculo obturador interno

Los datos obtenidos en el presente estudio muestran que no hay diferencias significativas de la fuerza contráctil generada por el músculo OI entre hembras nulíparas y múltiparas, durante los estímulos aplicados a diferentes frecuencias de estimulación. Asimismo, se observó que el valor umbral para generar la contracción del músculo OI fue similar entre condiciones. Los resultados obtenidos en este estudio son los primeros que muestran el efecto de la multiparidad sobre la fuerza contráctil desarrollada por el músculo OI.

En otro estudio, solo se ha determinado el área de la sección transversal del músculo OI como un predictor de la capacidad de generación de fuerza isométrica. En dicho estudio se comparó el área de la sección transversal del músculo OI en cadáveres de mujeres nulíparas y cadáveres de mujeres que tuvieron parto por vía vaginal. Determinaron que el área de la sección transversal del músculo OI no es significativamente diferente entre grupos (Cook y cols. 2016).

El área de la sección transversal del músculo representa el número máximo de puentes cruzados de miosina y actina durante la contracción muscular. Por tal motivo, la fuerza máxima de un músculo es proporcional al área de la sección transversal del músculo (Aagaard y cols. 2001, Klein y cols. 2001, Felder y cols. 2005).

La fuerza máxima contráctil por área transversal del músculo es similar entre los músculos de diferentes especies (Close 1972). Sin embargo, la fuerza de las fibras musculares puede no sumarse de acuerdo al arreglo geométrico simplificado asumido por varios modelos, como la fuerza considerable contráctil que puede ser transmitida lateralmente vía matriz interfibrilar (Street 1983, Trotter 1993). Esto es posible, debido a la capacidad de la fuerza generada por los sarcómeros que son relativamente uniformes entre varios músculos esqueléticos en el humano. Mientras que la transmisión de fuerza de los sarcómeros para la aponeurosis del tendón puede diferir considerablemente debido a las diferencias en la

arquitectura del músculo, de este modo las diferencias marcadas en la fuerza se dan por el área transversal de las fibras musculares (Fukunaga y cols. 1996).

Es posible que los resultados obtenidos en el presente estudio estén relacionados a la disposición anatómica que presenta el músculo OI. De manera, que el paso de los fetos durante el parto puede distender el conducto vaginal sin alcanzar a dañar al músculo OI.

Los resultados obtenidos en el presente estudio mostraron que la contracción del músculo OI sigue la frecuencia de estimulación al ser estimulado a 4, 10 y 20 Hz. Sin embargo, al estimular a 50 y 100 Hz se observó la tetanización de sus fibras. A 100 Hz, el músculo OI se fatiga. Su mecánica contráctil está directamente relacionada al tipo de fibras musculares que lo componen. Se ha sugerido que es un músculo con mayor proporción de fibras tipo II dado que su actividad y función es la rotación externa de la cadera en humanos (Morris y cols. 2012). En coneja no se ha determinado el tipo de fibras musculares y si podría modificarse por la multiparidad.

En un estudio previo en coneja, se mostró que la multiparidad disminuye la fuerza contráctil desarrollada por el músculo pubococcígeo, bulboesponjoso e isquiocavernoso, durante los estímulos aplicados a diferentes trenes de frecuencia. Asimismo, se determinó que la multiparidad tiene efectos sobre la función de la musculatura estriada pélvica y perineal (López y cols. 2013).

A partir de estos estudios y los resultados obtenidos en el presente estudio, muestra que la multiparidad no tiene los mismos efectos sobre la musculatura pélvica y perineal asociada al aparato urogenital de la coneja doméstica. Esto radica probablemente en su localización anatómica que presenta cada uno de los músculos estriados asociados al aparato urogenital.

Respecto al músculo RE, en el presente estudio no se registró su fuerza contráctil. Esto debido a su morfología y disposición anatómica que presenta dicho músculo en relación al aparato urogenital. El músculo RE es una capa fina de musculatura estriada con orientación circular; observándose, como un cinturón de fibras estriadas que discurren lateralmente al tendón ventral para insertarse en un tendón dorsal (López-Juárez 2011). Esta musculatura estriada no tiene uniones a estructuras esqueléticas como otros músculos estriados y es un componente intrínseco del TUI (Thorn y de Groat 2010). El método experimental para registrar la fuerza contráctil consistió en desinsertar el músculo de su origen a nivel de tendón

ventral. Sin embargo, presenta fibras musculares que se entremezclan con tejido conectivo y el plexo venoso. Por tal motivo, no es posible desinsectar todas sus fibras musculares para sujetarlas mediante un hilo al transductor de fuerza. Además, durante los estímulos aplicados a diferentes frecuencias de estimulación, los fascículos de fibras estriadas se desgarran. Por lo tanto, no se puede registrar la actividad contráctil de todas sus fibras y obtener la fuerza total.

8.7 Relación de la frecuencia y la presión intravaginal, presión intrauretral y la fuerza contráctil

En el presente estudio se muestran alteraciones por efecto de la multiparidad sobre estructuras del aparato urogenital (vagina pélvica y uretra) y en las fibras musculares estriadas del RE. La PIU y PIV generada por la contracción del músculo RE disminuyó en las hembras multíparas. Las curvas observadas para las hembras multíparas fueron más planas, por lo que la condición de multiparidad presenta una modificación en la mecánica contráctil del músculo RE reflejada en la PIU y PIV. Sin embargo, solo la PIV generada por la contracción del músculo OI disminuyó en hembras multíparas. La fuerza contráctil no presentó cambios por efecto de la multiparidad. Esto indica que la condición de multiparidad tiene un efecto diferencial en los músculos estriados pélvicos y perineales. Posiblemente, por su disposición anatómica y la función que desempeña cada músculo asociado al aparato urogenital de la coneja.

El parto implica distensión y esfuerzo mecánico del conducto vaginal por el paso de los fetos durante el parto. Asimismo, provoca alteraciones en las características histológicas de la pared vaginal y uretral (Lin y cols. 2010). Asimismo, las fluctuaciones hormonales debido a la experiencia reproductiva podrían causar modificaciones en la fisiología del TUI y de la musculatura estriada asociada al aparato urogenital. Algunos de estos cambios endocrinos están relacionados a una alteración en los niveles de estrógenos. En conejas multíparas, se mostró un aumento en el suero de estradiol al final del segundo parto, pero ausente al final del cuarto parto. Además, hay una alta expresión de receptores a estrógenos en el tejido conectivo y las miofibrillas de músculos estriados pélvicos y perineales (López-García y cols. 2013). Se sabe que los estrógenos pueden influenciar en las propiedades contráctiles del músculo esquelético. También, se ha mostrado que participan en procesos de regeneración muscular (Enns y Tiidus 2010). Quizá estas variaciones en los niveles de estrógenos en las hembras

multíparas podrían influir en la función del músculo RE que se encuentra estrechamente relacionado a la uretra, la vagina pélvica y el plexo venoso.

8.8 Correlación entre la presión intravaginal, presión intrauretral y fuerza contráctil

En el presente estudio se mostró una correlación positiva entre la PIU, la PIV y la fuerza isométrica contráctil para el músculo OI en hembras nulíparas y multíparas. En hembras multíparas se observó una disminución de la PIV pélvica. Los resultados muestran que la condición de multiparidad es asociada a cambios en las características histológicas de la vagina más que al músculo OI.

El parto se ha asociado con alteraciones histológicas que involucra una reducción en la cantidad de musculatura lisa y estriada, así como un incremento en la cantidad de colágeno en la pared uretral y vaginal (Cannon y cols. 2002, Lin y cols. 2010, Chin y cols. 2010). Estos cambios histológicos se han relacionado a eventos isquémicos (Damaser y cols. 2005) o a ruptura de fibras neurales que inervan la pared vaginal como resultado de la distensión vaginal durante el parto (Rocha y cols. 2007). En coneja, se ha demostrado que la multiparidad afecta la morfometría de los ganglios paravaginales, incrementando el área ganglionar y reduciendo el número de neuronas ganglionares (Castelán y cols. 2013). Todos estos efectos podrían incluir alteraciones en la morfología e inervación de uretra y la vagina debido a los sucesivos partos. Estos cambios son asociados con modificaciones en los procesos reproductivos y excretorios (Xelhuantzi y cols. 2014).

Otros estudios han propuesto mecanismos adaptativos que permiten preparar a la vagina para el estado de gestación y parto (Feola y cols. 2010). La gestación induce adaptaciones en la vagina y en sus tejidos de soporte para permitir incrementar su distensibilidad facilitando el paso del feto durante el parto. La distensibilidad del tejido vaginal podría minimizar la presión ejercida por las paredes vaginales durante el paso de los fetos (Alperin y cols. 2010). En términos mecánicos, se presenta una remodelación de los mecanismos pasivos (colágeno) y mecanismos activos (músculo liso). Los mecanismos pasivos alteran la composición y organización de la matriz extracelular fibrilar y los mecanismos activos modifican la organización, la cantidad y capacidad contráctil del músculo liso. Estos dos elementos son principalmente responsables de las adaptaciones maternas para

la preparación de la vagina durante el parto (Daucher y cols. 2007, Feola y cols. 2010). Por lo tanto, estos cambios podrían estar relacionados con la disminución de la PIV pélvica generada en hembras multíparas.

9. CONCLUSIONES

9.1 General

El músculo obturador interno y rabdoesfínter contribuyen de manera diferencial a la generación de la presión intravaginal e intrauretral. Además, la multiparidad afecta de manera distinta a los músculos obturador interno y rabdoesfínter. Debido a que las propiedades contráctiles del músculo obturador interno no se modifican, es posible que alteraciones en las características histológicas de la pared vaginal y uretral, contribuyan a los cambios de presión observados en hembras multíparas. Esto a su vez, podría modificar procesos reproductivos y no reproductivos.

9.2 Particulares

- La contracción del músculo **obturador interno** y **rabdoesfínter** genera presión en la vagina pélvica y en la uretra.
- El musculo **obturador interno** genera mayor presión intrauretral que el músculo rabdoesfínter.
- El músculo **rabdoesfínter** genera mayor presión intravaginal pélvica que el músculo obturador interno.
- La multiparidad disminuye la presión que generan los músculos **obturador interno** y **rabdoesfínter** sobre la vagina pélvica.
- La multiparidad disminuye la presión que genera el músculo **rabdoesfínter** sobre la uretra, pero no la presión que genera el músculo **obturador interno**.
- La multiparidad no disminuye la fuerza contráctil del músculo **obturador interno**.

10. MODELO DE CONTRACCIÓN DE LOS MÚSCULOS OBTURADOR INTERNO Y RABDOESFÍNTER

En el presente trabajo hemos evaluado en conejas nulíparas y multíparas la presión generada por los músculos OI y RE sobre la vagina pélvica y uretra. Asimismo, determinamos la fuerza contráctil desarrollada por el músculo OI. A partir de los resultados obtenidos en la presente tesis, elaboramos un modelo que muestra el modo de contracción de cada músculo en relación a la vagina y uretra en respuesta a estímulos eléctricos aplicados a diferentes frecuencias.

En la coneja doméstica, la uretra y la vagina son órganos tubulares. La última porción de la uretra se une a la pared ventral de la vagina pélvica, desembocando directamente en el canal vaginal, formando el conducto urogenital. Anatómicamente, el músculo OI se localiza ventral al plexo venoso, la vagina pélvica y uretra.

El músculo OI cubre la pared ventral del plexo venoso, la vagina pélvica y uretra. Este músculo es plano con forma triangular. Sus fibras musculares convergen en dirección ventrolateral, formando un ángulo recto y se dirigen fuera de la cavidad pélvica para insertarse mediante un tendón, en la superficie medial del trocánter mayor del fémur (figura 29 A, B).

La estimulación eléctrica aplicada al músculo OI produce el acortamiento de sus fibras de la periferia hacia el centro del músculo. La contracción de sus fibras musculares comprime la pared ventral del plexo venoso, la vagina pélvica y uretra, debido a su disposición anatómica. Asimismo, se incrementa la presión intravaginal e intrauretral y se reduce el lumen vaginal y uretral (figura 29 C).

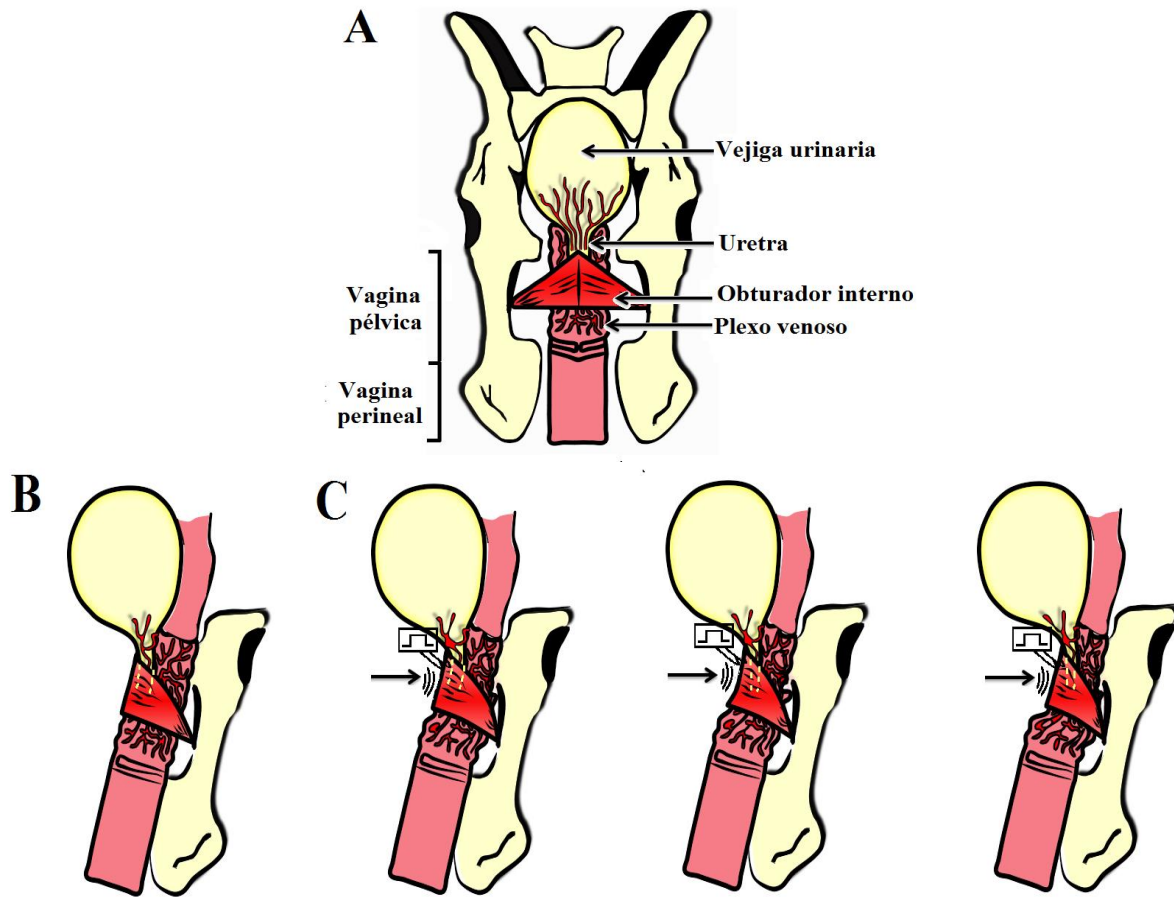


Figura 29. Representación esquemática de la disposición anatómica del músculo obturador interno y su contracción sobre la vagina pélvica y uretra de la coneja. A) Vista ventral del aparato urogenital inferior, con la ubicación anatómica del músculo obturador interno. Se muestran las estructuras adyacentes al músculo, incluyendo el plexo venoso, la vagina pélvica y uretra. B) Vista lateral del tracto urogenital. C) Representación de la contracción del músculo obturador interno. La estimulación eléctrica aplicada al músculo obturador interno produce el acortamiento de sus fibras musculares. Su contracción comprime la pared ventral del plexo venoso, vagina pélvica y uretra. Asimismo, reduce la luz de la vagina pélvica y uretra (indicado por una flecha).

Respecto al músculo rabdoesfínter, también se encuentra anatómicamente relacionado con el plexo venoso, la vagina pélvica y la uretra. La fina capa de fibras estriadas forma un cinturón de fibras estriadas justo donde desemboca la uretra en la vagina (figura 30 A, B).

La estimulación eléctrica al músculo rabdoesfínter provoca una contracción concéntrica. Se observó que el acortamiento de sus fibras musculares permite el movimiento del músculo hacia el centro de la vagina pélvica y uretra. La contracción de sus fibras

musculares genera constricción del lumen vaginal y uretral; debido a que su origen e inserción están directamente relacionados a la porción ventral y dorsal del plexo venoso. Este músculo ejerce presión sobre el plexo venoso contra las paredes de la uretra y la vagina. Los resultados obtenidos en este estudio comprueban que la contracción del músculo rabdoesfínter incrementa la presión intravaginal pélvica y uretral. En relación a ello, se ha sugerido que su contracción contribuye a la resistencia y mantenimiento de la presión uretral (figura 30 C).

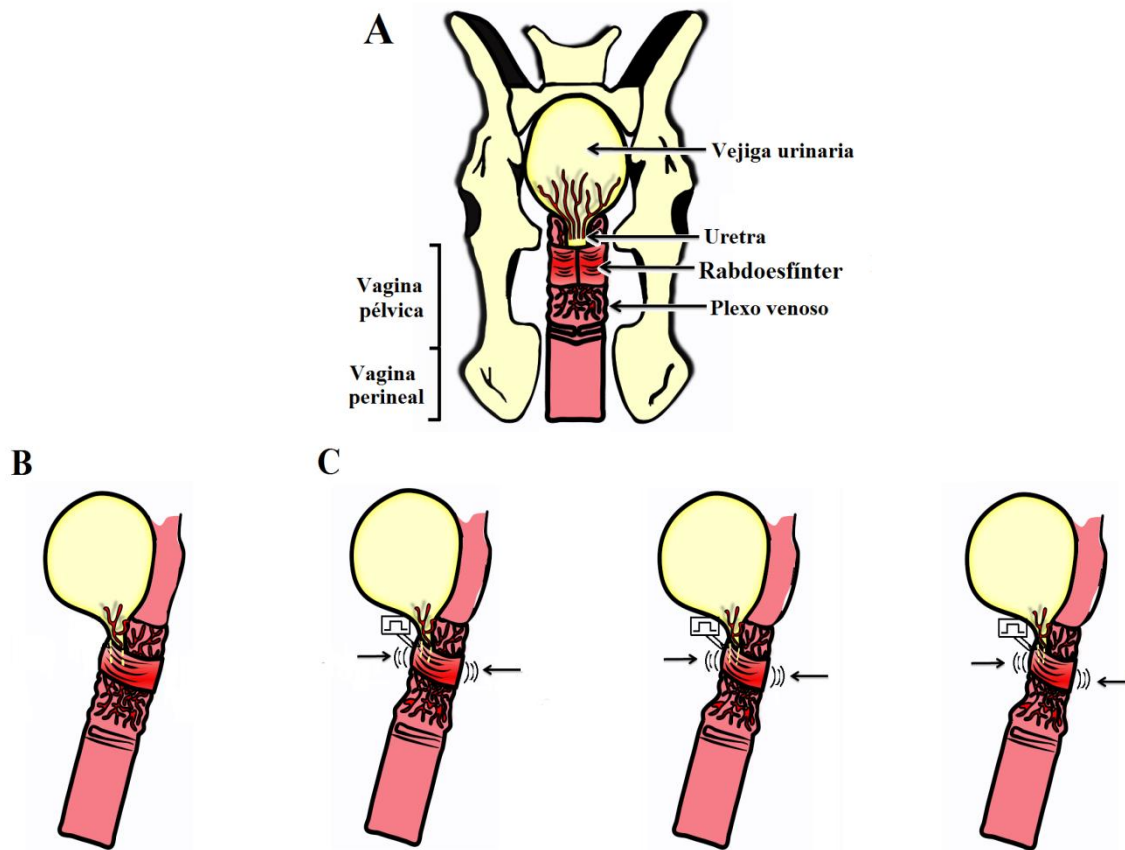


Figura 30. Representación esquemática de la disposición anatómica del músculo rabdoesfínter y su contracción sobre la vagina pélvica y uretra de la coneja. A) Vista ventral del aparato urogenital inferior, con la ubicación anatómica del músculo rabdoesfínter. Se muestran las estructuras adyacentes al músculo, incluyendo el plexo venoso, la vagina pélvica y uretra. B) Vista lateral del aparato urogenital. C) Representación de la contracción del músculo rabdoesfínter. La estimulación eléctrica aplicada al músculo rabdoesfínter provoca una contracción concéntrica. La contracción de sus fibras musculares genera constricción del lumen vaginal y uretral. Este músculo ejerce presión sobre el plexo venoso contra las paredes de la uretra y la vagina. Asimismo, reduce la luz de la vagina pélvica y uretra (indicado por flechas).

11. PERSPECTIVAS

En este estudio se determinó la fuerza contráctil que desarrolla el músculo obturador interno a través de diferentes trenes de estimulación. Asimismo se determinó cuantitativamente la presión intravaginal e intrauretral mediante estímulos eléctricos aplicados a los músculos obturador interno y rabdoesfínter. Sin embargo, en el presente estudio no se registró la fuerza contráctil del músculo RE en condiciones isométricas. Esto debido a que su musculatura no tiene uniones a estructuras esqueléticas como otros músculos estriados. Por tal motivo, no se puede registrar la actividad contráctil de todas sus fibras y obtener la fuerza total. Por ello, se podría registrar la actividad mecánica del músculo RE *in vitro*. De esta manera, se podría registrar la actividad mecánica en condiciones isotónicas. También, se sugiere registrar el índice de fatiga en el músculo obturador interno y rabdoesfínter en hembras nulíparas y multíparas.

Para tener una mejor comprensión acerca del efecto de la multiparidad sobre los músculos obturador interno y rabdoesfínter, es necesario analizar la composición del tipo de fibras musculares de ambos músculos en hembras nulíparas y multíparas. Debido a que los cambios en la composición del tipo de fibras influyen directamente en la fuerza contráctil, la resistencia a la fatiga y la función de la musculatura en diferentes procesos reproductivos y no reproductivos.

Con respecto a la participación funcional de los músculos obturador interno y rabdoesfínter en los diferentes procesos fisiológicos. Se considera que es necesario registrar la actividad EMG refleja de ambos músculos durante la micción en hembras multíparas. Ello permitirá comprender no solo un posible daño, sino básicamente la participación funcional de la musculatura estriada pélvica en su conjunto durante los procesos no reproductivos.

12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aagaard P, Andersen JL, Dyhre-Poulsen P, Leffers AM, Wagner A, Magnusson SP, Halkjær-Kristensen J, Simonsen EB. 2001. A mechanism for increased contractile strength of human pennate muscle in response to strength training: changes in muscle architecture. *Journal of Physiology* 534.2, pp.613–623.
- Allen RE, Hosker GL, Smith AR, Warrell DW. 1990. Pelvic floor damage childbirth: a neurophysiological study. *Br J Obstet Gynaecol* 97(9): 770-9.
- Alperin M, Feola A, Duerr R, Moalli P, Abramowitch S. 2010. Pregnancy- and delivery-induced biomechanical changes in rat vagina persist postpartum. *Int Urogynecol J* 21:1169–1174.
- Altaweel W y Alharbi M. 2012. Urinary Incontinence: Prevalence, Risk Factors, and Impact on Health Related Quality of Life in Saudi Women. *Neurourology and Urodynamics* 31:642–645.
- Ashton-Miller JA, Howard D, DeLancey JOL. 2001. The functional anatomy of the female pelvic floor and stress continence control system. *Scand J Urol Nephrol Suppl* 207: 1–125.
- Ashton-Miller JA, DeLancey JOL. 2007. Functional Anatomy of the Female Pelvic Floor. *Ann NY Acad Sci* 1101: 266–296.
- Ashton-Miller JA, DeLancey JOL. 2009. On the biomechanics of vaginal birth and common sequelae. *Annu Rev Biomed Eng* 11: 163–176.
- Aung HH, Sakamoto H, Akita K, Sato T. 2001. Anatomical study of the obturator internus, gemelli and Quadratus Femoris muscles with special reference to their innervation. *The anatomical record* 263: 41-52.
- Barber MD, Bremen RE, Thor KB, Dolber PC, Kuehl TJ, Coates KW. 2002. Innervation of the female levator ani muscles. *AM J Obstet Gynecol* 187: 64-71.
- Barber MD. 2005. Contemporary views on female pelvic anatomy. *Cleve Clin J Med* 72 (4) S3-S11.
- Bell DJ. 1980. Social olfaction in lagomorphs. *Symp Zool Soc Lond* 45: 141-164.

- Beyer C, Velázquez J, Larsson K, Contreras JL. 1980. Androgen regulation of the motor copulatory pattern in the male New Zealand white rabbit. *Horm Behav* 14(3):179-90.
- Birder L, de Groat W, Morrison J, Thor K, Drake M. 2010. Neural control of the lower urinary tract: Peripheral and spinal mechanisms. *Neurourology and Urodynamics* 29:128–139.
- Bo K and Talseth T. 1997. Change in urethral pressure during voluntary pelvic floor muscle contraction and vaginal electrical stimulation. *Int Urogynecology Journal* 8:3-7.
- Bohler H, Moskshagundam S, Winters SJ. 2010. Adipose tissue and reproduction in women. *American society for reproductive medicine* 94: 795-825.
- Buffini M, O'Halloran KD, O'Herlihy, O'Connell R, Jones JFX. 2010. Comparison of the contractile properties, oxidative capacities and fiber type profiles of the voluntary sphincters of continence in the rat. *J Anat* 217: 187-195.
- Castelán F, Xelhuanzi N, Hernández-Aragón LG, Rodríguez-Antolín J, Cuevas E, Martínez-Gómez M. 2013. Morphometry of paravaginal ganglia from the pelvic plexus: impact of multiparity, primiparity, and pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 170(1):286-92.
- Cannon TW, Wojcik EM, Ferguson CL, Saraga S, Thomas C, Damaser MS. 2002. Effects of vaginal distension on urethral anatomy and function. *BJU Int* 90(4):403-7.
- Carro M. 1997. Estudio anatómico y electrofisiológico de la actividad refleja pélvica de la coneja (*Oryctolagus cuniculus*). Tesis de Maestría en Neuroetología. Universidad Veracruzana.
- Chin HY, Changchien E, Chiang CH, Yang HP. 2010. Extraordinary muscular structure leads to urethral injury after vaginal delivery in animal study. *Int Urogynecol J* 21(10):1231-6.
- Close RI. 1972. Dynamic properties of mammalian skeletal muscles. *Physiol Rev* 52: 129-197.
- Cook MS, Bou-Malham L, Esparza MC, Alperin M. 2016. Age related alterations in female obturator internus muscle. *Int Urogynecol J* DOI 10.1007/s00192-016-3167-5.
- Corona-Quintanilla DL, Castelán F, Fajardo V, Manzo J, Martínez-Gómez M. 2009. Temporal coordination of pelvic and perineal striated muscle activity during in female rabbits. *J Urol* 181:1452-1458.

- Corona-Quintanilla DL, Zempoalteca R, Arteaga L, Castelán F, Martínez-Gómez M. 2013. The role of pelvic and perineal striated muscles in urethral function during micturition in female rabbits. *Neurourol Urodyn* 33(4):455-60.
- Corona-Quintanilla DL, López-Juárez R, Zempoalteca R, Cuevas E, Castelán F, Martínez-Gómez M. 2015. Anatomic and Functional Properties of Bulboglandularis Striated Muscle Support its Contribution as Sphincter in Female Rabbit Micturition. *Neurourol Urodyn* 35 (6): 689-95.
- Cruz Y. 2002. Parto en la coneja: participación de la musculatura pélvica y perineal. Tesis de Doctorado en Ciencias Biomédicas. México, D.F. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Cruz Y, Hudson R, Pacheco P, Lucio RA, Martínez-Gómez M. 2002. Anatomical and physiological characteristics of perineal muscles in the female rabbit. *Physiol Behav* 74:1-8.
- Cruz Y and Downie JW. 2005. Sexually dimorphic micturition in rats: relationship of perineal muscle activity to voiding pattern. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 289: R1307–R1318.
- Cruz Y, Corona-Quintanilla DL, Juárez M, Martínez-Gómez M. 2010. Características anatómicas y fisiológicas de los músculos pélvicos en la coneja domestica (*Oryctolagus cuniculus*) *Vet. Méx* 41 (4).
- Damaser MS, Whitbeck C, Chichester P, Levin RM. 2005. Effect of vaginal distension on blood flow and hypoxia of urogenital organs of the female rat. *J Appl Physiol* 98: 1884–1890.
- Daucher JA, Clark KA, Stolz DB, Meyn LA, Moalli PA. 2007. Adaptations of the rat vagina in pregnancy to accommodate delivery. *Obstet Gynecol* 109(1):128-35.
- Davila GW, Ghoniem GM, Wexner. 2006. Pelvic floor dysfunction a multidisciplinary approach. Concept of the pelvic floor as a unit Springer-Verlag London. pp. 3-9.
- DeLancey JOL. 1988. Structural aspects of the extrinsic continence mechanism. *Obstet Gynecol* 72: 296.
- DeLancey JOL. 1994. Structural support of the urethra as it relates to stress urinary incontinence: The hammock hypothesis. *Am J Obstet Gynecol* 170:1713-23.

- DeLancey, JOL. 2000. Anatomy and function of the pelvic floor. En: Pelvic floor re-education principles and practice. Shüssler B, Laycock J, Norton P, Stanton S, (Eds.) Inglaterra: Editorial Springer-Verlag, pp: 7-36.
- DeLancey JOL, Kearney R, Chou Q, Speights S, Binno S. 2003. The appearance of levator ani muscle abnormalities in magnetic resonance images after vaginal delivery. *Obstet Gynecol* 101:46-53.
- DeLancey JOL, Ashton-Miller JA. 2004. Pathophysiology of adult urinary incontinence. *Gastroenterology* 126: S23-S32.
- DeLancey JOL, Trowbridge ER, Miller JM, Morgan DM, Guire K, Fenner DE, Weadock WJ, Ashton-Miller JA. 2008. Stress urinary incontinence: Relative importance of urethral support and urethral closure pressure. *J Urol* 179(6): 2286–2290.
- De Landsheere L, Munaut C, Nusgens B, Maillard C, Rubod C, Nisolle M, Cosson M, Foidart Jean-Michel. 2013. Histology of the vaginal wall in women with pelvic organ prolapse: a literature review. *Int Urogynecol J* 24:2011-2020.
- Drake RL, Volg W, Mitchell AWM. 2005. *Gray Anatomía para estudiantes* (1ra ed.). Elsevier Masson. España. pp: 1058.
- Elbadawi A. 1996. Functional anatomy of the organs of micturition. *Urol Clin North Am*, 23: 177- 210.
- Enns DL, Tiidus PM. 2010. The influence of estrogen on skeletal muscle: sex matters. *Sports Med* 40:41–58.
- Fajardo V, Pacheco P, Hudson R, Jiménez I, Martínez-Gómez M. 2008. Differences in morphology and contractility of the bulbospongiosus and pubococcygeus muscles in nulliparous and multiparous rabbits. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct* 19 (6): 843-849.
- Felder A, Ward SR, Lieber RL. 2005. Sarcomere length measurement permits high resolution normalization of muscle fiber length in architectural studies. *J Exp Biol* 208 (Pt 17):3275-9.
- Feola A, Moalli P, Alperin M, Duerr R, Gandley RE, Abramowitch S. 2010. Impact of Pregnancy and Vaginal Delivery on the Passive and Active Mechanics of the Rat Vagina. *Annals of Biomedical Engineering* 39(1): 549–558.

- Fowler J, Griffiths D, de Groat C. 2008. The neural control of micturition. *Nat Rev Neurosci*, 9(6): 453-466.
- Fukunaga T, Roy RR, Shellock FG, Hodgson JA, Edgerton VR. 1996. Specific tension of human plantar flexors and dorsiflexors. *Journal of Applied Physiology* 80: 158–165.
- Ganzer R, Kohler D, Neuhaus J, Dorschner W, Stolzenburg JU. 2004. Is the Rhesus Monkey (*Macaca mulatta*) Comparable to Humans? Histomorphology of the Sphincteric Musculature of the Lower Urinary Tract Including 3D-reconstruction. *Anat. Histol. Embryol* 33, 355–361.
- Gosling JA, Dixon JS, Critchley HOD, Thompson SA. 1981. A comparative study of the human external sphincter and periurethral levator ani muscles. *Brit J Urol*, 53: 35-41.
- Gray H. 1989. Muscles and fascia. In: Williams P, Warwick R, Dyson M, Bannister I. *Gray's anatomy*. Edinburgh, Churchill Livingstone.
- Geneser F. 2003. *Histología*. Editorial Médica Panamericana. España. pp. 613-637.
- Haab F, Sebe P, Mondet F. 2001. *Functional Anatomy of the Bladder and Urethra in females. The urinary Sphincter*. New York. pp: 15-24.
- Hernández, P. I. (2005). *Nervio pudendo y plexo sacro en la rata hembra y coneja*. Tesis de Licenciatura en Biología. Toluca Edo de México. Universidad Autónoma del Estado de México.
- Herschorn S. 2004. Female pelvic floor anatomy: The pelvic floor, supporting structures, and pelvic organs. *Rev Urol* 6:2-10.
- Hinata N, Murakami G. 2014. The urethral rhabdosphincter, levator ani muscle, and perineal membrane: a review. *A review. BioMed Research International*. pp: 18.
- Hodges PW, McLean L, Hodder J. 2014. Insight into the function of the obturator internus muscle in humans: Observations with development and validation of an electromyography recording technique. *Journal of Electromyography and Kinesiology* 24: 489–496.
- Hollinshead H, Rosse C. 1985. *Textbook of Anatomy (4ta ed.)*. Harper and Row Publishers. Philadelphia. pp: 1041.

- Howard IG, Laine CD. 2006. Pelvic Floor Muscle Biofeedback in the Treatment of Urinary Incontinence: A Literature Review. *Applied Psychophysiology and Biofeedback*, Vol. 31, No. 3.
- Hudson R, Cruz Y, Lucio RA, Ninomiya J, Martínez-Gómez M. 1999. Temporal and behavioural patterning in rabbits and rats. *Physiol Behav* 66: 599-604.
- Huisman AB. 1983. Aspects on the anatomy of the female urethra with special relation to urinary incontinence. *Contrib Gynecol Obstet* 10:1-31.
- Hulme, J, Nevin, G. 1999. Comparison of traditional kegel exercises with obturator internus exercise protocol for treating bladder incontinence. APTA Combined Sections Meeting, Seattle, WA.
- Chin HY, Lin KC, Wang CJ, Chiang CH, Kuo HC. 2012. Paraurethral striated muscular structures and pelvic floor muscles contribute to resting urethral closure pressure in rats. *Int Urogynecol J* 11:1631-6.
- Huser M, Belkov IA, Janku P, Sedlakova K. 2012. Pregnancy and delivery following midurethral sling surgery for stress urinary incontinence. *Int J Gynaecol Obstet* 119(2):117-20.
- Jankowski RJ, Prantil RL, Fraser MO, Chancellor MB, de Groat WC, Huard J, Vorp DA. 2003. Development of an experimental system for the study of urethral biomechanical function. *Am J Physiol Renal Physiol* 286: F225–F232.
- Julia-Guilloteau V, Denys P, Bernabe J, Mevel K, Chartier-Kastler E, Alexandre L, Giuliano F. 2007. Urethral closure mechanisms during sneezing-induced stress in anesthetized female cats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 293: R1357–R1367.
- Jung Sung-Ae, Pretorius DH, Padda BS, Weinstein MM, Nager CW, Boer DJ, Mittal RK. 2007. Vaginal High pressure zone assessed by dynamic 3-dimensional ultrasound images of the pelvic floor. *Am J Obstet Gynecol* 197(1): 52.e1–52.e7.
- Kalman MA. 1978. Radiologic soft tissue shadows in the pelvis: another look. *Am J Roentgenol* 130:493-498.
- Kamo I, Torimoto k, Chancellor M.B, de Groat W.C, Yoshimura N. 2003. Urethral closure mechanisms under sneeze-induced stress condition in rats: a new animal model for

- evaluation of stress urinary incontinence. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 285: R356–R365.
- Kamo I, Cannon TW, Conway DA, Torimoto K, Chancellor MB, de Groat WC, Yoshimura N. 2004. The role of bladder to urethral reflexes in urinary continence mechanisms in rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 287:F434-F441.
- Kamo I, Hashimoto T. 2007. Involvement of reflex urethral closure mechanisms in urethral resistance under momentary stress condition induced by electrical stimulation of rat abdomen. *Am J Physiol Renal Physiol* 293:F920-F926.
- Kearney R, Sawhney R, DeLancey JOL. 2004. Levator ani muscle anatomy evaluated by origin-insertion pairs. *Obstet Gynecol* 104:168–73.
- Klein CS, Rice CL, Marsh GD. 2001. Normalized force, activation, and coactivation in the arm muscles of young and old men. *J Appl Physiol* 91: 1341–1349.
- Klutke CG, Siegel CL. 1995. Functional female pelvic anatomic. *Urol Clin North Am* 22(3): 487-498.
- Lien KC, Money B, DeLancey JOL, Ashton-Miller JA. 2004. Levator ani muscle stretch induced by simulated vaginal birth. *Am Coll Obs Gynecol* 103 (1): 31-40.
- Lin YH, Liu G, Li M, Xiao N, Daneshgari F. 2010. Recovery of continence function following simulated birth trauma involves repair of muscle and nerves in the urethra in the female mouse. *Eur Urol* 57(3):506-12.
- López-Juárez R. 2011. Caracterización anatómica e inervación de la musculatura estriada de la pared de la vagina en la coneja doméstica (*Oryctolagus cuniculus*). Tesis de Licenciatura en Biología. Tlaxcala, México. Universidad Autónoma de Tlaxcala.
- López-Juárez R. 2013. Participación funcional de la musculatura estriada relacionada a la vagina en conejas (*Oryctolagus cuniculus*) nulíparas vs múltiparas. Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Tlaxcala.
- López-García K, Cuevas E, Corona-Quintanilla DL, Jiménez-Estrada I, Martínez-Gómez M, Castelán F. 2013. Effect of multiparity on morphometry and oestrogen receptor expression of pelvic- and perineal striated muscles in rabbits: Is serum oestradiol relevant. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 169:113–20.

- Lukacz ES, Lawrence JM, Contreras R, Nager CW, Lubner KM. 2006. Parity, mode of delivery, and pelvic floor disorders. *Obstet and Gynecol* 107 (6): 1253-1260.
- Madill SJ and McLean L. 2006. Relationship Between abdominal and pelvic floor muscle activation and intravaginal pressure during pelvic floor muscle contractions in healthy continent women. *Neurourology and Urodynamics* 25:722-730.
- Martínez-Gómez M, Lucio RA, Carro M, Pacheco P, Hudson R. 1997. Striated muscles and scent glands associated with the vaginal tract of the rabbit. *Anat Rec* 247: 486-493.
- Martínez-Gómez M, Corona-Quintanilla DL, Hudson R. 2007. Micturition behaviour in female rabbits: relation with reproductive state? En: XXX International Ethological Conference. August 15-23. Halifax, Nova Scotia, Can.
- Martínez-Gómez M, Mendoza-Martínez G, Corona-Quintanilla DL, Fajardo V, Rodríguez-Antolín J, Castelán F. 2011. Multiparity causes uncoordinated activity of pelvic and perineal striated muscles and urodynamic changes in rabbits. *Reprod Sci* 18(12):1246-1252.
- Memon H, Handa L. 2013. Vaginal childbirth and pelvic floor disorders. *Womens Health (Lond Engl)*. May 9(3).
- Meyer S, Schreyer A, De Grandi P, Hohlfeld P. 1998. The effects of birth on urinary continence mechanisms and other pelvic-floor characteristics. *Obstet Gynecol* 92:613-8.
- Montoya TI, Calver L, Carrick KS, Prats J, Corton MM. 2011. Anatomic relationships of the pudendal nerve branches. *Am J Obstet Gynecol* 205(5):504.e1-504.e5.
- Morrison, B. F. J. (2001). Physiology of the striated muscles of the pelvis floor. En: Corcos, J., Schick, E. (Eds.). *The urinary sphincter*. New York: Marcel Dekker. pp. 71-87.
- Morris VC, Murray MP, DeLancey JOL, Ashton-Miller J. 2012. A comparison of the effect of age on levator ani and obturator internus muscles cross-sectional areas and volumes in nulliparous women. *Neurourology and Urodynamics* 31:481-486.
- Muhammad A, Safriel Y, Sclafani SJA, Schulze R. 2003. CT signs of urethral injury. *Radio Graphics* 23: 951-966.
- Oelrich TM. 1983. The striated urogenital sphincter muscle in the female. *The anatomical record* 205: 223-232.

- Okamura K, Tokunaka S, Fujii H, Miyata M, Mizunaga M, Hashimoto H, Yachiku S. 1989. Histochemical study of external urethral sphincter in the rabbit. Analysis with construction of histograms. *Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi* 80:1127-33.
- Pacheco P, Martínez-Gómez M, Whipple Beverly, Beyer C, Komisaruk BR. 1989. Somatomotor components of the pelvic and pudendal nerves of the female rat. *Brain Research* 490: 85-94.
- Petros P. 2010. The female pelvic floor. Function, dysfunction and management according to the integral theory (3ra Ed.). Springer-Verlag Berlin Heidelberg. New York. pp: 17-76.
- Pine J, Binns M, Wright P, Soames R. 2011. Piriformis and obturator internus morphology: a cadaveric study. *Clinical Anatomy* 24:70–76.
- Praud C, Sebe P, Mondet F, Sebillé A. 2003. The striated urethral sphincter in female rats. *Anat Embryol* 207:169–175.
- Quiroz GF. 2004. Anatomía Humana. Tomo III. Editorial Porrúa. México. pp. 242.
- Rajasekaran MR, Dongwan S, Salehi M, Bhargava V, Fritsch H, Mittal RK. 2012. Role of puborectalis muscle in the genesis of urethral pressure. *The journal urology* Vol. 188, 1382-1388.
- Rebuffé-Scrive M. 1990. Regional Differences in Visceral Adipose Tissue Metabolism. *Prog in Obes Res*. J Libbey & Co. p: 313-316.
- Rodríguez-Veiga, E, Mestre-Nieto L, Martínez-Sainz P, García-Pascual A, Martín-Palacios S, Martín-García P, González Soriano J. 2005. Stereological study of the external urethral sphincter in the female urethra of the lamb: a new model for studies on urinary continence. *Anat Histol Embryol* 34: 85-92.
- Rodríguez-Antolín, Xelhuantzi N, García-Lorenzana, Cuevas E, Hudson R, Martínez-Gómez. 2009. General tissue characteristics of lower urethral and vaginal walls in the domestic rabbit. *Int Urogynecol J* 20:53-60.
- Rocha MA, Sartori MG, De Jesus Simoes M, Herrmann V, Baracat EC, Rodríguez de Lima G, Girao MJ. 2007. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct* 18: 645-51.
- Sánchez-Zayas O. 2014. Estudio anatomofisiológico del músculo obturador interno en la coneja doméstica (*Oryctolagus cuniculus*). Tesis de Licenciatura en Biología. Tlaxcala, México. Universidad Autónoma de Tlaxcala.

- Shafik A. 1993. Vaginocavernosus reflex. *Gynecol Obstet Invest* 35: 114-117.
- Shafik A. 1995. Vagino-puborectalis reflex. *International Journal of Gynecology & Obstetrics* 51:61-62.
- Shafik A, Mostafa MR, Shafik A, El-Sibai O. 2002. Study of the effect of straining on the bulbocavernosus muscle with evidence of a straining-bulbocavernosus reflex and its clinical significance. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct* 13:294-298.
- Shafik A. 1993. Vaginocavernosus reflex. *Gynecol Obstet Invest* 35: 114-117.
- Shefchyk SJ. 2001. Sacral spinal interneurons and the control of urinary bladder and urethral striated sphincter muscle function. *J Physiol* 533: 57-63.
- Shefchyk SJ. 2002. Spinal cord neural organization controlling the urinary bladder and striated sphincter. *Prog Brain Res* 137: 71-82.
- Shih-Ching Chen, Chien-Hung Lai, Chih-Wei Peng. 2012. Sex differences in the external urethral sphincter activity of rats. *J Exp Clin Med* 4(3):157e164.
- Sigurdardottir T, Steingrimsdottir T, Arnason A, Bø K. 2011. Pelvic floor muscle function before and after first childbirth. *Int Urogynecol J* 22:1497–1503.
- Stern JT, Larson SG. 1993. Electromyographic study of the obturator muscles in non-human primates: implications for interpreting the obturator externus groove of the femur. *Journal of Human Evolution*. Vol. 24, Issue 5. pp: 403-427.
- Streng T, Santi R, Andersson KE, Talo A. 2004. The role of the rhabdosphincter in female rat voiding. *BJU International* 94, 138-142.
- Street SF. 1983. Lateral transmission of tension in frog myofibers: a myofibrillar network and transverse cytoskeletal connections are possible transmitters. *Journal of Cell Physiology* 114: 346–364.
- Tanagho E, Meyers FH, Smith DR. 1969. Urethral resistance: its components and implications. II. Striated component. *Invest Urol* 7:195.
- Teleman PM, Mattiasson A. 2007. Urethral pressure response patterns induced by squeeze in continent and incontinent women. *Int Urogynecol J* 18:1027–1031.
- Tokunaka S, Fujii H, Hashimoto, Yachiku S. 1992. Proportions of fiber types in the external urethral sphincter of young nulliparous and old multiparous rabbits. *Urol Res* 21:121-124.

- Thor KB, De Groat WC. 2010. Neural control of the female urethral and anal rhabdosphincters and pelvic floor muscles. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 299: R416-R438.
- Thüroff J, Bazeed M, Schmidt R, Tanagho E. 1982. Mechanisms of urinary continence: an animal model to study urethral responses to stress conditions. *J Urol* 127: 1202-1206.
- Trotter JA. 1993. Functional morphology of force transmission in skeletal muscle. *Acta Anat* 146:205–222.
- Tuttle LJ, DeLozier ER, Harter KA, Johnson SA, Plotts CN, Swartz JL. 2016. The role of the obturator internus muscle in pelvic floor function. *Journal of Women's Health, American Physical Therapy Association* 40:15–19.
- Wilson DB, Wilson WJ. 1978. *Human Anatomy* (1ra Ed.) Williams & Wilkin, Baltimore. pp. 454.
- Xelhuantzi N. 2006. Estudio histológico de la uretra distal y la vagina pélvica en conejas jóvenes nulíparas. Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Tlaxcala.
- Xelhuantzi N, Rodríguez- Antolín J, Nicolás L, Castelán F, Cuevas E, Martínez-Gómez M. 2014. Tissue Alterations in urethral and vaginal walls related to multiparity in rabbits. *The anatomical record* 297: 1963-1970.

13. PUBLICACIONES

Congresos nacionales:

Hernández Bonilla C, López-Juárez R, Zempoalteca-Ramírez R, Corona- Quintanilla DL, Martínez-Gómez M. Por la presentación del trabajo en cartel titulado: Efecto de la multiparidad sobre la fuerza generada por los músculos obturador interno y rabdoesfínter en vagina y uretra de la coneja. En la XL Reunión Anual de la Academia de Investigación en Biología de la Reproducción (AIBIR), llevada a cabo en el Hotel Emporio Ixtapa, Guerrero del 20-23 de mayo del 2015.

Cecilia Hernández Bonilla, Rhode López-Juárez, René Zempoalteca Ramírez, Dora Luz Corona-Quintanilla, Margarita Martínez-Gómez. Por la asistencia y presentación del trabajo en cartel titulado: “La multiparidad afecta la función de la musculatura estriada pélvica en la coneja”. En el LVIII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias, llevado a cabo en San Miguel de Allende, Guanajuato del 6-10 de septiembre del 2015.

Hernández Bonilla C, López-Juárez R, Zempoalteca-Ramírez R, Martínez-Gómez M. Por la presentación del trabajo titulado: “Efecto de la multiparidad sobre la fuerza contráctil desarrollada por el músculo obturador interno en la coneja”. En el XLI Reunión Anual de la AIBIR en CEIEPAA-UNAM, Tequisquiapan, Qro. (22-25 de Mayo de 2016).

Cecilia Hernández Bonilla, Rhode López-Juárez, René Zempoalteca Ramírez, Margarita Martínez-Gómez. Por la asistencia y presentación del trabajo en cartel titulado: “Efecto de la multiparidad sobre la fuerza generada por los músculos obturador interno y rabdoesfínter”. En el LIX Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias, llevado a cabo en la Ciudad de Campeche, Camp del 14-18 de agosto del 2016.

Congresos internacionales:

Cecilia Hernández Bonilla, Rhode López-Juárez, René Zempoalteca Ramírez, Margarita Martínez-Gómez. “Controlando la conducta de micción y parto: el papel de los músculos

obturador interno y rabdoesfínter”. En XX Curso Internacional Bases Biológicas de la Conducta. Tlaxcala, Tlax. (9-13 de Octubre 2015).



Efecto de la multiparidad sobre la fuerza generada por los músculos obturador interno y rabdoesfínter en vagina y uretra de la coneja.

Hernández Bonilla C¹, López R², Zempoalteca R³, Corona-Quintanilla DL³, Martínez-Gómez M^{3,4}.

² Doctorado en Ciencias Biológicas, UATx-UNAM.

³ Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, UATx-UNAM.

⁴ Departamento de Biología Celular y Fisiología. Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM

En mujeres, la musculatura estriada adyacente al aparato urogenital es uno de los componentes del piso pélvico que más daño sufren durante la gestación y el parto. En la coneja hemos mostrado que la multiparidad afecta la fuerza contráctil de algunos músculos perineales (bulboesponjoso e isquiocavernoso) y pélvicos (pubococcígeo), y disminuye la presión que genera su contracción sobre la vagina pélvica y perineal. Otros músculos pélvicos, como el obturador interno (OI) y rabdoesfínter (RE), tienen una estrecha relación con el aparato urogenital. De tal manera que el paso de las crías por la vagina también podría modificar las funciones de ambos músculos. En este estudio se determinó en conejas nulíparas y multiparas la presión ejercida de los músculos OI y RE sobre la uretra y vagina pélvica. Se utilizaron conejas adultas de la raza chinchilla y se dividieron en dos experimentos: a) registro de presión intrauretral (PIU) (n=6) e intravaginal (PIV) (n=6). En ambos experimentos se aplicaron estímulos a frecuencias de 4, 10, 20, 50 y 100 Hz. Los resultados muestran que la contracción del OI a 50 y 100 Hz produce mayor PIU en las nulíparas en comparación con las multiparas (42.71 ± 3.58 (n=6) vs 4.25 ± 0.75 (n=2) mmHg, 51.50 ± 4.46 (n=6) vs 6.00 ± 0.00 (n=2) mmHg, respectivamente). A nivel de vagina pélvica, el OI también generó mayor PIV en las nulíparas versus las multiparas (37.95 ± 5.47 (n=6) vs 13.25 ± 3.25 (n=2) mmHg, 34.58 ± 3.99 (n=6) vs 15.00 ± 0.00 (n=2) mmHg, respectivamente). La contracción del RE a 50 y 100 Hz también generó mayor PIU (15.12 ± 1.11 (n=6) vs 11.00 ± 1.00 (n=2) mmHg, 12.51 ± 1.49 (n=6) vs 3.83 ± 0.72 (n=2) mmHg) y PIV pélvica (16.11 ± 1.17 (n=6) vs 11.25 ± 1.25 (n=2) mmHg, 15.01 ± 0.93 (n=6) vs 8.00 ± 2.00 (n=2) mmHg). Los resultados muestran que la multiparidad modifica la fuerza que generan los músculos OI y RE sobre la uretra y vagina. Posiblemente, en hembras de mamíferos que han tenido más de un parto tales alteraciones en ambos músculos afecten el cierre uretral durante la continencia urinaria y haya pérdidas involuntarias de orina. Asimismo, afecte procesos reproductivos, como la cópula y el parto.

Apoyo del PAPIIT-UNAM IN206013 (MMG), Beca CONACYT 628536 (CH).



LVIII CONGRESO NACIONAL
SOCIEDAD MEXICANA DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS

6-10 de septiembre, San Miguel de Allende, Gto.

www.smcf.org.mx

La Multiparidad Afecta La Función De La Musculatura Estriada Pélvica En La Coneja

¹Cecilia Hernández Bonilla, ²Rhode López-Juárez, ³René Zempoalteca Ramírez, ³Dora Luz Corona-Quintanilla, ^{3,4}Margarita Martínez-Gómez; ¹Maestría en Ciencias Biológicas, UATx-UNAM, ²Doctorado en Ciencias Biológicas, UATx-UNAM, ³Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, UATx-UNAM, ⁴Departamento de Biología Celular y Fisiología. Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM. ceci_hb14@hotmail.com.

Se ha descrito que la musculatura estriada asociada al aparato urogenital es una de las estructuras que más daño sufren durante la gestación y el parto. En coneja se ha mostrado que la multiparidad disminuye la presión sobre la vagina pélvica y perineal generada por los músculos perineales bulboesponjoso e isquiocavernoso y también del músculo pélvico pubococcígeo. La fuerza contráctil desarrollada por estos músculos también disminuye en conejas multiparas. Otros músculos pélvicos como el obturador interno (OI) y rabdoesfinter (RE) están en estrecha relación con el aparato urogenital y son susceptibles de sufrir daño durante el parto. El objetivo del presente trabajo fue evaluar en conejas nulíparas y multiparas la presión ejercida por los músculos OI y RE sobre la uretra y la vagina pélvica. Para ello se emplearon conejas adultas de la raza chinchilla y se dividieron en dos grupos: registro de presión intrauretral (PIU) (n=6) e intravaginal (PIV) (n=6). En ambos experimentos se aplicaron estímulos eléctricos a diferentes frecuencias. Se muestran los resultados obtenidos a estímulos de 100 Hz, nulíparas (n= 6) vs multiparas (n=2). Los resultados muestran que la contracción del OI generó mayor PIU en nulíparas (51.50 ± 4.46) vs multiparas (5.50 ± 0.50 mmHg). A nivel de vagina pélvica, el OI también generó mayor PIV en las nulíparas (34.58 ± 3.99) vs las multiparas (19.75 ± 2.25 mmHg). Así mismo, la contracción del RE generó mayor PIU en las nulíparas (12.51 ± 1.49) vs multiparas (4.00 ± 0.57 mmHg) y una menor PIV pélvica en multiparas (5.00 ± 0.57) vs nulíparas (15.01 ± 0.93 mmHg).

Los resultados muestran que la multiparidad también disminuye la presión generada por los músculos OI y RE sobre la uretra y la vagina, sugiriendo que participan en procesos reproductivos (parto y cópula) y no reproductivos (micción). Es posible que la estructura y/o función se hayan modificado.

Este trabajo fue apoyado por PAPIIT-UNAM IN206013 (MMG) y Beca CONACYT 628536 (CH).



27. EFECTO DE LA MULTIPARIDAD SOBRE LA FUERZA CONTRÁCTIL DESARROLLADA POR EL MÚSCULO OBTURADOR INTERNO EN LA CONEJA.

¹Cecilia Hernández Bonilla, ²Rhodie López Juárez, ³René Zempoalteca Ramírez, ⁴Margarita Martínez-Gómez

¹Maestría en Ciencias Biológicas, UATx-UNAM, ²Doctorado en Ciencias Biológicas, UATx-UNAM, ³Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, UATx-UNAM, ⁴Departamento de Biología Celular y Fisiología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM. ceci_hb14@hotmail.com.

Diversos estudios en mujeres han asociado el parto como uno de los principales factores de riesgo que genera desordenes del piso pélvico. En modelos animales como la coneja, se ha mostrado que el parto produce cambios estructurales y funcionales de la musculatura estriada asociada al aparato urogenital. También, la multiparidad, disminuye la fuerza contráctil de algunos músculos perineales (bulboesponjoso e isquiocavernoso) y pélvicos (pubococcigeo). Otro músculo estriado, que se encuentra en el área pélvica, es el obturador interno (OI); este tiene una estrecha relación anatómica con la uretra y la vagina pélvica.

Por tal motivo, también podría ser afectado por la multiparidad. Por lo tanto, en este estudio se evaluó en conejas nulíparas y multiparas la fuerza contráctil isométrica generada por el músculo OI. Se utilizaron conejas adultas de la raza Chinchilla (n=12). Las conejas se dividieron en dos grupos: nulíparas (n=6) y multiparas (n=6). En este experimento, el músculo OI se desinsertó de su origen a nivel de tendón ventral. Posteriormente, el tendón se separó del tejido conectivo circundante y se sujeto mediante un hilo a un transductor de fuerza. Se aplicaron estímulos eléctricos cuadrados al músculo, aumentando la frecuencia de los trenes de estimulación (1, 4, 10, 20, 50 y 100 Hz con cuatro segundos de duración), hasta fusionar la respuesta muscular (tétanos). La fuerza contráctil del OI a 1 Hz fue de 5.48 ± 1.57 vs 2.69 ± 0.64 , a 4 Hz fue de 8.91 ± 2.08 vs 3.08 ± 0.69 , a 10 Hz fue de 8.41 ± 2.68 vs 3.30 ± 0.95 , a 20 Hz fue de 9.16 ± 2.75 vs 4.78 ± 3.10 , a 50 Hz fue de 24.70 ± 3.63 vs 9.64 ± 2.74 y a 100 Hz fue de 45.16 ± 7.58 vs 17.24 ± 7.28 en hembras nulíparas vs multiparas respectivamente. Los resultados obtenidos muestran que el OI genera mayor fuerza contráctil isométrica en conejas nulíparas en comparación con las multiparas. Se concluye que la multiparidad afecta la fuerza contráctil isométrica generada por el músculo OI.

Apoyo del PAPIIT-UNAM IN206013 (MMG), Beca CONACYT 628536 (CH).
Categoría: M (estudiante de maestría)



Efecto De La Multiparidad Sobre La Fuerza Generada Por Los Músculos Obturador Interno y Rabdoesfinter

¹Cecilia Hernández Bonilla, ²Rhode López Juárez, ³René Zempoalteca Ramírez, ^{3,4}Margarita Martínez-Gómez; ¹Maestría en Ciencias Biológicas, UATx-UNAM, ²Doctorado en Ciencias Biológicas, UATx-UNAM, ³Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, UATx-UNAM, ⁴Departamento de Biología Celular y Fisiología. Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM. ceci_hb14@hotmail.com.

El parto y la gestación se han relacionado con alteraciones estructurales de la musculatura estriada pélvica y perineal necesaria para la fisiología del aparato urogenital en varias especies de mamíferos. En la coneja, se ha mostrado que la multiparidad afecta la fuerza contráctil y disminuye la presión intravaginal generada por los músculos perineales (bulboesponjoso e isquiocavernoso) y pélvicos (pubococcígeo). Otros músculos del área pélvica, son el obturador interno (OI) y rabdoesfinter (RE), se encuentran asociados al aparato urogenital. Por tal motivo, podrían ser afectados por la multiparidad. En este estudio, se determinó el efecto de la multiparidad sobre la fuerza contráctil y la presión generada en la uretra y la vagina pélvica por los músculos OI y RE, en conejas nulíparas y multiparas. Se utilizaron conejas adultas de la raza chinchilla (n=12) y se dividieron en dos experimentos: registro de la fuerza contráctil y presión intrauretral (PIU) e intravaginal (PIV). En ambos experimentos se aplicaron estímulos eléctricos a distintas frecuencias. Los resultados muestran que la fuerza contráctil del OI a 100 Hz fue de 45.16 ± 7.56 vs 17.24 ± 7.28 en hembras nulíparas vs multiparas. Con respecto a la PIU del OI a 100 Hz fue de 28.70 ± 10.18 vs 7.34 ± 1.37 mmHg. La PIU del RE a 100 Hz fue de 24.30 ± 3.57 vs 5.42 ± 0.51 mmHg en nulíparas vs multiparas. A nivel de vagina pélvica, la PIV del OI a 100 Hz fue de 17.41 ± 5.58 vs 8.74 ± 1.54 mmHg. La PIV del RE a 100 Hz fue de 22.08 ± 1.79 vs 5.56 ± 0.94 mmHg en nulíparas vs multiparas. Los resultados muestran que la multiparidad afecta la fuerza contráctil y disminuye la presión generada por los músculos OI y RE sobre la uretra y la vagina. La mutiparidad afecta la función de la musculatura estriada necesaria para procesos como la cópula, el parto y la micción.

Este trabajo fue apoyado por PAPIIT-UNAM IN206013 (MMG) y Beca CONACYT 628536 (CH).



Controlando la conducta de micción y parto: papel de los músculos obturador interno y rabdoesInter

Cecilia Hernández Bonilla¹, Rhode López-Juárez², René Zempoalteca Ramírez³ y Margarita Martínez-Gómez^{3,4}

¹Maestría en Ciencias Biológicas, UATx-UNAM. ²Doctorado en Ciencias Biológicas, UATx-UNAM. ³Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, UATx-UNAM. ⁴Departamento de Biología Celular y Fisiología. Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM.

Se ha descrito que la gestación y el número de partos han sido considerados factores de riesgo que favorecen desordenes del piso pélvico. Se ha mostrado en modelos animales, como la coneja, que la multiparidad disminuye el área transversal de las fibras de la musculatura estriada asociada al aparato urogenital. Asimismo, disminuye la fuerza contráctil y la presión sobre la vagina pélvica y perineal generada por los músculos perineales bulboesponjoso e isquiocavernoso y también del músculo pélvico pubococcígeo. Otros músculos pélvicos como el obturador interno (OI) y rabdoesfínter (RE) están en estrecha relación con el aparato urogenital y son susceptibles de sufrir daño durante el parto. El objetivo del presente trabajo fue evaluar en conejas nulíparas y multiparas la presión ejercida por los músculos OI y RE sobre la uretra y la vagina pélvica. Para ello se emplearon conejas adultas de la raza chinchilla y se dividieron en dos grupos: registro de presión intrauretral (PIU) (n=6) e intravaginal (PIV) (n=6). En ambos experimentos se aplicaron estímulos eléctricos a diferentes frecuencias. Se muestran los resultados obtenidos a estímulos de 100 Hz, nulíparas (n= 6) vs multiparas (n=4). Los resultados muestran que la contracción del OI generó mayor PIU en nulíparas (39.66 ± 1.54) vs multiparas (7.38 ± 0.56 mmHg). A nivel de vagina pélvica, el OI también generó mayor PIV en las nulíparas (19.07 ± 0.91) vs las multiparas (12.64 ± 1.01 mmHg). Así mismo, la contracción del RE generó mayor PIU en las nulíparas (24.42 ± 1.71) vs multiparas (4.91 ± 0.23 mmHg) y una menor PIV pélvica en multiparas (3.00 ± 0.19) vs nulíparas (26.57 ± 0.83 mmHg).

Los resultados muestran que la contracción de los músculos obturador interno y rabdoesfínter generan aumentos de presión uretral y vaginal, lo que podría funcionar como esfínteres durante el cierre uretral. Además, la multiparidad afecta la contracción que producen estos músculos sobre la uretra y la vagina.

Este trabajo fue apoyado por PAPIIT-UNAM IN206013 (MMG) y Beca CONACYT 628536 (CH).

