

Universidad Autónoma de Tlaxcala

División de Ciencias Biológicas

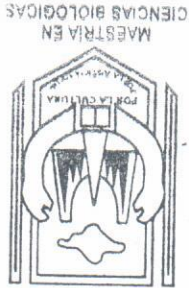
Caracterización de la micción de la rata macho durante el ciclo oscuridad-luz

T e s i s

para obtener el grado de
Maestra en Ciencias Biológicas
P r e s e n t a

Biól. Isela Hernández Plata

Co-directoras de tesis
Dra. Yolanda Cruz Gómez
Dra. Rosa Angélica Lucio Lucio



Noviembre 2007

Tlaxcala, Tlax.



Universidad Autónoma de Tlaxcala

División de Ciencias Biológicas



Caracterización de la micción de la rata macho durante el ciclo oscuridad-luz

T e s i s

para obtener el grado de
Maestra en Ciencias Biológicas
P r e s e n t a

Bíol. Isela Hernández Plata

Comité Tutorial

Dra. Yolanda Cruz Gómez

Dra. Rosa Angélica Lucio Lucio

Dr. Pablo Pacheco Cabrera

Dr. Victor Manuel Fajardo Guadarrama

M. en C. Margarita Juárez Romero

Tlaxcala, Tlax.

Noviembre 2007

La presente tesis fue realizada bajo la dirección de las Dras. Yolanda Cruz Gómez y Rosa Angélica Lucio Lucio. El proyecto fue realizado en las instalaciones del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala (Unidad Periférica del Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM).

El proyecto fue desarrollado dentro de la Maestría en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Tlaxcala, la cual está registrada en el Programa para el Fortalecimiento del Posgrado Nacional. Padrón Nacional de Posgrado (PNP).

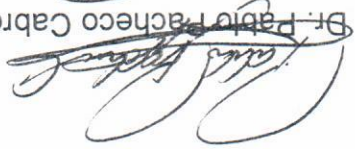
El proyecto contó con el financiamiento de CONACYT (Proyecto: YCG 52288 y YCG 61352; Beca: IHP 188526).

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

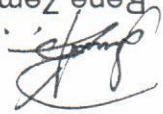
Los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del Proyecto de tesis que la C. Biol. Isela Hernández Plata realiza para la obtención del grado de Maestro en Ciencias Biológicas, expresamos que, habiendo revisado la versión final del documento de tesis, damos la aprobación para que ésta sea impresa y defendida en el examen correspondiente. El título que llevará es "Caracterización de la micción de la rata macho durante el ciclo oscuridad-luz".

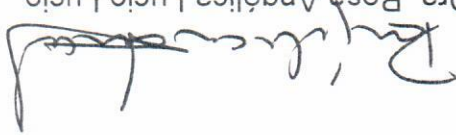
Sin otro particular, aprovechamos para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
TLAXCALA, TLAX., OCTUBRE 26 DE 2007

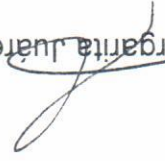

Dr. Pablo Pacheco Cabrera


Dra. Yvian da Cruz Gómez


M. en C. René Zemmoalteca Ramírez


Dra. Rosa Angélica Lucio


Dr. Luis Isaura García Hernández


M. en C. Margarita Juárez Romero

AGRADECIMIENTOS

A mi asesora, la Dra. Yolanda Cruz Gómez, por su gran apoyo en todo este tiempo y sobre todo por haberme permitido ser parte de su investigación.

A la Dra. Rosa Angélica Lucio por su paciencia y sugerencias para mejorar el trabajo.

A la Dra. Margarita Martínez Gómez, por haberme permitido ser parte del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta.

A los miembros del comité tutorial y de grado: Dr. Pablo Pacheco Cabrera, Dra. Rosa Angélica Lucio, Dra. Yolanda Cruz Gómez, M en C. Margarita Juárez Romero, Dr. Víctor Fajardo Guadarrama, Dr. Luis Isauro García Hernández y al Dr. Rene Zempoalteca Ramírez, por las numerosas aportaciones, consejos y sugerencias para mejorar el trabajo.

A todos los profesores de la maestría y al "Profe de inglés" por compartir un poco de su experiencia y conocimiento.

A todas las personas que forman parte de CTBC, ya que todos han contribuido de una u otra forma a este trabajo.

A los miembros del laboratorio de Neurofisiología: Dra Yolanda, Margarita y César Pastelin por sus consejos, sugerencias y apoyo en los innumerables registros. Y a los nuevos integrantes: Heladio, Leonel y Tanya por sus comentarios y sugerencias.

A Germán Mendoza por la ayuda en la elaboración de esquemas.

A los señores veladores y al personal que se encarga de mantener y cuidar a los animales.

En especial a mis amigos y compañeros de la maestría: Germán, Myrna, Víctor, Marisol, Tlachi, Martha y Jorge, por brindarme su hogar, cariño y apoyo en todo momento.

DEDICATORIA

A mi mamá, Felipa Plata Castro, por que sin su apoyo incondicional no podría haber logrado mucho de lo que ahora tengo.

A mi padre, por los muchos recuerdos

A mis hermanos: Edgar, "Esme", Sandra, "Pepe" y David, por su gran apoyo a pesar de la distancia.

A mis sobrinos: Leslye, "Monse", "Brai", "Dany", Yessu, Jazmin y Saúl por ser una chispa de alegría.

A Germán por todo.

1	RESUMEN.....
1	1. INTRODUCCIÓN.....
2	1.1 Características anatómicas y fisiológicas del aparato urinario de la rata macho.....
3	1.1.1 Musculatura estriada pélvica y perineal.....
4	1.1.2 Regulación nerviosa de la micción en la rata.....
6	1.1.3 Fisiología de la micción.....
7	1.2 Estudios de la función vesical en la rata.....
7	1.2.1 Cistometría y electromiografía.....
12	2. ANTECEDENTES.....
12	2.1 Parámetros urinarios de la rata macho.....
12	2.2 Sitios para la deposición de orina y posturas de expulsión de orina.....
16	3. JUSTIFICACIÓN.....
18	4. HIPÓTESIS.....
19	5. OBJETIVO GENERAL.....
19	6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....
20	7. PROTOCOLO EXPERIMENTAL.....
21	8. GRUPO I: ANIMALES REGISTRADOS DURANTE 4 DÍAS CONTINUOS EN CAJA DE ACRÍLICO GRANDE.....
21	8.1 Método.....
21	8.1.1 Animales.....
21	8.1.2 Sistema de registro y colecta de orina.....
23	8.2 Análisis estadístico.....
24	8.3 Resultados.....
24	8.3.1 Parámetros urinarios.....
34	8.3.2 Sitios para la deposición de orina.....

INDICE

40	8.4 Discusión.....
	9. GRUPO 2: ANIMALES REGISTRADOS DURANTE 24 HORAS EN CAJA DE ACRILICO CHICA.....
42	9.1 Método.....
42	9.2 Análisis estadístico.....
43	9.3 Resultados.....
43	9.3.1 Parámetros urinarios.....
58	9.3.2 Sitios para la deposición de orina.....
63	9.3.3 Posturas de expulsión de orina.....
68	9.4 Discusión.....
69	10. DISCUSIÓN GENERAL.....
76	11. CONCLUSIONES.....
77	12. PERSPECTIVAS.....
78	13. REFERENCIAS.....

El propósito de este estudio fue caracterizar en la rata macho los parámetros urinarios y la conducta durante la expulsión de orina en las fases de oscuridad y de luz. Se implementó un sistema de registro que permitió registrar simultáneamente tanto los parámetros urinarios (frecuencia de expulsión de orina, intervalo entre las expulsiones de orina, volumen de orina por expulsión y volumen total de orina) como los sitios de deposición de orina y las posturas durante la expulsión de orina. Se consideraron dos grupos, los animales del grupo uno (n=5) fueron observados en cajas grandes durante 4 días, desde el primer momento en que fueron colocados en el sistema de registro. Los animales del grupo dos (n=10) fueron observados en cajas chicas durante 24h, cuatro días después de haber sido colocados en el sistema. En este grupo, además de los parámetros registrados en el grupo uno, se registro la duración de la expulsión de orina y las posturas adoptadas durante la expulsión de orina. En ambos grupos, los parámetros urinarios variaron dependiendo de la fase del ciclo oscuridad-luz. La frecuencia de expulsión de orina y el volumen total de orina fueron mayor en la fase de oscuridad. El volumen de orina por expulsión, el intervalo entre las expulsiones de orina y la duración de la expulsión de orina fueron menores en la fase de oscuridad. Dichas diferencias pueden deberse al consumo de agua, mayor en la fase de oscuridad, y/o a las variaciones rítmicas de los procesos inherentes como la filtración glomerular y otros factores como la actividad locomotora. Independientemente del tamaño de la caja y de los días de observación, los parámetros urinarios fueron consistentes en ambos grupos de animales, mostrando que la reducción en el espacio disponible para las ratas y el posible estrés por la exposición a un ambiente nuevo no los afectó. La rata macho, al igual que otros roedores, presentó sitios específicos para depositar la orina. Los animales orinaron en las áreas próximas de las paredes de la caja en sus cuatro extremos. Solo en la fase de luz, las ratas orinaron con mayor frecuencia debajo del comedero. Asimismo, desplegaron posturas estereotipadas durante la expulsión de orina. La descripción de los parámetros urinarios, de los sitios para la expulsión de orina y de las posturas de expulsión de orina no solo contribuyen al conocimiento de la fisiología de la micción sino también podría ser un indicador para detectar disfunciones urinarias.

RESUMEN

1. INTRODUCCIÓN

En los mamíferos el proceso de micción comprende el almacenamiento y el vaciamiento periódico de la vejiga urinaria. Este proceso se lleva a cabo en el aparato urinario inferior (Mostwin 2001), el cual está formado por la vejiga urinaria y la uretra (Thor y Donatucci 2004). La función del aparato urinario es regular el metabolismo del agua y así mantener la composición y el volumen sanguíneo (Tortora y Anagnostakos 1989). Esto se logra mediante la excreción y la reabsorción de agua, así como de electrolitos corporales por los riñones. De esta manera se produce la orina.

El proceso de micción como otras funciones en el organismo, ésta regulado por ritmos biológicos (Bloom y cols. 2001). Algunos procesos fisiológicos ocurren aproximadamente cada 24 horas y se sincronizan con el ciclo de oscuridad-luz. Por ejemplo, en animales nocturnos como la rata, la ingesta de agua y la producción de orina aumentan durante la fase de oscuridad y disminuyen en la fase de luz (Johnson y Johnson 1990; Schmidt y cols. 2001).

En algunas especies de felinos, lagomorfos y roedores la eliminación de orina, además de servir para la excreción de agua y solutos (calcio, sodio, potasio, urea y ácido úrico) derivados del metabolismo celular, sirve para la comunicación química entre los individuos (Ralls 1971; Johnson 1973; Rekwoy y cols. 2001). Se sugiere que las sustancias químicas que llevan la información en la orina son feromonas secretadas por las glándulas sexuales accesorias (Johnson 1973; Flood 1985; Setchell y Brooks 1988; Rekwoy y cols. 2001). En el humano la función reconocida de la orina es regular el metabolismo del agua. La disfunción del aparato urinario genera patologías que alteran tanto el proceso de almacenamiento de orina en la vejiga urinaria como su vaciamiento. Entre las patologías más comunes están la nocturia, la incontinencia urinaria y la obstrucción uretral (Tortora y Anagnostakos 1989; Guyton y Hall 2000; Häkkinen y cols. 2004). La incidencia de estas patologías está relacionada con el género. Las mujeres muestran mayor prevalencia de incontinencia urinaria y los hombres son más propensos a desordenes de obstrucción urinaria (Chun y cols. 1990).

El estudio de la fisiología de la micción y de los factores causales de sus patologías se ha llevado a cabo en modelos animales. Uno de los más usados es la rata de laboratorio.

1.1 Características anatómicas y fisiológicas del aparato urinario inferior de la rata

macho

El aparato urinario inferior está formado por la vejiga urinaria y la uretra (Thor y Donatucci 2004). Este aparato también es conocido como aparato urogenital ya que la uretra no solo transporta orina, como sucede en la hembra, sino que también semen durante la eyacuación.

En la rata macho la vejiga urinaria se localiza craneal al borde del hueso púbico. Cuando esta vacía tiene forma de pera, mide 10 mm de largo y 5 mm en su parte más ancha. Cuando está llena adquiere forma esférica y mide 25 mm de largo por 15 mm o más, de diámetro (Hebel y Stromberg 1986). La vejiga urinaria está constituida por musculatura lisa llamada músculo detrusor y está compuesta de dos partes: *el cuerpo y el cuello* (Quiróz 2006). El cuerpo es la región donde se colecta la orina. En la pared posterior de la vejiga hay una región triangular llamada trigono. En los ápices superiores del trigono se localizan los uréteres y en el ápice inferior se localiza el cuello vesical. El cuello es una extensión del cuerpo vesical con forma de túnel que se conecta con la uretra (Guyton y Hall 2000).

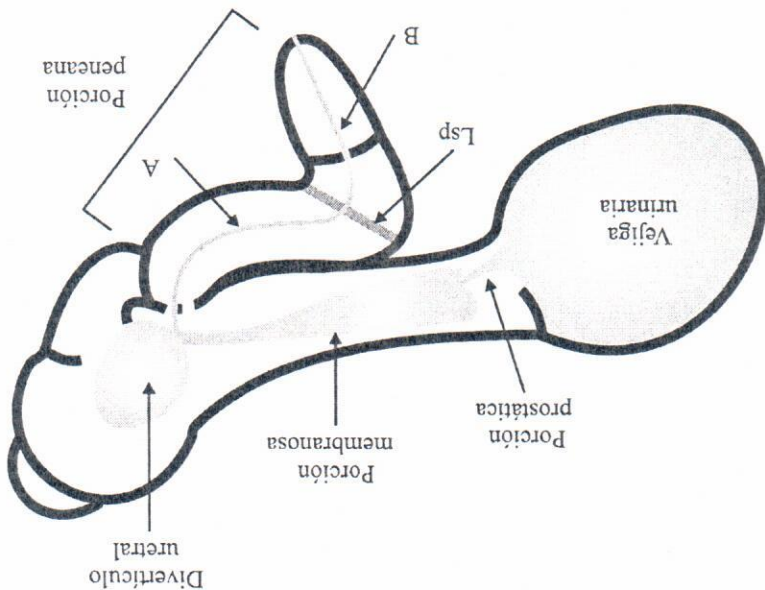
La uretra es una estructura tubular que se extiende caudal a la vejiga urinaria y está formada de musculatura lisa y estriada (Elbadawi 1996; de Groat y cols. 1993 citado en de Groat y cols. 2001). En la rata macho, la uretra se divide en cuatro porciones: prostática, membranosa, divertículo uretral y peneana (Martínez 2003; Figura 1). La porción prostática es un conducto cilíndrico de aproximadamente 6 mm de largo y 1 mm de diámetro. La uretra membranosa tiene forma piramidal con base proximal y mide en promedio 15 mm de largo, 4 mm de diámetro en su parte proximal y 1 mm de diámetro en su parte distal. El divertículo uretral presenta aspecto piramidal con base distal y mide aproximadamente 10 mm de diámetro en su parte más ancha y 2-3 mm en su región angosta (Pacheco y cols. 2001; Martínez 2003). La porción peneana se divide en dos porciones: interna y externa. La porción interna mide aproximadamente 17 mm de longitud y 1 mm de diámetro y comprende desde el borde distal del pubis hasta el ligamento suspensorio del pene. La porción externa mide 7 mm de longitud y 1 mm de diámetro y abarca desde el ligamento suspensorio hasta el meato urinario (Martínez 2003). La uretra también presenta dos flexiones. La primera, en forma de U, se localiza entre la unión de la porción membranosa y la porción peneana. Esta flexión está relacionada anatómicamente

En la región pélvica y perineal se encuentra musculatura estrizada anatómicamente relacionada al aparato urinario inferior. Algunos de estos músculos son: esfínter externo de la uretra, pubococcígeo, bulbospongioso, isquiocavernoso, cremáster e isquiouretralís.

En la rata macho, el esfínter externo de la uretra está formado por seis músculos (músculo interno del segmento prostático de la uretra, músculo interno del segmento membranoso de la uretra, músculo externo del segmento membranoso de la uretra, músculo externo del segmento prostático de la uretra, músculo postero-lateral del

1.1.1 Musculatura estrizada pélvica y perineal

Figura 1. Aparato urinario inferior de la rata macho. Se muestra la vejiga urinaria y las porciones uretrales (prostática, membranosa, divertículo uretral y peneana). Note las dilataciones y las flexiones uretrales. Lsp=Ligamento suspensorio del pene, A=porción interna, B=porción externa (tomada de Martínez 2003).



con el divertículo uretral. La segunda flexión tiene forma de ángulo recto y se localiza en la porción peneana interna (Figura 1, Pacheco y cols. 2001; Martínez 2003).

En la uretra desembocan las glándulas sexuales accesorias tales como las glándulas coagulantes, las vesículas seminales, la próstata y las glándulas bulbouretrales (Hebel y Stromberg 1986; Setchell y Brooks 1988).

El nervio pélvico inerva al músculo detrusor de la vejiga y a la uretra. Así como a los músculos estriados pubococcygeos e ileococcygeos. Este nervio posee fibras sensoriales (aférentes) y motoras (eferentes). Las fibras sensoriales llevan impulsos desde los receptores de tensión, de volumen y de dolor de las paredes vesicales hacia el sistema nervioso central (Morrison y cols. 2005; Sugaya y cols. 2005). Las fibras motoras son fibras somáticas y parasimpáticas preganglionares. Estas últimas tienen contacto con células postganglionares localizadas en el ganglio pélvico mayor. Las fibras

La regulación de la micción comprende reflejos autonómicos y somáticos que se integran a nivel espinal y supraespinal (Sugaya y cols. 2005). La regulación nerviosa periférica de las estructuras del aparato urinario inferior se lleva a cabo por tres nervios que emergen de la médula espinal sacra y toracolombal: pélvico (somático, simpático y parasimpático), hipogástrico (simpático) y pudendo (somático) (Figura 2, Pacheco y cols. 1989; de Groat y cols. 2001).

1.1.2 Regulación nerviosa de la micción

Este complejo muscular se localiza bajo el ramo púbico y rodea a la uretra prostática y a la uretra membranosa (Pacheco y cols. 2001). El músculo pubococcygeo se origina en la superficie ventromedial del pubis y se inserta en las vértebras coccygeas C3 y C4 (Brink y Pfaff 1980). Algunas fibras de la porción proximal de este músculo se insertan en la porción ventrolateral de la uretra (Manzo y cols. 1997). Los músculos perineales bulbospongiosos e isquiocavernosos se localizan en la base del pene y rodean al divertículo uretral (McKenna y Nadelhaft 1986). El músculo bulbospongioso tiene dos porciones, dorsal y ventral (McKenna y Nadelhaft 1986). Las fibras de ambas regiones tienen su origen en la pared dorsal del pene, rodean al bulbo del pene (región donde se encuentra el divertículo) y se insertan en la superficie dorsal. El músculo isquiocavernoso tiene su origen en el ramo isquiático y se inserta en la crus del pene. El cremáster tiene su origen en la musculatura estriada del oblicuo interno y del abdominal transverso y se inserta en el ligamento inguinal. Las fibras musculares del cremáster rodean completamente al testículo y al epidídimo formando el saco cremásterico (Zemportalteca y cols. 2002). El isquiorretalis se origina en la crus y en el bulbo del pene y se inserta en el raté sobre la vena dorsal profunda del pene (Dail y Sachs 1991).

posganglionares inervan al músculo detrusor y proveen información excitatoria (contracción) a la vejiga urinaria e inhibitoria (relajación) a la uretra (Holstege y cols. 1995; Sugaya y cols. 2005).

El nervio hipogástrico inerva a la vejiga urinaria. La actividad de este nervio inhibe al músculo detrusor, relajándolo. También provee de información excitatoria al cuello vesical y a la uretra (Holstege y cols. 1995; Sugaya y cols. 2005). Algunas fibras nerviosas sensoriales que constituyen a este nervio son importantes en la sensación de llenado y de dolor vesical (Guyton y Hall 2000).

El nervio pudendo inerva a la musculatura estriada de la uretra llamada esfínter externo de la uretra (Facheo y cols. 1997).

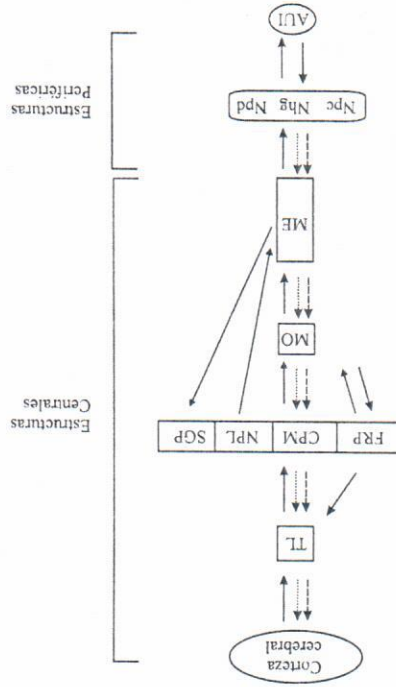


Figura 2. Estructuras centrales y periféricas involucradas en la regulación de la micción. Las flechas indican el flujo de información. Solo se muestran algunas estructuras que participan en el proceso de micción. ALI=aparato urinario inferior, NPC=nervio pélvico, Nhg=nervio hipogástrico, Npd=nervio pudendo, ME=médula espinal, MO=médula oblonga, FRP=formación reticular pontina, CPM=centro pontino de la micción, NPL=núcleo parabraquial, SGP=sustancia gris periacueductal, TL=tálamo. Las flechas con línea discontinua representan el sistema dorsal, las flechas con línea punteada representa el tracto espino-talámico.

El aparato urinario inferior es el sustrato de funciones reproductivas y urinarias. En esta tesis solo nos referiremos a éstas últimas. La micción comprende dos fases: periodos largos de almacenamiento de orina en la vejiga urinaria (continencia) y episodios breves de expulsión de orina (evacuación, Mostwin 2001). Los dos periodos requieren de una fina

1.1.3 Fisiología de la micción

Algunas estructuras centrales superiores involucradas en la regulación de la micción se localizan en el tallo cerebral, a nivel del puente de Varolio (Krusse y cols. 1990). En la rata, la estimulación eléctrica del núcleo tegmental dorsal, la sustancia gris periaqueductal o el núcleo parabraquial lateral provocan contracciones en una vejiga parcialmente llena. Sin embargo, la estimulación de dichas áreas durante la contracción vesical elimina las contracciones, indicando que las áreas cerebrales estimuladas tienen efecto inhibitorio y excitatorio. La estimulación eléctrica continua de la formación reticular pontina incrementa la capacidad vesical alrededor de 50% (Krusse y cols. 1990).

Las vías eferentes inducen la expulsión de orina. La actividad eléctrica se inicia en las neuronas del centro pontino de la micción. Este a través del cordón lateral de la médula espinal activa a las neuronas de los núcleos parasimpáticos lumbosacros e inhibe a las neuronas de los núcleos simpáticos toracolumbares que mantienen la continencia urinaria. (Sugaya y cols. 2005).

De acuerdo con la información anterior, las aferentes primarias del nervio pélvico e hipogástrico llevan información de las estructuras del aparato urogenital al sistema nervioso central. Esta vía aferente permite percibir la sensación del deseo de orinar en la corteza somatosensorial (Sugaya y cols. 2005). Se ha propuesto que hay dos vías aferentes que llevan impulsos desde la vejiga urinaria al tálamo y finalmente a las áreas sensoriales de la corteza cerebral (Figura 2, Morrison y cols. 2005): sistema dorsal y tracto espino-talámico. En el sistema dorsal las fibras aferentes primarias de la vejiga se dirigen hacia el funículo dorsal de la médula espinal, proyectándose al núcleo gracilis o núcleo cuneatus en la médula oblonga. En el tracto espino-talámico las fibras aferentes secundarias pasan de la médula espinal lumbosacra al funículo lateral de la médula espinal y se proyectan al tálamo (Morgan y cols. 1981, Sugaya y cols 1988, Ueyama y cols. 1984, citados en Sugaya y cols. 2005).

Un método para analizar el funcionamiento de la vejiga urinaria y de la uretra es la cistometría. Generalmente esta técnica se realiza con la electromiografía, lo que permite registrar simultáneamente la presión intravesical y la actividad de los músculos estríados. Para realizar la cistometría se inserta un catéter en la vejiga urinaria, a través del cual se infunde solución salina a la vejiga urinaria. Esta técnica evalúa la relación entre la presión

1.2 Estudios de la función vesical en la rata

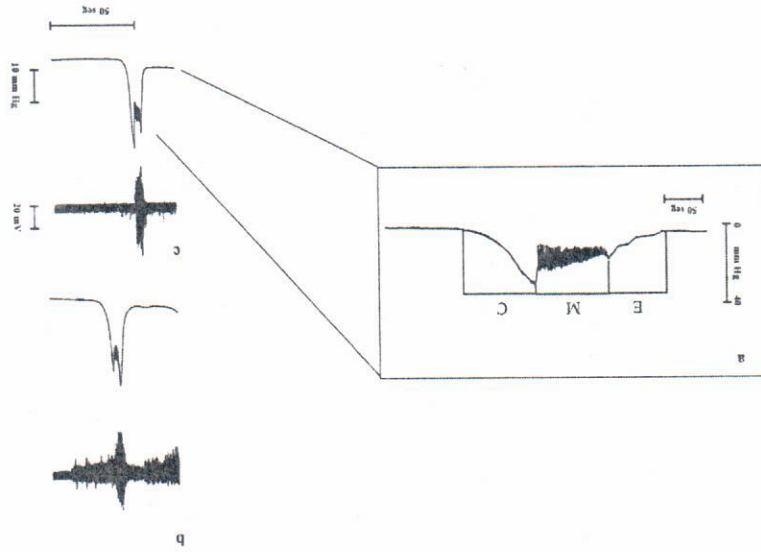
1.2.1 Cistometría y electromiografía

El reflejo de micción puede ser controlado voluntariamente. La expulsión voluntaria de orina puede ocurrir por la relajación de los músculos del piso pélvico, la cual provoca un estiramiento del músculo detrusor, lo que activa su contracción induciendo la expulsión de orina. Asimismo la contracción voluntaria de los músculos abdominales ayuda a la expulsión de la orina al incrementar la presión intrabdominal. La continencia urinaria también se puede controlar voluntariamente al contraer los músculos perineales y el esfínter externo uretral, ello evita que la orina pase hacia la uretra y/o interrumpa su flujo una vez iniciada la expulsión de orina (Ganong 2000).

La expulsión de orina se lleva a cabo cuando la vejiga urinaria alcanza el umbral de llenado, lo que activa el *reflejo de micción* que induce el vaciamiento de la vejiga urinaria (Guyton y Hall 2000). En el humano este reflejo consiste en la contracción del músculo detrusor de la vejiga y de la relajación del cuello vesical, de la uretra y del esfínter externo uretral. El incremento de la presión vesical y la relajación de la uretra permiten el paso de la orina al exterior (Ganong 2000; Anderson y Waldeck 2001; Sugaya y cols. 2005). De esta manera, la fase de evacuación requiere de la inhibición de las neuronas simpáticas y somáticas que mantienen la continencia urinaria y de la activación de las neuronas parasimpáticas lumbosacras (Anderson y Waldeck 2001; Sugaya y cols. 2005).

La regulación nerviosa de la vejiga urinaria y la uretra. Durante la continencia urinaria, el músculo detrusor está relajado y el cuello vesical y la uretra están contráctos. La contracción del cuello vesical y la uretra se lleva a cabo mediante la activación de las neuronas simpáticas, cuyos axones viajan por el nervio hipogástrico, y de las neuronas somáticas, cuyos axones viajan por el nervio pudendo. Durante este proceso las neuronas parasimpáticas que inervan al detrusor están inhibidas (Sugaya y cols. 2005).

Figura 3. Cistometrograma y actividad electromiográfica de los músculos perineales de la rata. En (a) se muestra un registro típico en rata. E=fase de elevación, M=fase de meseta y C=fase de caída (modificada de Maggi y cols. 1986). En (b) y (c) se muestra la actividad de los músculos bulbospongioso e isquiocavernoso durante la fase de meseta, respectivamente (modificada de Cruz y Downie 2005).



Mediante electromiografía en la rata macho se ha determinado que durante la segunda fase del cistometrograma, los músculos perineales: bulbospongioso, isquiocavernoso y cremáster se activan simultáneamente (Figura 3b y c. Cruz y Downie 2005). Se ha sugerido que la contracción de esta musculatura estrizada facilita la expulsión de orina y su disfunción puede ser uno de los factores que contribuyen a patologías tales como la obstrucción urinaria (Cruz y Downie 2005).

cols. 1986; Cruz y Downie 2005). fase se caracteriza por una caída rápida de la presión en el interior de la vejiga (Maggi y periodo de oscilaciones de alta frecuencia y emisión de fluido (0.03-0.06 ml). La tercera segunda, fase de meseta, se presentan dos picos de presión vesical separados por un inicial en la presión intraluminal que no se correlaciona con expulsión de líquido. En la expulsión de orina presenta tres fases (Figura 3a): La primera consiste de una elevación se denomina cistometrograma (Canong 2000). El cistometrograma de la rata durante la muestra la relación que existe entre la presión intravesical y el líquido en la vejiga urinaria intravesical y el volumen del fluido en el interior de la vejiga urinaria. La gráfica que

Las técnicas antes mencionadas se han usado ampliamente en animales anestesiados (Mallory y cols. 1989; Kakizaki y cols. 1997; Matsura y cols. 2000; Liu y cols. 2007) y son pocos los estudios realizados en animales despiertos, no anestesiados (Chun y cols. 1990; Schmidt y cols. 2001). Sin embargo, es necesario considerar el efecto que los anestésicos ejercen sobre el sistema nervioso central en general y en especial sobre los centros de regulación del aparato urinario inferior. Los anestésicos generales producen una depresión generalizada y gradual de todos los niveles del sistema nervioso central. La pérdida de la conciencia está claramente relacionada con una acción en el sistema reticular activador o formación reticular mesencefálica (Meyers y cols. 1980). Fisiológicamente, el reflejo de micción en animales anestesiados es diferente a la expulsión de los no anestesiados. Por ejemplo, durante la micción inducida por la infusión de solución salina (0.1ml/min), la orina expulsada por ratas anestesiadas es mucho menor que la expulsada por ratas no anestesiadas (Cruz y Downie 2006). También, se ha encontrado que la capacidad vesical es mayor en ratas despiertas que las anestesiadas con Ketamina/Xilazina o Uretano (Tracy y cols. 2001). A pesar de los efectos adversos de los anestésicos, los estudios en animales anestesiados son indispensables para realizar estudios invasivos y han sido muy útiles en el análisis del circuito nervioso de la micción (Mallory y cols. 1989; Kruse y cols. 1990; Van Asselt y cols. 1999; Kamo y cols. 2004; Le fever y cols. 2004). Sin embargo, para conocer las características fisiológicas de la micción es necesario realizar estudios en animales despiertos y una de las herramientas más útiles es el estudio conductual.

El estudio conductual consiste en describir las posturas ejecutadas durante procesos fisiológicos específicos, tales como durante la expulsión de orina. En el perro la conducta de expulsión de orina depende de la edad y del sexo. Cuando el macho es joven expulsa la orina en una postura de cuatro patas ligeramente hacia delante, cuando es adulto alza la pata trasera. En la hembra, la postura en cuclillas no varía con la edad (Figura 4, Beach 1974; Pal 2003; Wirant y McGuire 2004).

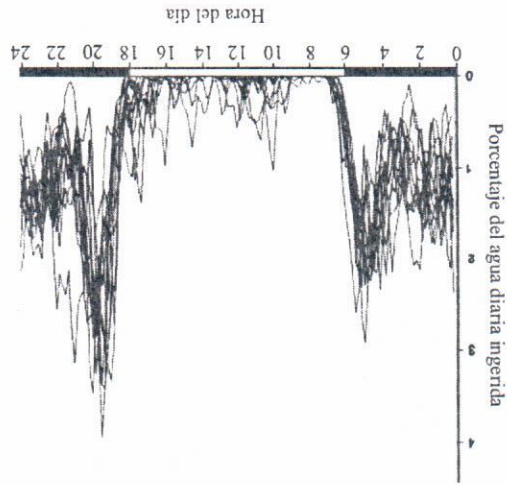
En la rata no se ha analizado la conducta de expulsión de orina pero si algunos parámetros urinarios tales como la frecuencia de expulsión de orina y el volumen de orina por expulsión (Chun y cols. 1990; Schmidt y cols. 2001). Los parámetros urinarios son indicadores de la función vesical y sus valores dependen de diversos factores, uno de ellos es la cantidad de agua ingerida. Se ha descrito que la cantidad de agua transportada hacia la vejiga depende del estado de hidratación del animal y/o de la dieta (Rouffignac 1999). Se ha encontrado que en hombres sobrehidratados (ingesta de 2L de agua) los valores de algunos parámetros urinarios como el número de micciones, la frecuencia de expulsión por hora y el volumen total de orina son mayores a los de hombres hidratados (ingesta de 1L de agua, Schmidt y cols. 2002).

Los estudios de la conducta de expulsión de orina del perro, no solo describen las posturas que los animales adoptan para expulsar la orina, sino también los sitios que utilizan para depositar la orina y algunas conductas asociadas a la expulsión de orina, como el rascado del suelo (Pal 2003; Wirant y McGuire 2004). En dichos estudios también se evalúan algunos parámetros urinarios como la frecuencia de expulsión de orina (Pal 2003; Wirant y McGuire 2004) pero dan poca información sobre otros parámetros y la relación de éstos con otros factores. Por ejemplo, se desconoce si el volumen de orina varía a lo largo del ciclo oscuridad-luz y si existe la relación entre el volumen de orina expulsado y las posturas para la expulsión de orina. Esta relación es pertinente, ya que se ha sugerido que cuando la orina tiene la función de expulsar desechos metabólicos se evacuan grandes cantidades de orina, contrario a cuando la orina se utiliza para comunicación química (Pal 2003).

Figura 4. Posturas de expulsión de orina en el perro. La postura del macho juvenil es llamada parado hacia delante; la del perro adulto, elevación alta de la pata trasera y la de la perra se denomina en cuclillas (modificado de Nelson 2005).



Figura 5. Ingesta de agua en ratas macho durante 24h. Note que el consumo de agua es mayor en la fase de oscuridad. En la figura se muestra la ingesta de agua de diez ratas macho (modificado de Johnson y Johnson 1990).



El consumo de agua y de alimento presenta variación en su frecuencia dependiendo de la fase de oscuridad y luz (Figura 5). Endo y Shiraki (2000) evaluaron en ratas macho la cantidad de agua ingerida y el número de pellets consumidos en 24h. Encontraron que durante la fase de oscuridad las ratas consumen mayor cantidad de agua y de pellets. Se ha encontrado que la ingesta de agua y de comida están relacionadas entre sí. En la rata el 70-85% de la ingesta de agua diaria espontánea ocurre aproximadamente en los 40 minutos cercanos a la alimentación (Fitzsimons y Le Magnen 1969 citados en Zorrilla y cols. 2005; Kissileff 1969 citados en Zorrilla y cols. 2005).

2. ANTECEDENTES

2.1 Parámetros urinarios de la rata macho

En la rata macho se han realizado dos trabajos enfocados al análisis de la función vesical a través de la caracterización de los parámetros urinarios (Chun y cols. 1990; Schmidt y cols. 2001). En uno de los trabajos, los autores compararon los valores de los parámetros urinarios entre ratas macho y hembras sexualmente maduras e inmaduras (Chun y cols. 1990). El estudio lo realizaron usando una caja metabólica que les permitió registrar la frecuencia de expulsión de orina en 24h, el volumen total de orina y el volumen de orina por expulsión (Figura 6, Tabla 1). Sus resultados muestran que en promedio las ratas macho adultas expulsaron orina en 18 ocasiones en 24h, expulsando en promedio 0.82 ml de orina cada vez. El volumen total de orina fue de 16 ml/24h. En este estudio no se analizaron los cambios de los parámetros urinarios entre las fases del ciclo oscuridad-luz.

En el otro trabajo (Schmidt y cols. 2001) se evaluó la variación diurna de algunos parámetros urinarios con respecto al consumo de agua y a la producción de orina durante 24h. En este estudio solo se describió la variación a lo largo de la fase de oscuridad y luz de dos parámetros urinarios: frecuencia de expulsión de orina y volumen de orina por expulsión. No se reportan valores promedio para cada parámetro. Los autores encontraron que en las ratas macho y hembra, la frecuencia de expulsión de orina se incrementa sistemáticamente en la fase de oscuridad, alcanzado valores máximos en las últimas seis horas de esta fase. El volumen de orina por expulsión fue semejante entre machos y hembras.

Existen otros cinco trabajos (Chancellor y cols. 1994; Chai y cols. 2000; Yoshimura y cols. 2000; Morizane y cols. 2005) enfocados a determinar el efecto de algunos factores como la edad, fármacos o lesiones del sistema nervioso central sobre la función vesical de la rata macho. Los parámetros urinarios en sus animales control son descritos a continuación.

En el primer estudio (Chancellor y cols. 1994) se analizó si el trauma espinal provocaba disfunciones urológicas similares a las observadas clínicamente. En este estudio solo se evaluaron dos parámetros urinarios. Encontraron que la frecuencia de expulsión de orina era de 21.3 ± 4.5 y que el volumen de orina por expulsión fue de 0.8 ± 0.2 ml (Tabla 1).

En un estudio más reciente se evaluó en ratas macho adultas de 19 meses de edad el efecto de los niveles de testosterona sobre la función del aparato urinario inferior

animal nocturno, o a la fase de actividad del observador, siendo este diurno. no es claro si como "día" se refieren a la fase de descanso del animal, siendo este un en las fases del ciclo oscuridad-luz. Sin embargo, los resultados son confusos, puesto que Yoshimura y cols. (2000) es uno de pocos trabajos que describen los parámetros urinarios positivamente con la producción de orina (Nakamura y cols. 1996). El trabajo de que en el humano se ha encontrado que la frecuencia de expulsión se correlaciona machos evacuaban grandes cantidades de orina. Estos resultados son contradictorios, ya era baja, mientras que la producción de orina era alta. Asimismo, durante el día, los variable. Encontraron que durante el día, la frecuencia de expulsión de orina de las ratas una descripción de cada parámetro y no se proporcionaron valores promedio para cada durante 24h. En este trabajo, al igual que en el de Schmidt y cols. (2001), sólo se realizó micción de las ratas macho y hembra. Los autores describen tres parámetros urinarios la incontinencia urinaria por vejiga hiperactiva) y su relación con la variación diurna de la administración oral de la tolterodina (antagonista de los receptores muscarínicos para tratar En el cuarto trabajo (Yoshimura y cols. 2000), se evaluó el efecto de la

jóvenes.

volumenes de orina en cada ocasión. En la tabla 1 se muestran los datos de las ratas (3-5 meses de edad). Además, las ratas viejas, a diferencia de las jóvenes, expulsan grandes frecuencia de expulsión era menor en las ratas viejas (24 meses de edad) que en las jóvenes micción. En este trabajo se registraron dos parámetros urinarios. Encontraron que la En el trabajo de Chai y cols. (2000) se evaluó el efecto de la edad sobre el reflejo de

realizaron al inicio o al final de la fase.

oscuridad-luz se realizaron los registros y tampoco se menciona si las observaciones se expulsión de orina fue de 190 min. En este trabajo no se menciona en que fase del ciclo de 0.67 ml, el volumen máximo excretado de 0.83 ml y el intervalo de tiempo sin fue de 0.63/h, el volumen total de orina de 3.8 ml, el volumen de orina por expulsión fue pero sólo durante 4 horas (Tabla 1). Encontraron que la frecuencia de expulsión de orina inducido neurohormonalmente. En este trabajo se evaluaron cinco parámetros urinarios la obstrucción crónica en el tracto urinario inferior producido por el crecimiento prostático El propósito del segundo estudio (Zoo Lee y cols. 1998) fue evaluar el impacto de

(Morizane y cols. 2005). En este trabajo se evaluaron tres parámetros urinarios: frecuencia de expulsión de orina, volumen total de orina y volumen de orina por expulsión. En la tabla 1 se muestran los valores obtenidos. En resumen, son escasos los trabajos que tienen como objetivo describir los parámetros urinarios de la rata macho (Tabla 1). En la tabla 1 puede observarse que los parámetros urinarios son descriptos con valores promedio, sin registrar valores para cada fase del ciclo oscuridad-luz. También puede observarse que la mayoría de los trabajos solo describen dos o tres parámetros urinarios y que el tiempo máximo de registro es de 24h (Tabla 1). Así, el presente trabajo pretende caracterizar la micción de la rata macho a través del registro de sus parámetros urinarios y conocer su variación en la fase de oscuridad y luz.

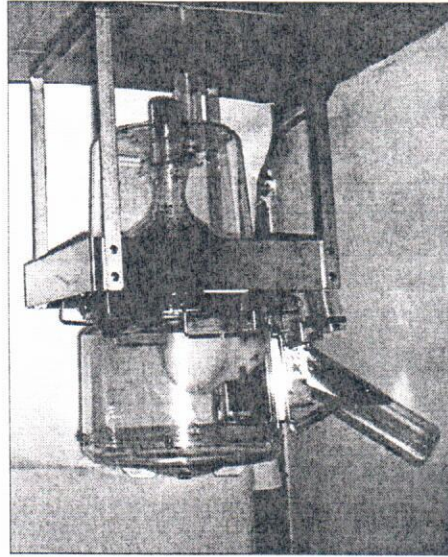
Tabla 1. Parámetros urinarios de la rata macho descriptos en la literatura

Parámetro	Autores			
	Frecuencia de expulsión de orina	Volumen total de orina (ml)	Volumen de orina por expulsión (ml)	Horas observadas
Chun y cols. (1990)	18	16	0.82	24
Chancellor y cols. (1994)	21.3		0.8	24
Zoo Lee y cols. (1998)	0.63	3.8	0.67	4
Chai y cols. (2000)	6.9		0.7	18
Morizane y cols. (2005)	15.5	15	0.98	24

Los trabajos de Yoshimura y cols. (2000) y de Schmidt y cols. (2001) no se muestran por que no proporcionan valores promedio para los parámetros urinarios. Se muestran valores promedio para cada parámetro.

Por otra parte, también se ha mostrado que el transferir al animal de su jaula habitual a la caja metabólica les produce estrés (Gil y cols. 1999; Gómez Sánchez y Gómez Sánchez 1991 citados en Eriksson y cols. 2004). El cual fue determinado por el incremento

Figura 6. Caja metabólica.



En los siete trabajos de los parámetros urinarios anteriormente descritos se utilizó como sistema de registro a la caja metabólica (Figura 6). Esta caja consiste de un cilindro de plástico transparente de 23 cm de diámetro por 18 cm de altura. El cilindro es cerrado herméticamente, por lo que la rata solo tiene ventilación por una rejilla lateral (8x7 cm) donde se coloca el agua y el alimento. Más aún, algunas cajas metabólicas no tienen contenedor para el alimento. El piso del cilindro de plástico es una malla de alambre de 1 cm por 1,5 cm de abertura. Debajo de la malla se coloca un embudo de plástico que desemboca en dos tubos que sirven para coleccionar por separado la orina y las heces. En algunos de los estudios antes mencionados, a las ratas se les privó de alimento (Yoshimura y cols. 2000; Morizane y cols. 2005) o se les hidrató por vía cutánea inmediatamente antes de iniciar los registros (Zoo Lee y cols. 1998; Yoshimura y cols. 2000; Schmidt y cols. 2001). Estas manipulaciones son factores que alteran la fisiología normal del aparato urinario.

de la síntesis de corticosterona, un tipo de glucocorticoide secretado en respuesta a estrés medio ambientales y psicológicos (Klein y cols. 1992 citado en Eriksson y cols. 2004). Este estrés puede presentarse en respuesta al poco espacio disponible en la caja, ya que una rata de tres meses de edad ocupa el 52.3 % de la base de la caja metabólica. Por ello, para conocer la fisiología de la función vesical normal de la rata macho es necesario realizar un estudio conductual en el que no se priven de alimento a los animales y se les mantenga en un ambiente similar al del bioterio o habitados a su nuevo ambiente previo al registro de los parámetros urinarios.

2.2 Sitios para la deposición de orina y posturas de expulsión de orina

Se ha mostrado que algunos roedores silvestres como la ardilla terrestre, el ratón canguro, el ratón de campo, el ratón venado, el ratón de laboratorio, el gerbil y el hamster, en condiciones de laboratorio tienen sitios específicos para depositar la orina y las heces. También se ha descrito que la mayoría de estas especies no construyen sus nidos en los lugares utilizados para orinar y defecar (Dagg y cols. 1971). En otra especie de roedor, el degu común, se ha encontrado que los individuos depositan orina y heces en las rutas comunitarias que utilizan para desplazarse alrededor de su territorio y en los sitios públicos utilizados para revolcarse (Ebensperger y Bozinovic 2000 citados en Chávez y cols. 2003; Ebensperger y Calozzi 2002 citados en Chávez y cols. 2003).

En condiciones naturales la rata silvestre deposita la orina sobre sus conospecíficos, en sus rutas habituales, en trampas, en carnadas venenosas, en objetos comunes de su medio ambiente como ramas, piedras y cuando huyen (Price 1975).

En el laboratorio, las ratas macho domésticas también orinan sobre sus conospecíficos y sobre bloques de madera o piedra colocados en sus cajas (Price 1975). Así como en diferentes sitios de la caja en la que se alojan, dependiendo del contexto social. Por ejemplo, durante el registro de la conducta sexual el macho orina inmediatamente después de ser introducido en la caja de prueba, cuando la hembra es introducida a la caja y después de eyacular (McIntosh y cols. 1979). La orina es expulsada usualmente conforme el animal camina por la caja (McIntosh y cols. 1979). Durante la expulsión de orina las ratas macho arquean ligeramente la espalda y frotan el pene sobre los objetos, depositando pequeñas cantidades de orina. Esta conducta fue denominada

una conducta de marcaje con orina y se le confirió una función de comunicación química (Pérez 1975). Se desconoce si esta conducta también se presenta cuando la expulsión de orina se debe a que la vejiga urinaria está llena, es decir, que la expulsión de orina este relacionada con la regulación del metabolismo del agua y no con la comunicación química.

3. JUSTIFICACIÓN

Los estudios sobre la fisiología de la micción se han realizado principalmente en ratas anestesiadas mediante técnicas invasivas como la cistometría, la electromiografía y la estimulación eléctrica (Mallory y cols. 1989; Kakizaki y cols. 1997; Kamo y cols. 2004; Cruz y Downie 2005). Sin embargo, no es posible determinar hasta que grado la respuesta registrada está influenciada por el anestésico. Por ello, para determinar las características de la micción es importante utilizar animales no anestesiados. Existen algunos estudios (Chancellor y cols. 1994; Chai y cols. 2000; Yoshimura y cols. 2000, Morizane y cols. 2005) en ratas macho no anestesiadas que analizan la función vesical mediante el registro de los parámetros urinarios. No obstante, los animales tuvieron manipulaciones que podrían alterar la función vesical tales como hidratación previa al registro, privación de agua y/o alimento. Además, en dichos trabajos no se determinó la conducta de expulsión de orina. Por ello, para conocer la fisiología normal de la función vesical es necesario realizar un estudio integrativo utilizando animales intactos con agua y alimento disponible, en el que se determinen los parámetros urinarios, la conducta de expulsión de orina y las posibles modificaciones en sus valores a lo largo del ciclo de oscuridad-luz. Estos datos permitirán conocer un poco más sobre la fisiología de la micción y ayudarán a comprender algunas disfunciones urinarias de la rata macho en condiciones experimentales. Por ejemplo, si las ratas intactas tienen sitios específicos para la deposición de orina y los animales con manipulación experimental expulsan la orina en sitios al azar, esto podría indicar problemas urinarios como incontinencia urinaria, disfunción que se corroboraría mediante métodos invasivos como la cistometría en animales no anestesiados.

4. HIPÓTESIS

Los valores de los parámetros urinarios de la rata macho varían con el ciclo oscuridad-luz. La rata macho expulsa la orina en sitios específicos de su jaula y durante este proceso fisiológico ejecutan patrones motores estereotipados.

5. OBJETIVO GENERAL

Caracterizar en la rata macho los parámetros urinarios y la conducta durante la expulsión de orina en las fases de oscuridad y de luz.

6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar en la rata macho los parámetros urinarios y los sitios para la deposición de orina durante los primeros cuatro días de alojamiento en el sistema de registro.

2. Caracterizar en ratas macho, previamente habituadas al sistema de registro, los parámetros urinarios, los sitios de deposición de orina y las posturas durante la expulsión de orina.

7. PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Se formaron dos grupos. En el primer grupo los animales fueron colocados en cajas de acrílico grandes (42.5 largo x 32.5 ancho x 18.5 altura cm) y durante cuatro días continuos se determinaron los parámetros urinarios y los sitios de deposición de orina (Figura 7). Con esto se cumplió con el primer objetivo particular. Los animales del segundo grupo fueron colocados en cajas de acrílico individuales (27.5 x 17.5 x 15 cm) y durante 24h se registraron los parámetros urinarios, los sitios para la deposición de orina y las posturas durante la expulsión de orina. Los animales de este grupo fueron previamente habituados al sistema de registro. Con este grupo se cumplió con el segundo objetivo particular. Los datos obtenidos en ambos grupos fueron analizados con relación al ciclo oscuridad-luz.

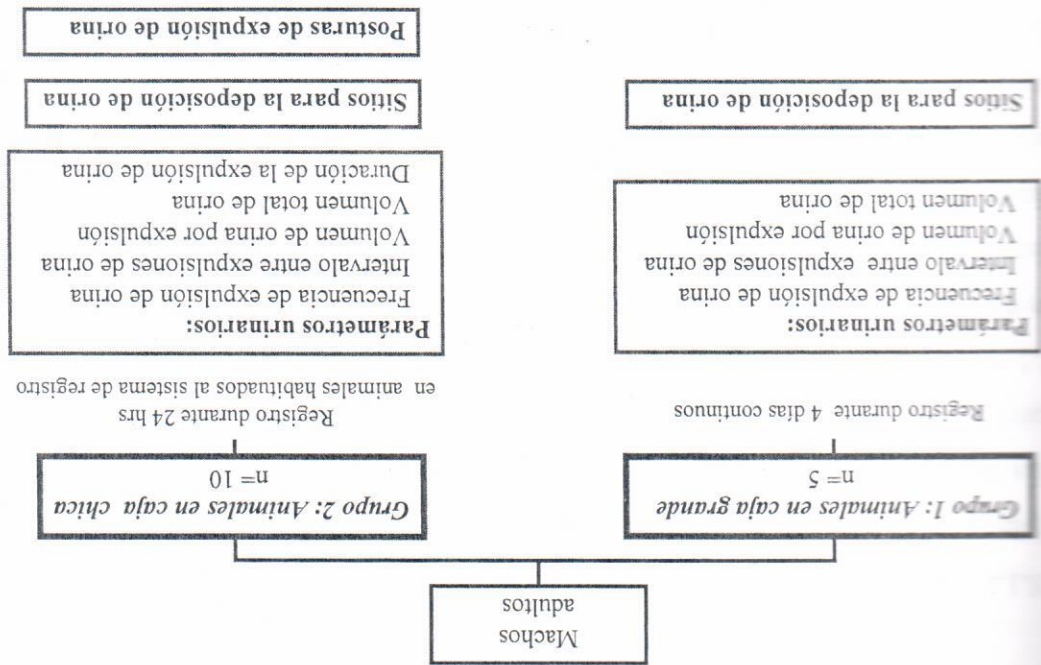


Figura 7. Protocolo experimental para evaluar los parámetros urinarios y caracterizar la conducta de expulsión de orina en la rata macho.

GRUPO 1: ANIMALES REGISTRADOS DURANTE 4 DÍAS CONTINUOS EN

CAJA DE ACRILICO GRANDE

8.1 Método

8.1.1 Animales

Se utilizaron ratas macho (n=5) de la cepa Wistar de tres meses de edad (350-450g). Los animales fueron mantenidos en condiciones de bioterio con ciclo invertido oscuridad-luz 12/12h. La luz se apagó y encendió a las 8:00 y 20:00h, respectivamente. Al inicio de cada fase del ciclo oscuridad-luz se colocó en el bebedero una cantidad conocida de agua y al final de la fase se midió el agua sobrante. El alimento (Rodent laboratory chow) también fue proporcionado *ad libitum*. Los animales fueron trasladados desde el bioterio al lugar de registro 10 minutos antes de comenzar la fase de oscuridad (7:50 am). La temperatura fue mantenida a $24 \pm 1.2^\circ\text{C}$.

8.1.2 Sistema de registro y colecta de orina

El sistema de registro consistió de una caja de acrílico con base de malla de acero inoxidable (rejilla de 1x1cm), de un colector de orina, de una mesa con superficie de vidrio y de un circuito cerrado de televisión (Figura 8a). Se utilizaron cajas de acrílico jumbo para rata (42.5 x 32.5 x 18.5 cm). Las cajas fueron colocadas sobre la malla que se encontraba a 7cm sobre la mesa de registro (Figura 8b). Esto permitió colocar un colector de orina debajo de la caja de acrílico. El colector fue un marco de madera con una película de plástico transparente, sus medidas se ajustaron a las de la caja de acrílico. Frente a ésta última se colocó una videocámara (Sony mod. AC-L15A) con luz infrarroja que estaba conectada con un cable de circuito cerrado a una videograbadora (Sony mod. SLV-LX70005) y a un monitor (Trinitron mod. PVM-14N1U), los cuales se encontraban fuera de la habitación de registro, permitiendo que los animales fueran observados continuamente.

Los animales de este grupo fueron observados durante los 4 días continuos, iniciando en el momento en que los animales fueron colocados en la mesa de registro. Durante los 4 días, en una hoja de registro se anotó la hora en la que la rata orinó y se cuantificó con una jeringa de insulina (Plastipack) el volumen de orina de cada expulsión que depositaban en el

... de madera. También se anotó el sitio en el que depositaban la orina. Con los datos
... se determinaron los siguientes parámetros:

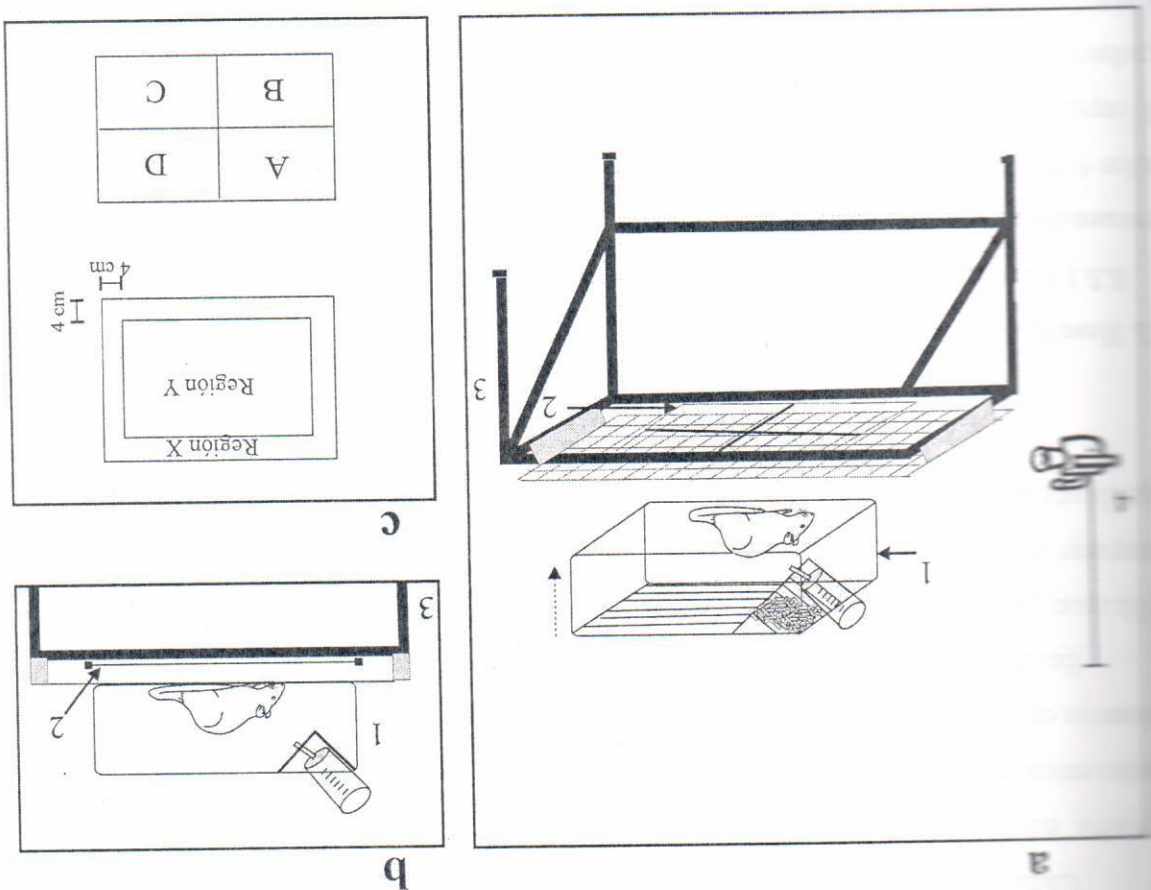
- 1) *Frecuencia de expulsión de orina*: número de expulsiones de orina en 12h y/6 24h.
- 2) *Intervalo entre las expulsiones de orina*: tiempo entre dos expulsiones de orina.
- 3) *Volumen de orina por expulsión*: cantidad de orina por expulsión.
- 4) *Volumen total de orina*: cantidad de orina expulsada en 12h y/6 24h.
- 5) *Sitios para la deposición de orina*: Lugar de la caja en donde la orina era expulsada.

Los sitios para la deposición de orina fueron determinados mediante la regionalización del colector de orina (Figura 8c). Se consideraron dos regiones (X y Y) y cuatro cuadrantes (A, B, C y D). La región X consistió de un área de 4cm de cada lado del colector. El área restante fue considerada como región Y (Figura 8c). Los cuadrantes fueron marcados en la superficie de la mesa de registro. Se delimitó el perímetro de la base de la caja de acrílico con un plumón indeleble. Posteriormente, el área fue dividida en cuatro cuadrantes con igual dimensiones (A, B, C y D; Figura 8c). El cuadrante A se localizó debajo del comedero y el cuadrante B debajo del bebedero. Los cuadrantes C y D fueron aquellos que estuvieron frente a los cuadrantes B y A, respectivamente. Durante la observación de las ratas se registró la región y el cuadrante en el que depositaban la orina. Finalmente, se cuantificó el número de expulsiones de orina en cada región y en cada cuadrante.

Se realizó estadística descriptiva y diferencial usando los programas Statística versión 6.0 y GraphPad Instat versión 3.0. Los resultados se muestran en promedio \pm error estándar (e.e.). Los parámetros urinarios fueron analizados por cada fase del ciclo oscuridad-luz y por tercios. Los tercios se refieren a que cada fase del ciclo oscuridad-luz fue dividida en tres periodos. El primer tercio (T1) comprendió las primeras cuatro horas de cada fase, el segundo tercio (T2) las siguientes cuatro horas y el tercero (T3) las últimas cuatro horas.

8.2 Análisis estadístico

Figura 8. Sistema de registro de la micción. a) Mesa de registro. b) Vista lateral del sistema. c) Regiones y cuadrantes para determinar los sitios de deposición de orina. 1. Caja de acrílico, 2. Colector de orina, 3. Mesa de vidrio con estructura de madera, 4. Videocámara. Nota: En a) se muestra la caja de acrílico separada de la malla.



a

b

c

Cada parámetro urinario fue comparado entre fases utilizando la prueba de Wilcoxon (prueba no paramétrica para muestras pareadas). La prueba de Friedman (prueba no paramétrica para muestras múltiples dependientes) se utilizó para comparar los parámetros urinarios entre días y entre tercios. La prueba de Dunn fue utilizada como prueba pos-hoc. En cuanto al análisis de los sitios de deposición de orina, se utilizó la prueba de Wilcoxon para comparar entre la región X y Y. La prueba de Friedman fue utilizada para comparar entre cuadrantes y entre días. En todas las pruebas se consideró como nivel de significancia el valor de alfa de 0.05.

8.3. Resultados

8.3.1. Parámetros urinarios

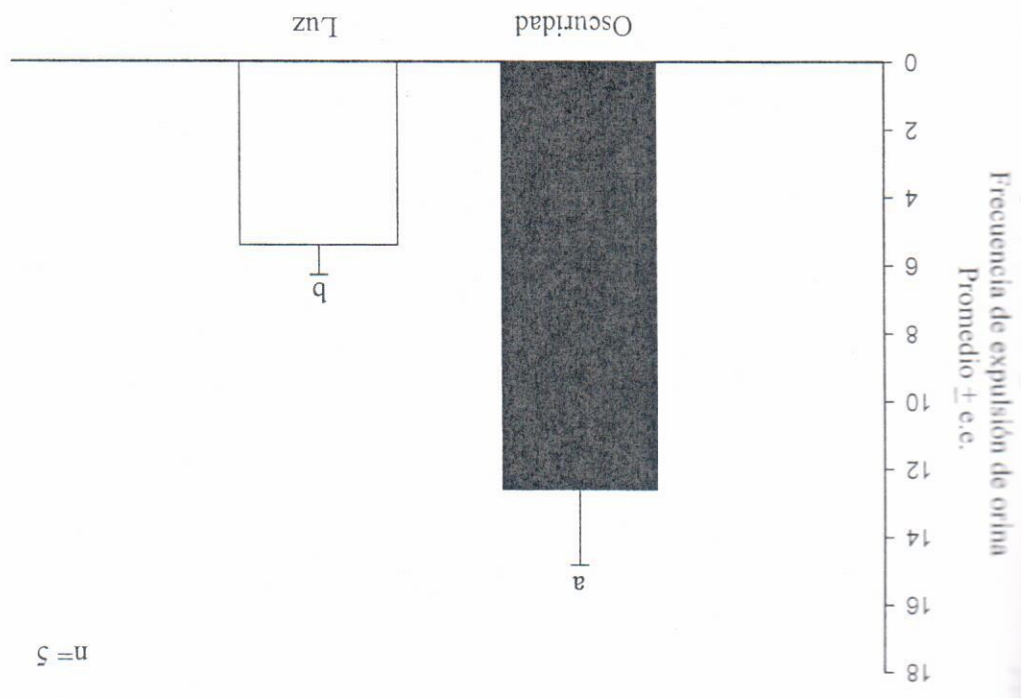
Frecuencia de expulsión de orina

En los 4 días de observación se registraron 360 expulsiones de orina con un promedio de 18 ± 18 expulsiones por día (Tabla 2, n=5). En la tabla 2 se puede observar que la frecuencia de expulsión varió entre individuos, por ejemplo el macho 1 expulsó el doble de expulsiones que los otros machos.

Tabla 2. Frecuencia de expulsión de orina por animal durante 4 días de registro continuo

Rata macho	Frecuencia de expulsión durante 4 días	Frecuencia de expulsión por día
1	115	28.7 ± 2.04
2	58	14.5 ± 1.18
3	75	18.7 ± 0.76
4	52	13 ± 0.81
5	60	15 ± 0.36
Total	360	18 ± 1.03
Promedio ± e.e.	61.2 ± 4.8	

Figura 9. Frecuencia promedio de expulsión de orina en las fases de oscuridad y luz de los 4 días de registro continuo. En la fase de oscuridad las ratas expulsan orina mayor número de veces ($W_{0.05(2)5}=2.02, P=0.043$).



En los 4 días de registro, la frecuencia de expulsión de orina fue estadísticamente mayor en la fase de oscuridad que en la de luz ($W_{0.05(2)5}=2.02, P=0.043$; Figura 9). En la fase de luz la frecuencia de expulsión de orina decreció alrededor de 55.2%, con respecto a lo que se presentó en la fase de oscuridad. Dicha tendencia se mantuvo en los cuatro días de observación, puesto que no hubo diferencias estadísticas entre los días (Oscuridad, $\chi^2_{(4)5}=0.33, P=0.95$; Luz, $\chi^2_{(4)5}=1.42, P=0.69$; Figura 10). De manera que, la frecuencia de expulsión de orina en el ciclo oscuridad-luz fue constante entre los días de registro. Las ratas expulsaron más número de veces en la fase de oscuridad que en la de luz.

Durante el análisis descriptivo de la frecuencia de expulsión de orina se observó que esta se distribuía asimétricamente a lo largo del día, en especial en la fase de oscuridad. Como ejemplo en la figura 11 se muestra el registro de la frecuencia de expulsión de orina de un animal durante los 4 días. En la figura 12 se muestra que en el transcurso de la fase de oscuridad, la frecuencia de expulsión de orina se incrementó hasta alcanzar un valor máximo en el tercer día y disminuyó en la fase de luz, manteniéndose constante. Este patrón es consistente en todos los animales y entre días y su análisis en porcentaje de frecuencia por cada tercio entre días no mostró variación significativa (Oscuridad: $T1 \chi^2_{r, 0.05(4)} = 3.20, P = 0.36$;

Figura 10. Frecuencia promedio de expulsión de orina en las fases de oscuridad y luz durante 4 días de registro continuo. La barra inferior negra y blanca representa la fase de oscuridad y luz, respectivamente. En la fase de oscuridad, al igual que en la de luz, la frecuencia de expulsión de orina no varió entre los días ($\chi^2_{r, 0.05(4)} = 0.33, P = 0.95$; $\chi^2_{r, 0.05(4)} = 1.42, P = 0.69$, respectivamente).

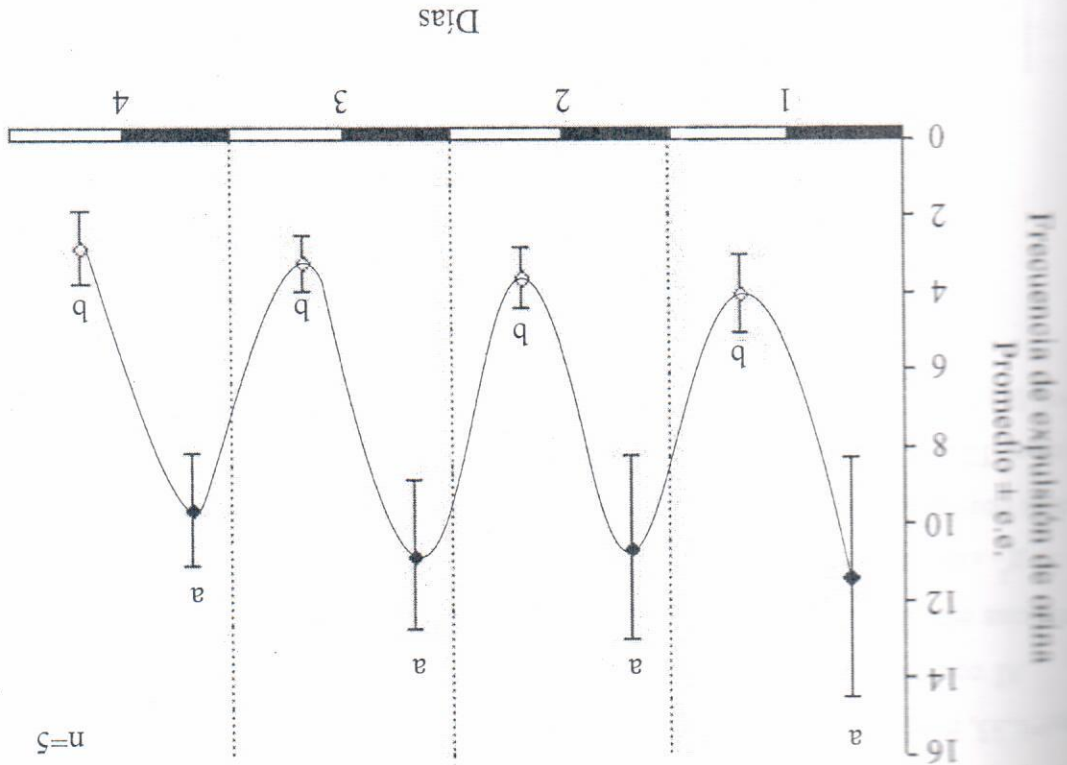
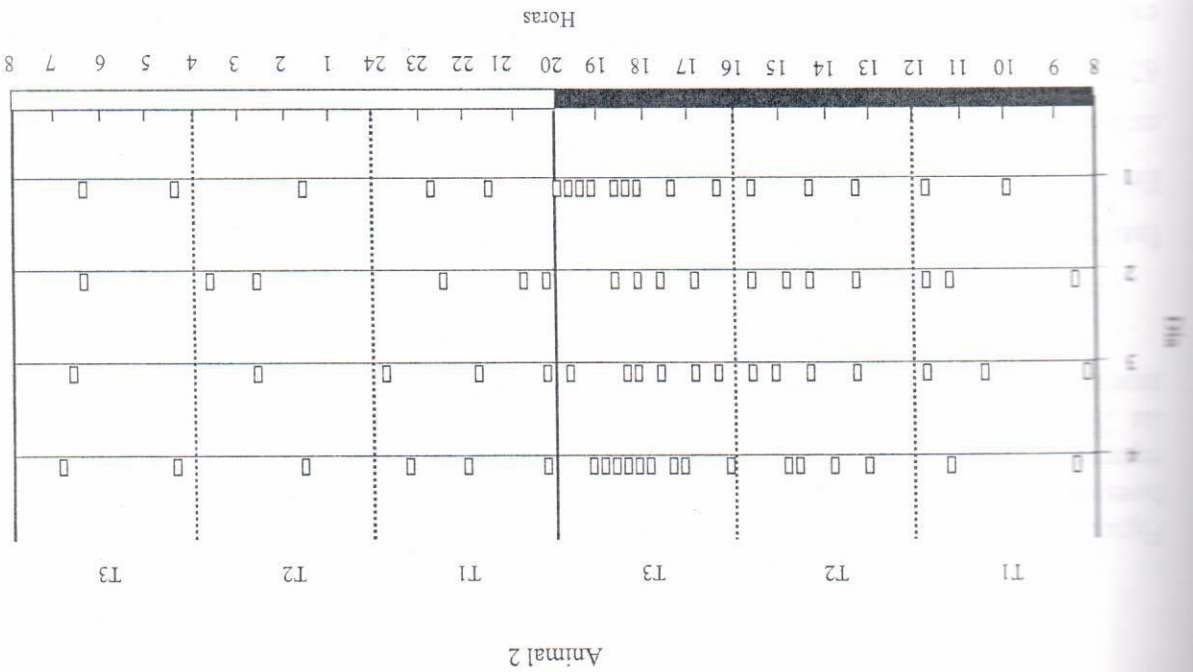


Figura 11. Frecuencia de expulsión de orina del animal 2 en las fases de oscuridad y luz durante 4 días de registro continuo. La barra inferior negra y blanca representa la fase de oscuridad y luz, respectivamente. Las líneas verticales punteadas delimitan los tres tercios de cada fase. Los rectángulos pequeños (\square) representan cada expulsión de orina y el tiempo en que la rata expulsó la orina. Note que sólo en las últimas cuatro horas de la fase de oscuridad la frecuencia de expulsión de orina es mayor, mientras que a lo largo de la fase de luz la frecuencia de expulsión de orina se mantiene.



Al comparar entre tercios (una prueba de Friedman por día) se encontró que existen diferencias estadísticas (Día 1, $\chi^2_{r 0.05(6)}=18.55, P=0.0023$; Día 2, $\chi^2_{r 0.05(6)}=21.16, P=0.0008$; Día 3, $\chi^2_{r 0.05(6)}=19.49, P=0.0016$; Día 4, $\chi^2_{r 0.05(6)}=17.37, P=0.0007$). De acuerdo con las pruebas pos-hoc, la frecuencia de expulsión de orina fue mayor en T3 de la fase de oscuridad que en el T2 y T3 de la fase de luz (Día 1, $P<0.01, P<0.05$; Día 2, $P<0.01$; Día 3, $P<0.05$; Día 4, $P<0.05$).

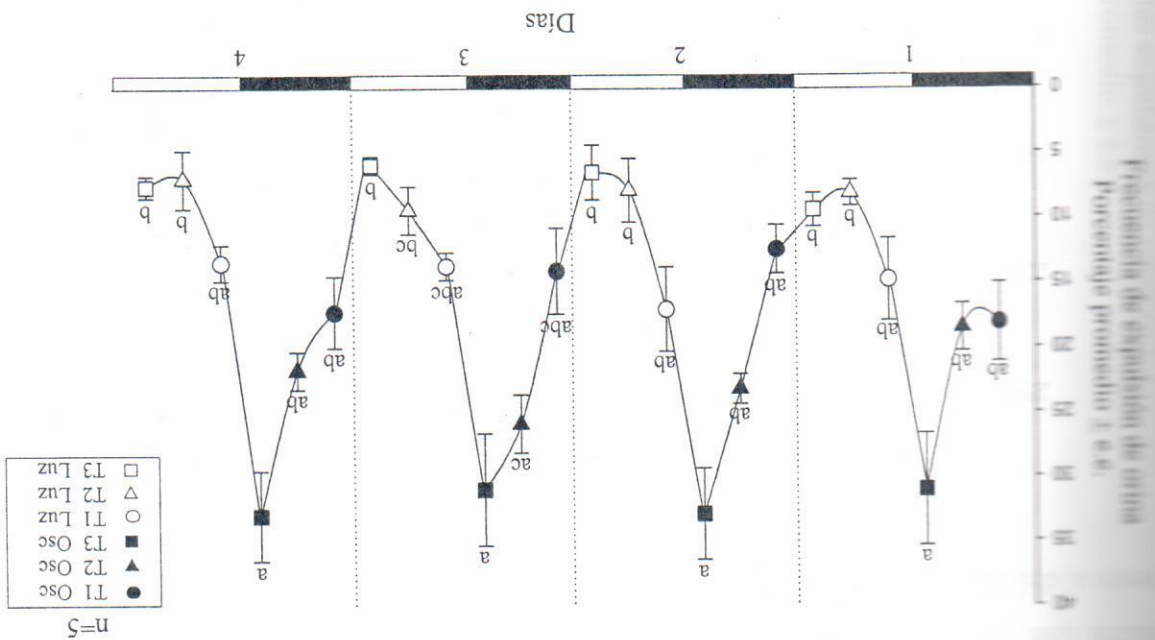
$\chi^2_{r 0.05(4)}=3.15, P=0.36$; T3 $\chi^2_{r 0.05(4)}=0.69, P=0.87$. Luz: T1 $\chi^2_{r 0.05(4)}=1.36, P=0.62$; T2 $\chi^2_{r 0.05(4)}=1.33, P=0.72$; T3 $\chi^2_{r 0.05(4)}=4.02, P=0.25$.

Al analizar el intervalo entre las expulsiones de orina con respecto a los tercios de las fases del ciclo oscuridad-luz se encontraron diferencias estadísticas ($\chi^2_{r, 0.05(6)}=17.80$, $P=0.0032$; Figura 13). Sin embargo, no hubo diferencias estadísticas entre los tercios de la

los 4 días ($\chi^2_{r, 0.05(4)}=1.32$, $P=0.77$, $\chi^2_{r, 0.05(4)}=3.48$, $P=0.37$, respectivamente; Tabla 3). registrados tanto en la fase de oscuridad como en la de luz no variaron estadísticamente entre oscuridad. Este patrón se conservó en los cuatro días de observación, ya que los valores expulsiones se incrementó alrededor del 56% con respecto a lo registrado en la fase de estadísticamente mayor en la fase de luz que en la fase de oscuridad (143.77 ± 16.55 min vs 82.85 ± 8.20 , respectivamente; $W_{0.05(2)}=2.02$, $P=0.43$). En la fase de luz el intervalo entre En los 4 días de registro el valor promedio del intervalo entre las expulsiones de orina fue

Intervalo entre expulsiones de orina

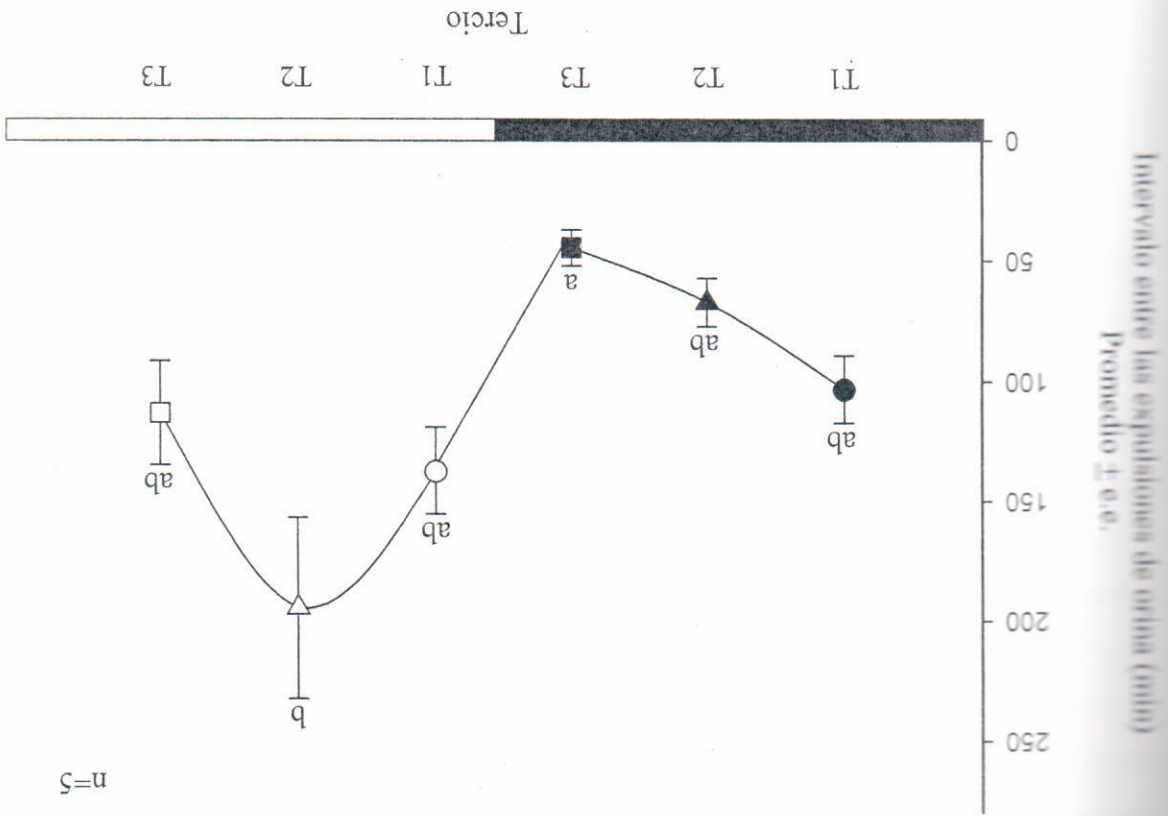
Figura 12. Frecuencia de expulsión de orina, expresada en porcentaje, en los tercios de las fases de oscuridad y luz durante 4 días de registro continuo. La barra inferior negra y blanca representa la fase de oscuridad y luz, respectivamente. El porcentaje se obtuvo con respecto a las 24h. Se realizaron pruebas de Friedman durante el mismo día y entre días. Sólo se muestran los resultados de las comparaciones durante el mismo día.



El volumen promedio de orina por expulsión fue alrededor de 30% mayor en la fase de luz que en la de oscuridad (1.38 ± 0.11 ml vs 0.91 ± 0.075 ml; $W_{0.05(2)}=2.02$, $P=0.043$). Los valores registrados tanto en la fase de oscuridad como en la de luz no mostraron variación estadística entre los días ($\chi^2_{r_{0.05(4)}}=2.04$, $P=0.65$; Luz: $\chi^2_{r_{0.05(4)}}=2.52$, $P=0.52$, respectivamente; Tabla 3). Es importante mencionar que el volumen de orina por expulsión mostró un rango amplio en todos los individuos, de 0.01 ml a 3.4 ml (Figura 14).

Volumen de orina por expulsión

Figura 13. Intervalo promedio entre las expulsiones de orina en los tercios de las fases de oscuridad y luz de los 4 días de registro. La barra inferior negra y blanca representa la fase de oscuridad y luz, respectivamente.



Solamente el intervalo entre las expulsiones de orina del T3 de oscuridad fue mayor al del T2 de luz ($P < 0.01$; Figura 13).

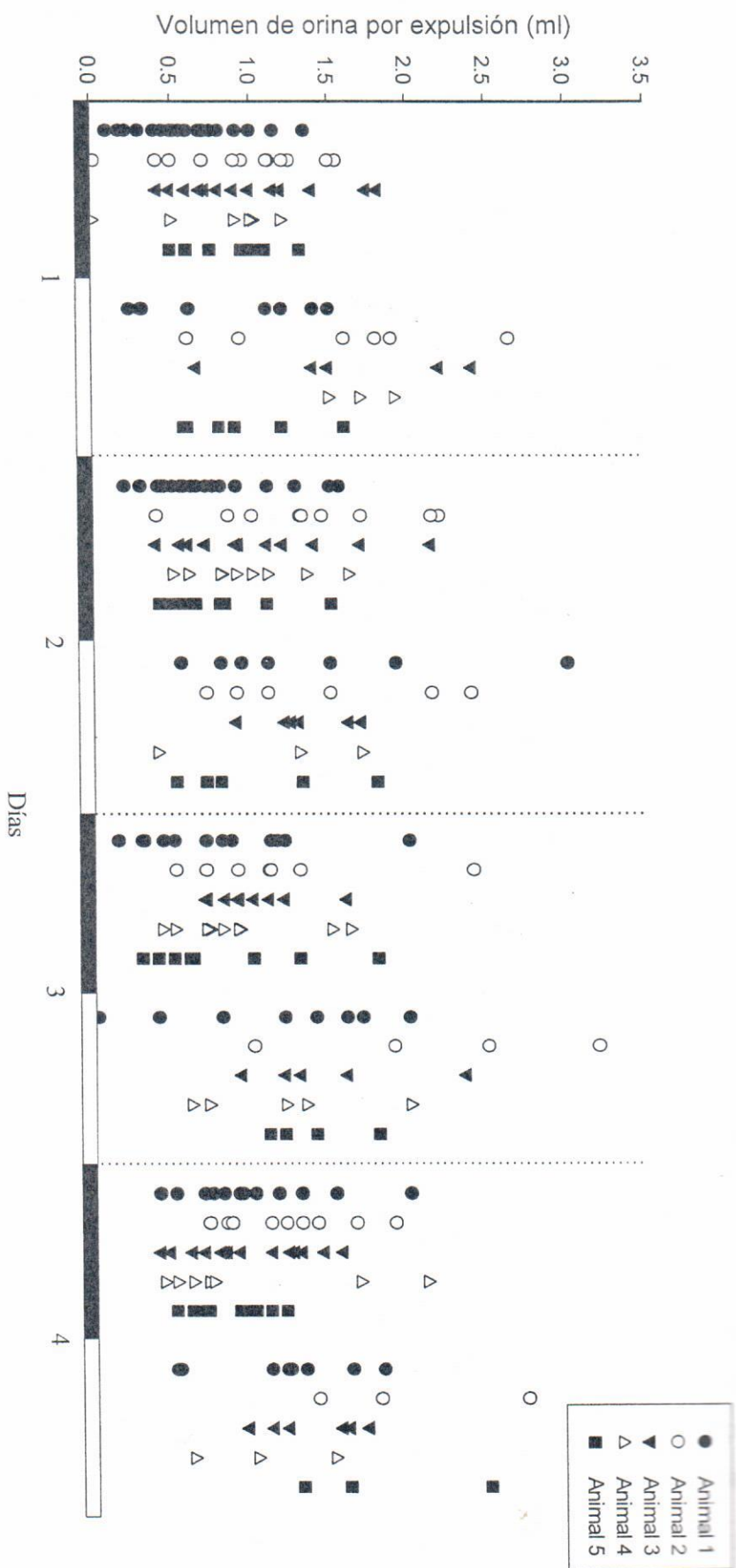


Figura 14. Volumen de orina por expulsión de los machos utilizados en 4 días de registro continuo. La barra inferior negra y blanca representa la fase de oscuridad y luz, respectivamente. En la figura se muestra cada una de las expulsiones de orina. Note la variación de los volúmenes de orina expulsados.

Volumen total de orina

El análisis de los 4 días de registro mostró que el volumen promedio total de orina fue alrededor de 18 ml por día. La orina colectada por fase fue 35.5% mayor en la fase de oscuridad que en la de luz (11.08 ± 1.36 ml vs 7.14 ± 0.85 ml; $W_{0.05(2)}=2.02$, $P=0.043$). Los valores del volumen total de orina registrados por cada fase no variaron entre los días (Oscuridad: $\chi^2_{10.05(4)}=1.56$, $P=0.70$; Luz: $\chi^2_{10.05(4)}=2.04$, $P=0.65$; Tabla 3).

Ingesta de agua

Las ratas ingirieron en promedio 62.21 ml de agua por día. De dicha cantidad, alrededor del 72.93% se ingirió en la fase de oscuridad, siendo estadísticamente mayor el consumo de agua en la fase de oscuridad que en la luz. (48.96 ± 3.43 ml vs 13.25 ± 1.15 ml, respectivamente; $W_{0.05(2)}=2.02$, $P=0.04$; Figura 15). El agua ingerida en la fase de oscuridad y en la de luz no varió en los cuatro días de registro ($\chi^2_{10.05(4)}=1.32$, $P=0.77$; Luz: $\chi^2_{10.05(4)}=3.48$, $P=0.37$; Tabla 3).

Figura 15. Ingesta promedio de agua en las fases de oscuridad y luz de los 4 días de registro. Note que en la fase de oscuridad las ratas consumieron mayor cantidad de agua ($M_{0.05(2,5)}=2.02, P=0.04$).

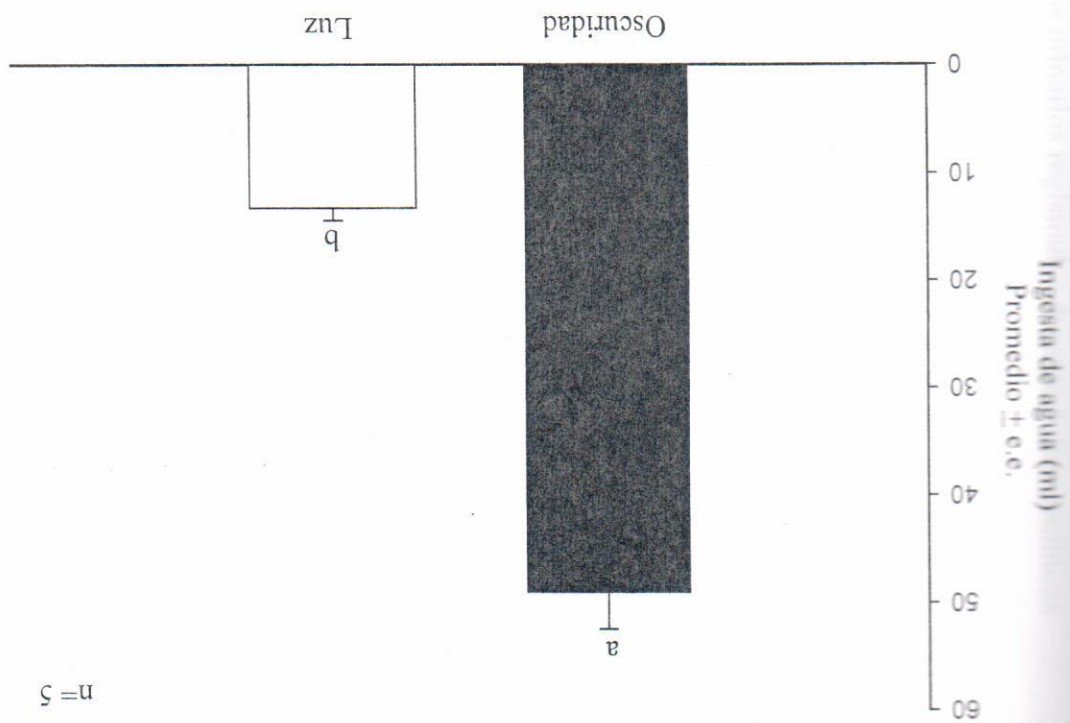


Tabla 3. Parámetros urinarios registrados durante 4 días consecutivos

Fase Parámetro urinario	Días de registro							
	Día 1		Día 2		Día 3		Día 4	
	Oscuridad	Luz	Oscuridad	Luz	Oscuridad	Luz	Oscuridad	Luz
Intervalo entre expulsiones de orina (min)	61.28 ± 11.6	130 ± 22	62.68 ± 8.4	123 ± 13.8	58.7 ± 7.5	153.6 ± 24.3	68.7 ± 9.9	168.2 ± 26
Volumen de orina por expulsión (ml)	0.86 ± 0.07	1.33 ± 0.2	0.94 ± 0.1	1.26 ± 0.07	0.89 ± 0.07	1.46 ± 0.18	0.95 ± 0.06	1.48 ± 0.1
Volumen total de orina (ml)	10.87 ± 1.6	7.39 ± 0.7	11.28 ± 0.7	7.24 ± 1.3	11.15 ± 1.2	7.28 ± 0.7	11.03 ± 1.4	6.67 ± 0.8
Ingesta de agua (ml)	47.29 ± 3	13.31 ± 2.2	49.7 ± 3.1	12.5 ± 1.2	19.65 ± 4.1	14.3 ± 2	49.13 ± 4.9	12.69 ± 1.8

Se muestran valores promedio ± e.e.

3.2.2. Símbolos para la deposición de orina
 Se registraron 314 expulsiones de orina de las 360 registradas en los 4 días para determinar los
 sitios de deposición. En general, las ratas depositaron orina mayor número de veces en la
 región X que en la región Y ($W_{0.05(2)}=2.02, P=0.043$; Figura 16).

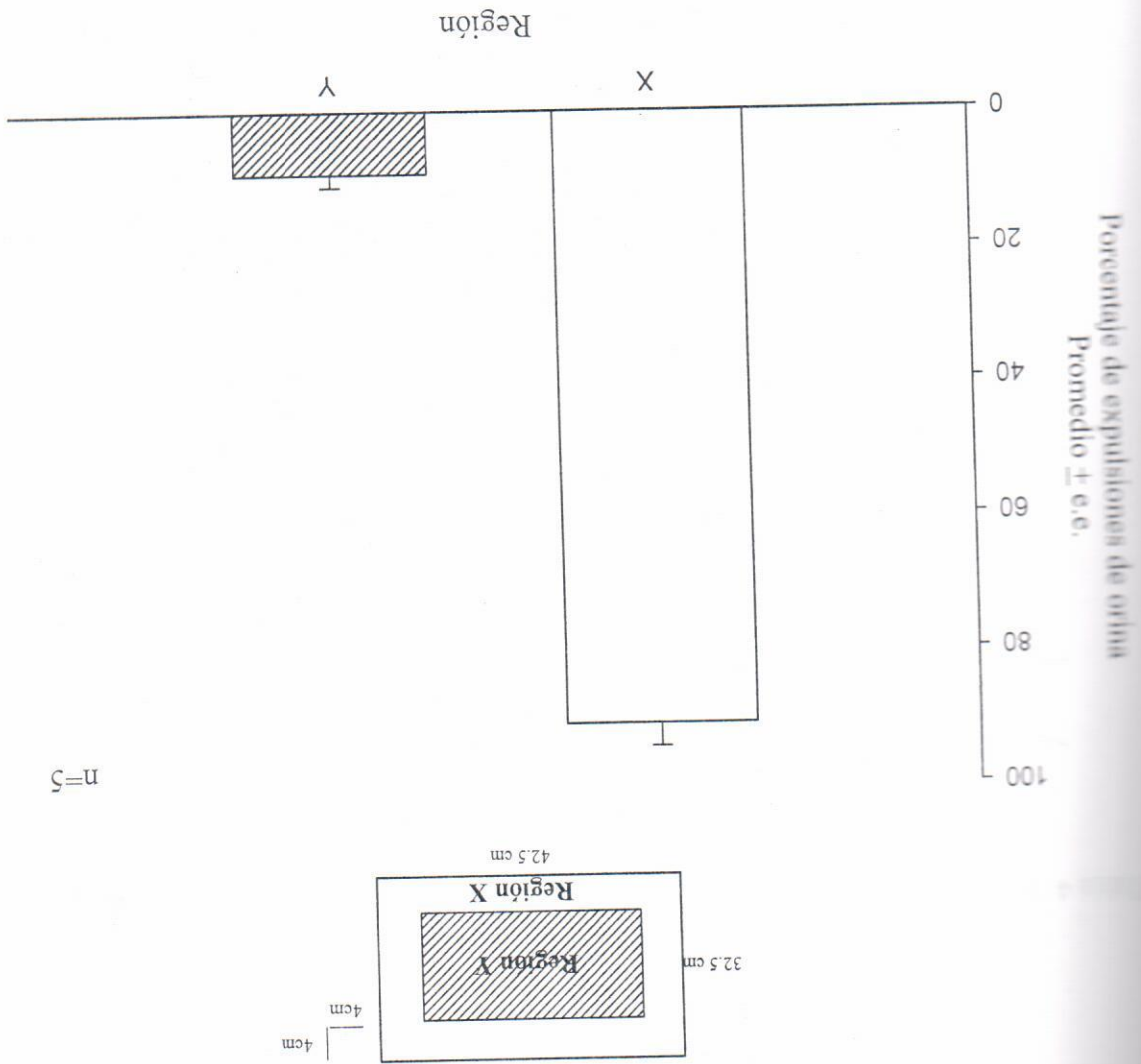


Figura 16. Porcentaje promedio de expulsiones de orina depositadas en las regiones X y Y en 4 días de registro continuo. Note que las ratas depositan la orina con mayor frecuencia en la región X, cerca de las paredes de la caja.

En la tabla 4 y en la figura 17 se puede observar que en los 4 días de registro el patrón de mayor frecuencia de deposición de orina cerca de las paredes de la caja (región X) se presentó tanto en la fase de oscuridad como en la de luz. En la tabla 4 también puede apreciarse que el número de expulsiones de orina en la región Y fue menor en la fase de luz que en la de oscuridad. Cabe destacar que el porcentaje de deposiciones de orina que ocurrieron en la región Y disminuyó conforme las ratas permanecieron más días en la caja (figura 17).

Tabla 4. Número de expulsiones de orina en las regiones X y Y en 4 días de registro continuo

Fase	Oscuridad		Luz	
	X	Y	X	Y
Día 1	46	15	19	0
Día 2	50	8	24	2
Día 3	54	7	19	1
Día 4	47	1	21	0

Figura 17. Porcentaje de expulsión de orina en las regiones X y Y en 4 días de registro continuo. El porcentaje se obtuvo por fase. En ambas fases, las ratas depositaron la orina principalmente en la región X, cerca de las paredes de la caja.



De acuerdo con los resultados anteriores las ratas orinaron principalmente cerca de las paredes de la caja. Por tal motivo, en el análisis de los sitios de deposición de orina por cuadrantes solo fueron consideradas las expulsiones realizadas en la región X (Figura 18). Aunque las ratas orinaron en los cuatro cuadrantes, el número de expulsiones de orina de los cuatro cuadrantes varió estadísticamente (Día 1 $\chi^2_{r0.05(4)}=8.93$, $P=0.03$; Día 2 $\chi^2_{r0.05(4)}=10.83$, $P=0.01$; Día 3 $\chi^2_{r0.05(4)}=9.36$, $P=0.02$; Día 4 $\chi^2_{r0.05(4)}=9.73$, $P=0.02$), siendo A el cuadrante en el que la orina se depositó mayor número de veces ($P<0.05$ para A vs B y A vs C, $P>0.05$ para A vs D).

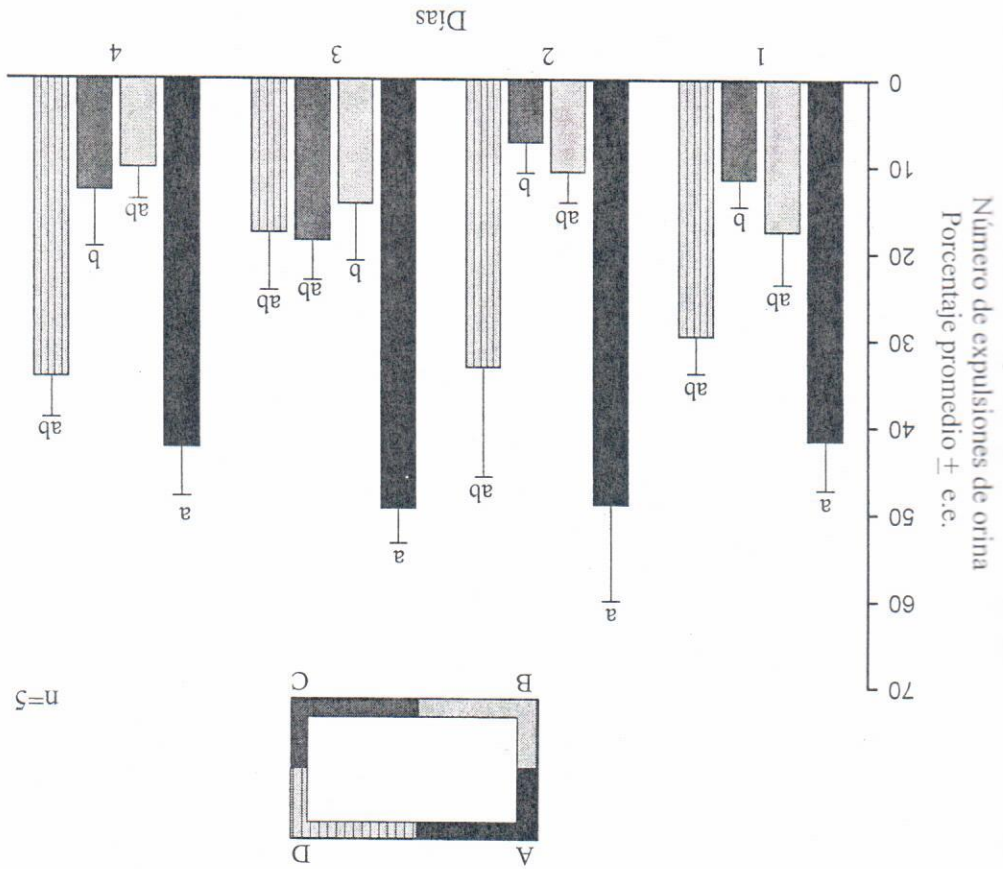


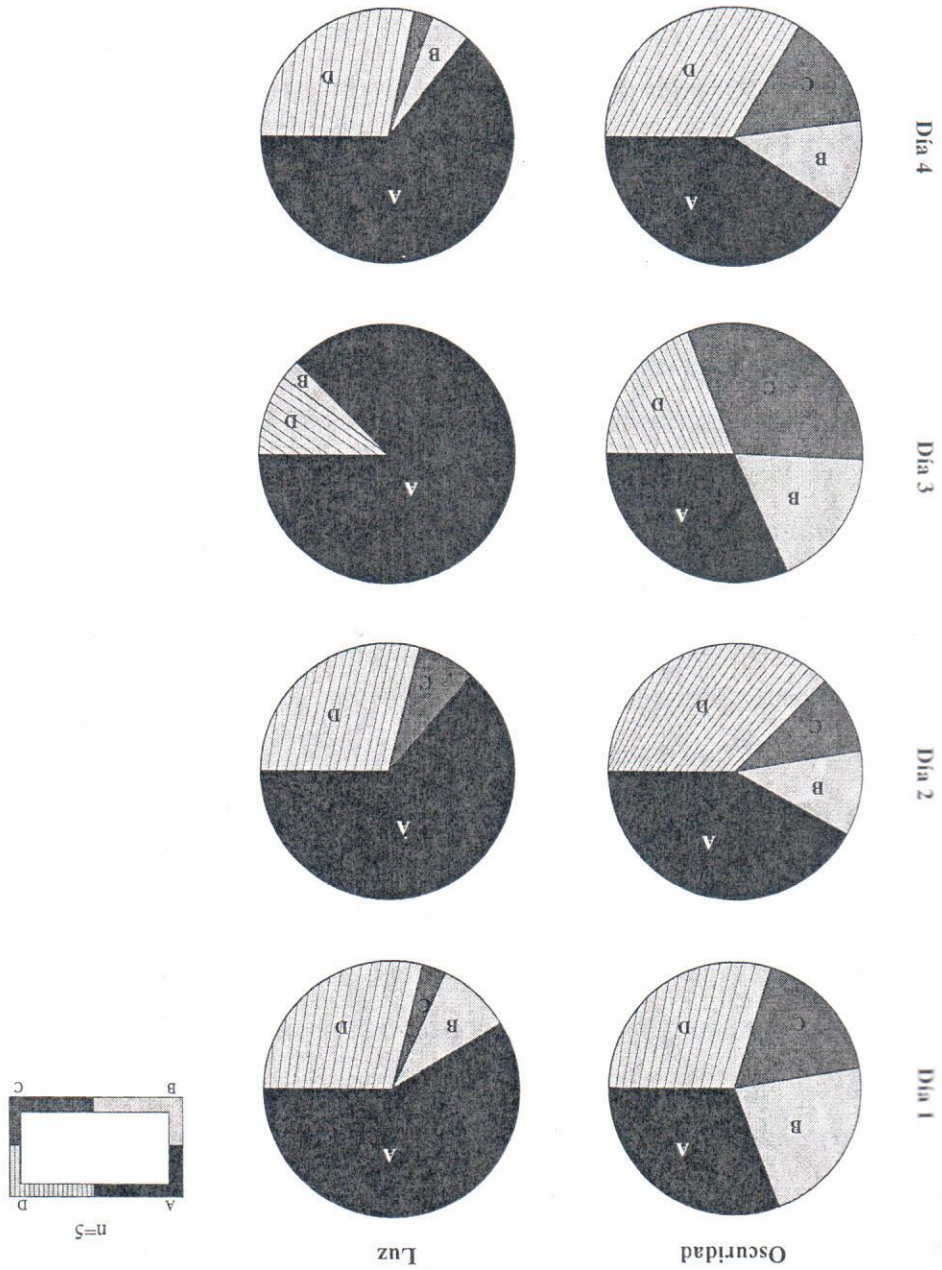
Figura 18. Porcentaje promedio de expulsiones de orina por cuadrante durante 4 días de registro continuo. El porcentaje se obtuvo con respecto a 24h. Note que las ratas depositaron orina en los cuadrantes pero la frecuencia fue mayor en A. Este patrón se conservó durante los cuatro días. La figura superior muestra los cuadrantes analizados.

Al analizar los sitios para la deposición de orina con respecto a las fases del ciclo de luz-oscuridad, sólo en la fase de oscuridad del día 2 el número de expulsiones de orina varió significativamente entre los cuadrantes, siendo mayor A que C ($\chi^2_{r 0.05(4)}=7.72$, $P=0.05$, $n=19$). En la fase de luz de todos los días de registro, con excepción del día 2, el número de deposiciones de orina fue mayor en A que en C (Día 1 $\chi^2_{r 0.05(4)}=10.31$, $P=0.01$; Día 3 $\chi^2_{r 0.05(4)}=11.57$, $P=0.009$; Día 4 $\chi^2_{r 0.05(4)}=12.95$, $P=0.0047$; en los tres casos, $P<0.05$; Figura 19). Estos resultados muestran que en la fase de oscuridad las ratas depositaron la orina en los cuatro cuadrantes, mientras que en la fase de luz lo hicieron principalmente en A. También encontramos que el número de expulsiones registradas para cada cuadrante en el día 1 no varió estadísticamente al registrado en el día 4, indicando que el patrón de deposición de orina en los cuadrantes se mantiene entre los días (Tabla 5).

Tabla 5. Resultados de las pruebas de Friedman comparando los cuadrantes entre los 4 días de registro

Cuadrante	Oscuridad		Luz	
	$\chi^2_{r 0.05(4)}$	P	$\chi^2_{r 0.05(4)}$	P
A	1.46	0.69	2	0.57
B	1.97	0.57	5.25	0.15
C	5.84	0.11	1.40	0.70
D	2.18	0.53	3.14	0.77

Figura 19. Porcentaje de expulsión de orina por cuadrante durante las fases del ciclo oscuridad y luz durante 4 días de registro continuo. Note que en la fase de oscuridad las ratas depositaron la orina en los cuatro cuadrantes, mientras que en la fase de luz orinaron principalmente en el cuadrante A. El porcentaje se obtuvo por fase.



Se sabe que la caja metabólica, sistema generalmente utilizado para evaluar los parámetros urinarios, produce estrés en los animales (Gill y cols. 1999; Gómez Sánchez y Gómez Sánchez 1991 citados en Eriksson y cols. 2004). Algunos de los trabajos (Yoshimura y

oscuridad y principalmente en el cuadrante A en la fase de luz, fue consistente en los cuatro Asimismo, la preferencia por depositar la orina en los cuatro cuadrantes en la fase de características de la caja de acrílico como el piso de alambre del sistema de registro. depositar la orina no es afectada por la exposición de las ratas a un ambiente nuevo o a las elección por la región X. Estos resultados sugieren que la elección por dicha región para cerca de las paredes de la caja. A pesar de que el espacio era más grande fue invariable su En cada uno de los cuatro días de observación, los animales orinaron principalmente

deposición de orina se debieran al espacio reducido en el que generalmente se alojan las ratas. sitios específicos para depositar la orina, evitando que los resultados de los sitios de El 14 % de la base de la caja, permitió determinar con precisión que la rata macho presenta El hecho de que los animales fueran alojados en cajas jumbo y que la rata sólo ocupara

La mayoría de los estudios previos registraron los parámetros urinarios por no más de 24h y los describió por fase del ciclo oscuridad-luz. Los resultados obtenidos en cada parámetro fueron consistentes a lo largo de los cuatro días de observación. Esto muestra que el sistema de registro que utilizamos no produjo un efecto estresante para modificar los parámetros urinarios. Esto se debe probablemente a que, a diferencia de la caja metabólica, nuestros animales fueron alojados en cajas parecidas a las del

registrar por más de un día o 24h. El presente trabajo analizó los parámetros urinarios por más de 24h y los describió por fase del ciclo oscuridad-luz. Los resultados obtenidos en cada parámetro fueron consistentes a lo largo de los cuatro días de observación. Esto muestra que el sistema de registro que utilizamos no produjo un efecto estresante para modificar los parámetros urinarios. Esto se debe probablemente a que, a diferencia de la caja metabólica, nuestros animales fueron alojados en cajas parecidas a las del

La mayoría de los estudios previos registraron los parámetros urinarios por no más de 24h y los describió por fase del ciclo oscuridad-luz. Los resultados obtenidos en cada parámetro fueron consistentes a lo largo de los cuatro días de observación. Esto muestra que el sistema de registro que utilizamos no produjo un efecto estresante para modificar los parámetros urinarios. Esto se debe probablemente a que, a diferencia de la caja metabólica, nuestros animales fueron alojados en cajas parecidas a las del

El presente grupo de animales se determinaron los parámetros urinarios y los sitios para la deposición de orina durante 4 días continuos de registro, cumpliendo con el primer objetivo

... 2000; Schmidt y cols. 2001) que evalúan los parámetros urinarios y que utilizan la caja
... habitan a los animales por 7 días. Otros no mencionan que los animales hayan
... (Chun y cols. 1990; Zoo Lee y cols. 1998; Chai y cols. 2000; Morizane y cols.
... De acuerdo con nuestros resultados, al parecer las ratas no requieren de un periodo de
... a nuestro sistema de registro, puesto que los parámetros urinarios y los sitios de
... fueron consistentes en los cuatro días de registro.
Finalmente, a pesar del tamaño de la muestra (n=5), la consistencia de los resultados
... en los parámetros urinarios como en los sitios para la deposición de orina, dio lugar a
... un estudio en el que se detallaran los parámetros urinarios y en el que se describieran
... las posturas de expulsión de orina.

9. GRUPO 2: ANIMALES REGISTRADOS DURANTE 24 HORAS EN CAJA DE

ACRILICO CHICA

9.1 Método

Las características de los animales y del sistema de registro del grupo 2 fueron semejantes a las del grupo 1, descritas previamente. Los animales del presente grupo (n=10) fueron registrados durante 24h en cajas de acrílico individuales para rata (27.5 x 17.5 x 15 cm), cuatro días después de permanecer en el sistema de registro. En este grupo, además de evaluar los parámetros urinarios registrados en el grupo 1 también se cuantificó la duración de la expulsión de orina (tiempo entre la primer y última gota de orina en una expulsión).. A diferencia del grupo 1, en el grupo 2 los sitios para la deposición de orina solo fueron evaluados por cuadrantes. Todos los animales de este grupo fueron videograbados durante las 24h, lo que permitió la descripción y evaluación de las posturas de expulsión de orina.

9.2 Análisis estadístico

Se realizó estadística descriptiva y diferencial usando los programas: Statística versión 6.0 y GraphPad Instat versión 3.0. Los resultados se muestran en promedio \pm error estándar (e.e.). Al igual que el grupo 1, los parámetros urinarios fueron analizados por cada fase del ciclo oscuridad-luz y por tercios.

Cada parámetro urinario, excepto en la frecuencia de expulsión de orina en donde se utilizó la prueba de Wilcoxon, fue comparado entre fases utilizando la prueba de t-student (prueba paramétrica para muestras pareadas). En el análisis de la duración de la expulsión de orina solo fueron considerados 8 de los 10 animales. La prueba de Friedman se utilizó para comparar los parámetros urinarios entre tercios. La prueba de Dunn fue utilizada como prueba pos-hoc. En este grupo de animales se establecieron tres rangos de volumen para analizar el volumen de orina por expulsión: R1=0.1 a 0.5 ml, R2=0.51 a 0.99 ml, R3= \geq 1 ml de orina. Posteriormente, se analizó la frecuencia de expulsión y el volumen de orina promedio por rango. Estos fueron comparados con la prueba de Friedman. En cuanto al análisis de los sitios de deposición de orina, se utilizó la prueba de Friedman para comparar entre cuadrantes.

Con respecto al análisis de las posturas de expulsión de orina, se utilizó la prueba de Wilcoxon para comparar entre posturas. La prueba de Friedman fue utilizada para comparar las posturas entre los tercios. En todas las pruebas se consideró como nivel de significancia el valor de alfa de 0.05.

9.3 Resultados

9.3.1 Parámetros urinarios

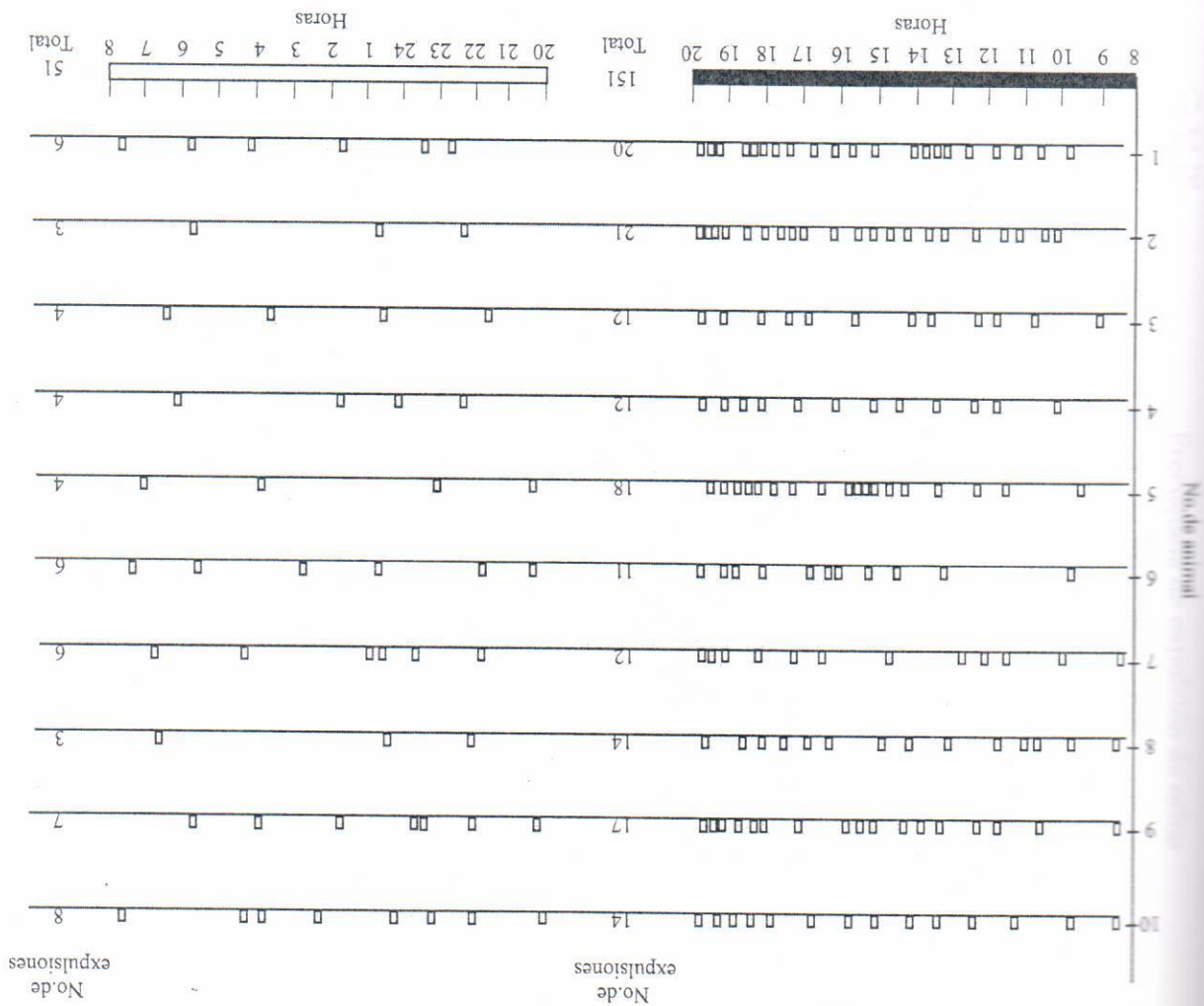
Frecuencia de expulsión de orina

Las ratas expulsaron orina en promedio 20 ± 1.2 veces en 24h (Tabla 6). En las figuras 20 y 21 puede observarse que las ratas orinaron más en la fase de oscuridad que en la de luz. Esta diferencia entre fases fue estadísticamente significativa (15.1 ± 1.14 vs 5.1 ± 0.54 ; $W_{0.05(2)10}=2.80$, $P=0.005$; Figura 21).

Tabla 6. Frecuencia de expulsión de orina durante 24h de registro

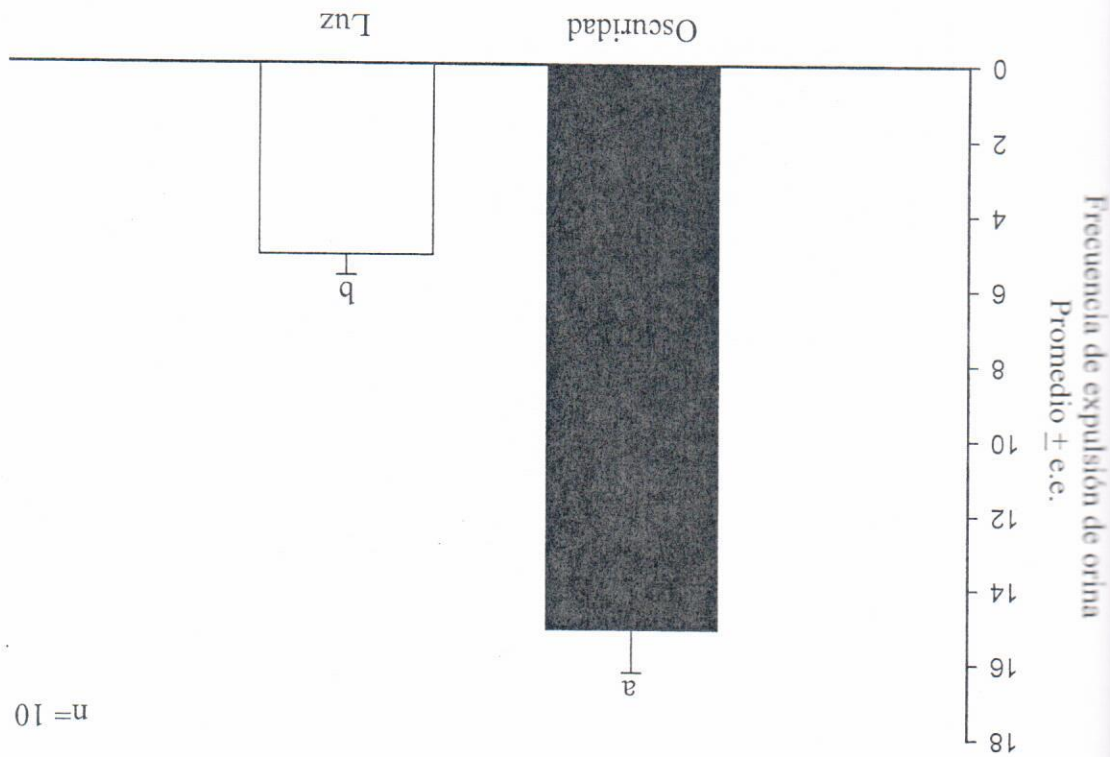
Rata macho	Frecuencia de expulsión de orina
1	26
2	24
3	16
4	16
5	22
6	17
7	18
8	17
9	24
10	22
Total	202
Promedio \pm e.e.	20.2 ± 1.2

Figura 20. Frecuencia de expulsión de orina de diez machos registrados en 24h. La barra inferior negra y blanca representa la fase de oscuridad y luz, respectivamente. Cada uno de los rectángulos (□) representa una expulsión de orina. Los rectángulos fueron colocados en la hora en que se expulsó la orina. Al final de cada fase se muestra el número total de expulsiones por animal. Note que en cada uno de los animales la frecuencia de expulsión de orina fue mayor en la fase de oscuridad.



En la figura 22 se muestra un histograma de frecuencia con el número de expulsiones de orina por hora de los diez animales registrados. Puede observarse que en la fase de oscuridad las expulsiones de orina no se distribuyeron homogéneamente, sino que la frecuencia de expulsión fue incrementándose hasta alcanzar su valor máximo en las últimas 4 horas de esta fase, mientras que en la fase de luz permaneció más o menos constante.

Figura 21. Frecuencia promedio de expulsión de orina en las fases de oscuridad y luz durante 24h de registro. Las ratas orinaron más en la fase de oscuridad que en la fase de luz ($W_{0.05(2)10}=2.80, P=0.005$).



Al analizar el porcentaje de la frecuencia de expulsión de orina en tercios, se encontró que había diferencias significativas ($\chi^2_{r_{0.05}(6)}=39.31, P<0.0001$; Figura 23), siendo mayor los porcentajes de expulsión de orina del segundo y tercer tercio de la fase de oscuridad (T2 y T3 de luz, T3 de oscuridad vs T1 oscuridad, T1, T2 y T3 de luz, $P<0.05$).

En resumen, del número de expulsiones de orina en 24h, el 75% se realizaron en la fase de oscuridad y solo el 25% en la fase de luz. Además, del número total de expulsiones de la fase de oscuridad, la mitad de ellas se llevaron cabo en el tercer tercio (37.58% de 75%, Figura 23). En contraste, el porcentaje de expulsiones de la fase de luz (25%) se distribuyó homogéneamente en los tres tercios.

Figura 22. Frecuencia absoluta de la expulsión de orina durante 24h, en las fases de oscuridad y luz. La barra inferior negra y blanca representa la fase de oscuridad y luz, respectivamente. Cada punto representa el número total de expulsiones registradas en una hora. Note que en el transcurso de la fase de oscuridad, el número de expulsiones se incrementa, mientras que en la fase de luz se mantiene constante.

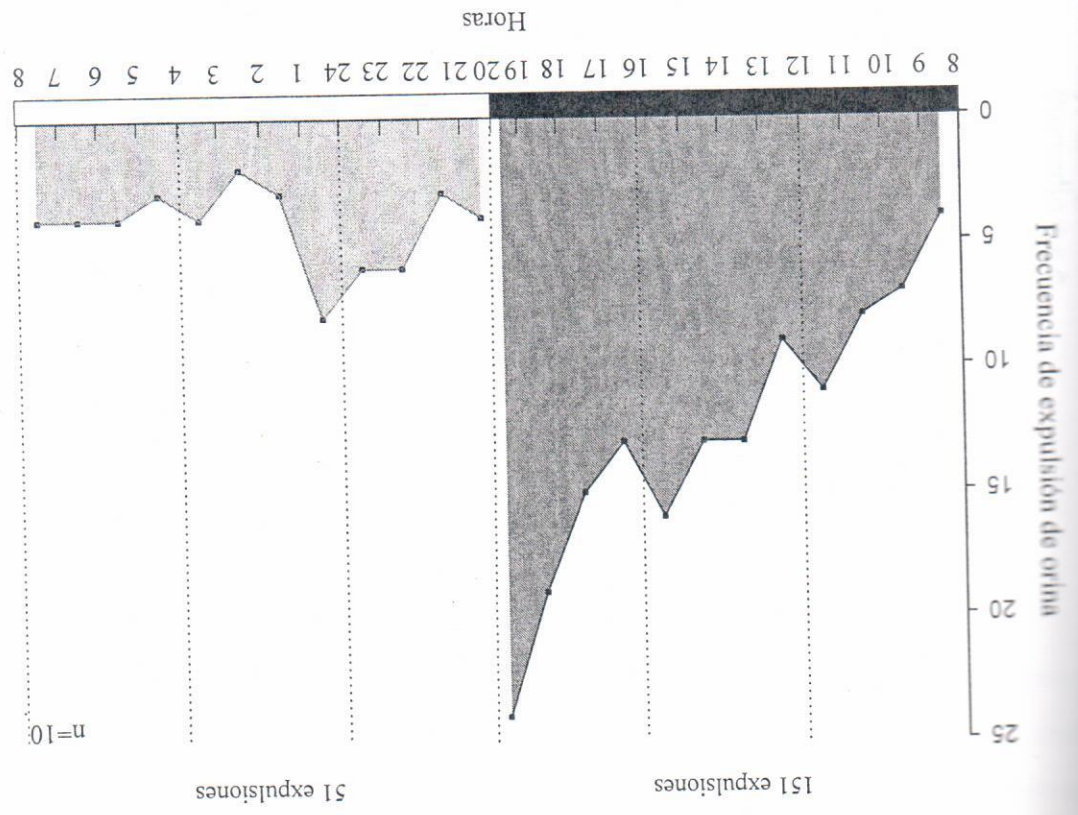


Figura 23. Porcentaje promedio de expulsiones de orina en los tercios de las fases de oscuridad y luz en 24h de registro. Los porcentajes se calcularon con respecto a 24h. La barra inferior y blanca indica la fase de oscuridad y la fase superior negra indica la fase de luz, respectivamente. Al transcurrir la fase de oscuridad el número de expulsiones se incrementó, a diferencia de lo que ocurrió en la fase de luz.

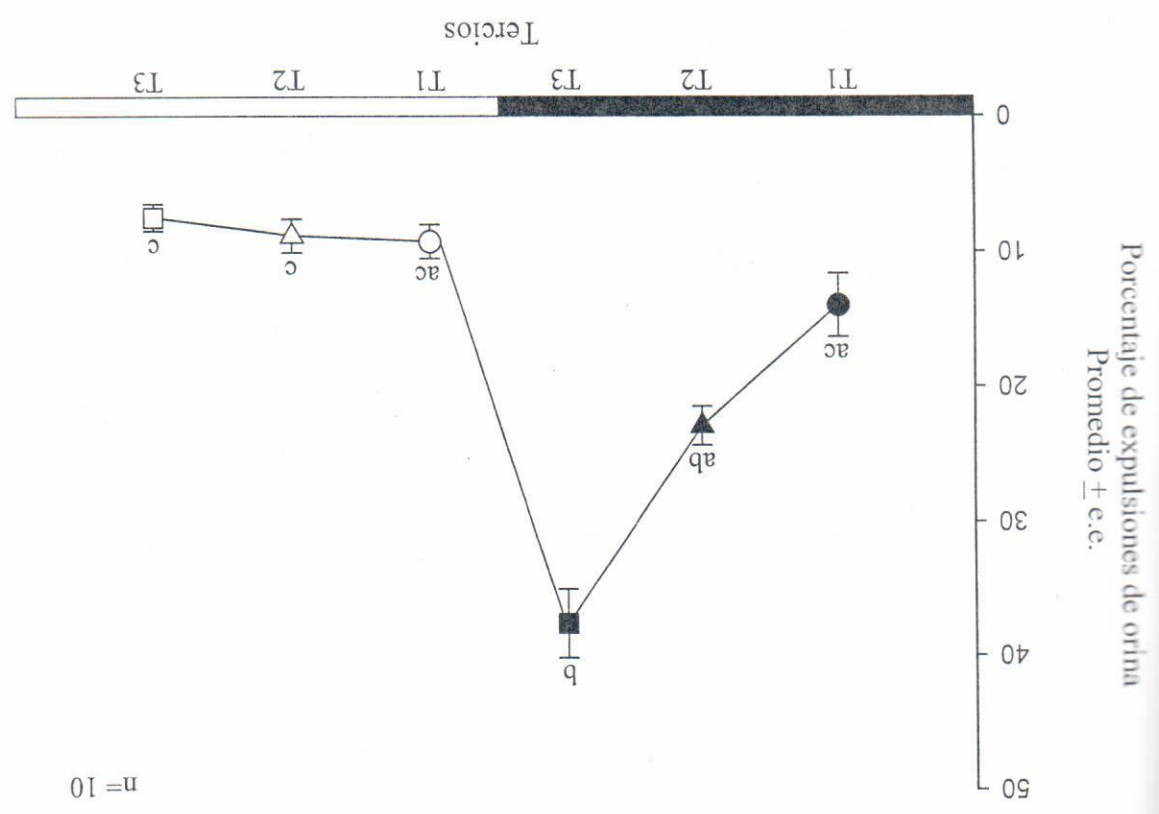
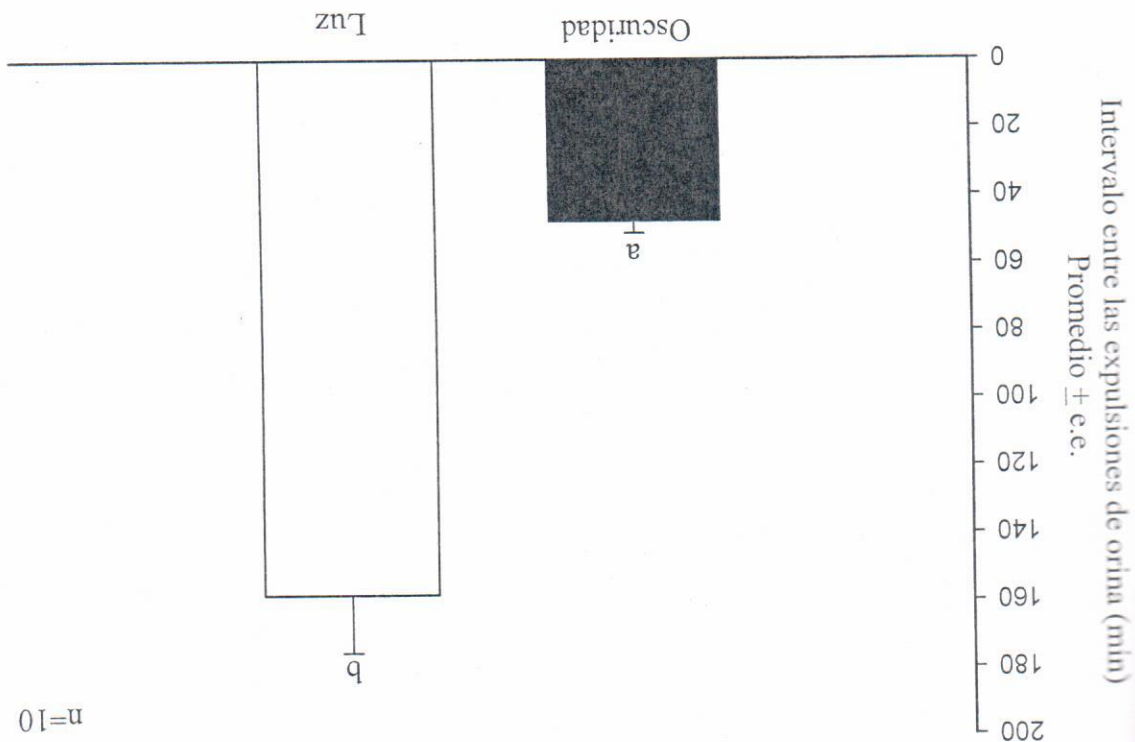


Figura 24. Intervalo promedio entre las expulsiones de orina en las fases de oscuridad y luz en 24h de registro. El tiempo que transcurre entre expulsiones es menor en la fase de oscuridad que en la de luz ($t_{0.05(2)9} = -6.03, P=0.0001$).



Intervalo entre expulsiones de orina
 El intervalo entre las expulsiones de orina fue alrededor de 70% mayor en la fase de luz que en la de oscuridad (157.8 ± 17.30 min vs 47.5 ± 3.61 min; $t_{0.05(2)9} = -6.03, P=0.0001$; Figura 24).

Volumen de orina por expulsión

El volumen de orina por expulsión fue casi 50% menor en la fase de oscuridad, con respecto al valor registrado en la fase de luz (0.69 ± 0.05 ml vs 1.43 ± 0.14 ml, respectivamente; $t_{(18)}=7.05$, $P=0.000059$; Figura 25).

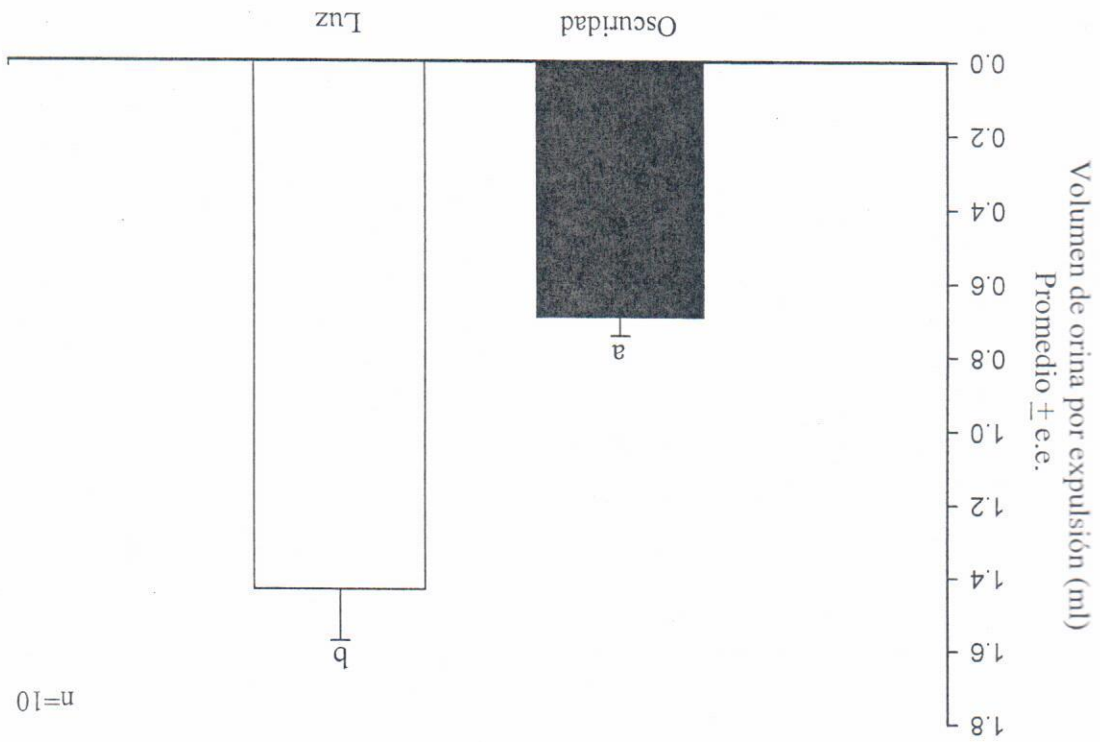
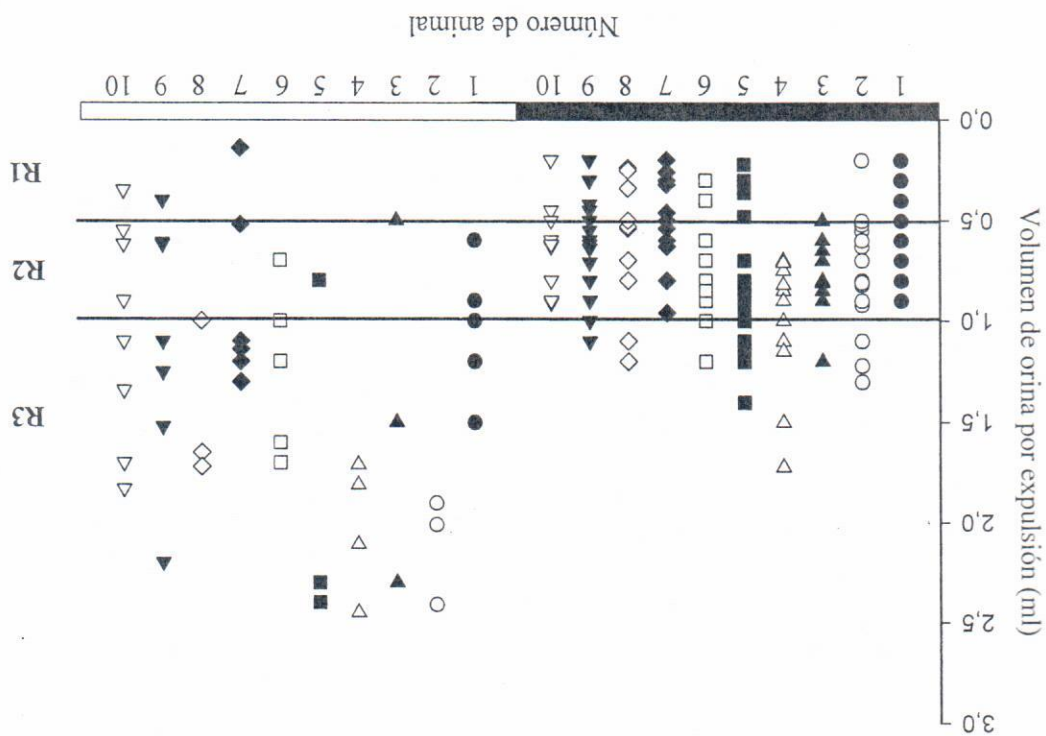


Figura 25. Volumen promedio de orina por expulsión en las fases de oscuridad y luz durante 24h de registro. Las ratas expulsaron menor cantidad de orina por expulsión en la fase de oscuridad que en la de luz. ($t_{(18)}=7.05$, $P=0.000059$).

Resultado importante mencionar que el volumen de orina por expulsión varió en el mismo individuo y entre individuos, teniendo amplios rangos desde 0.1 ml hasta 2.5 ml (Figura 26). Por ello, para determinar el volumen de orina más frecuente o representativo de este parámetro, esta variable fue analizada en tres rangos de volumen; $R1=0.1$ a 0.5 ml, $R2=0.51$ a 0.99 ml, $R3 \geq 1$ ml de orina (Figura 26).

La prueba estadística de Friedman mostró que el número de expulsiones de orina varió entre los rangos ($\chi^2_{r,0.05(6)10}=34.59, P<0.0001$; Figura 27), presentándose con mayor frecuencia (54.42%) el R2 de la fase de oscuridad (R2 oscuridad vs R3 oscuridad, R1 y R2 de luz, $P<0.05, P<0.001$ y $P<0.001$, respectivamente). Al considerar el número de expulsiones de cada fase como 100% (151 expulsiones en oscuridad y 51 en la luz), encontramos que en la fase de oscuridad, el 54% de las expulsiones fueron de tipo R2, con un volumen de orina promedio de 0.73 ml. El 30% de las expulsiones fueron de tipo R1 con un volumen de orina promedio de 0.38 ml y el 16% de tipo R3 con un volumen de orina promedio de 1.16 ml. En contraste, en la fase de luz la mayor proporción de expulsiones de orina fueron tipo R3 (77.38%) con un volumen de orina promedio de 1.64 ml (Figura 27).

Figura 26. Volumen de orina por expulsión en diez animales observados durante 24h. La barra inferior negra y blanca indica la fase de oscuridad y luz, respectivamente. Note que el volumen de orina por expulsión varió en el mismo animal y entre animales. Se indica la amplitud de los rangos de volumen.



Por otra parte, la distribución de los rangos de volumen a lo largo de cada fase fue descrita por tercios. En la figura 28 puede observarse que en la fase de oscuridad el porcentaje promedio de expulsiones de orina por rango de volumen mantuvo el mismo patrón de distribución en los tres tercios. Es decir, los porcentajes de R1 y R2 no variaron, mientras que el porcentaje de R3 fue menor. Aunque los tres rangos estuvieron presentes en los tres tercios. En la figura 28 también se muestra que, con excepción del R3, el porcentaje de R1 y R2 tiende a incrementarse conforme avanza la fase de oscuridad. En la fase de luz, el patrón de distribución de los rangos de volumen de orina también fue estable en los tres tercios. Esto es, los porcentajes R1 y R2 fueron similares, mientras que el porcentaje del R3 fue mayor. En la

Figura 27. Porcentaje promedio de expulsiones por rango de volumen en las fases de oscuridad y luz en 24h. Los porcentajes se calcularon con respecto a 12h. La barra inferior negra y blanca indica la fase de oscuridad y luz, respectivamente. En la fase de oscuridad, el número de expulsiones pertenecientes al tipo R2 fueron más frecuentes. Mientras que en la fase de luz fueron las de volúmenes tipo R3.

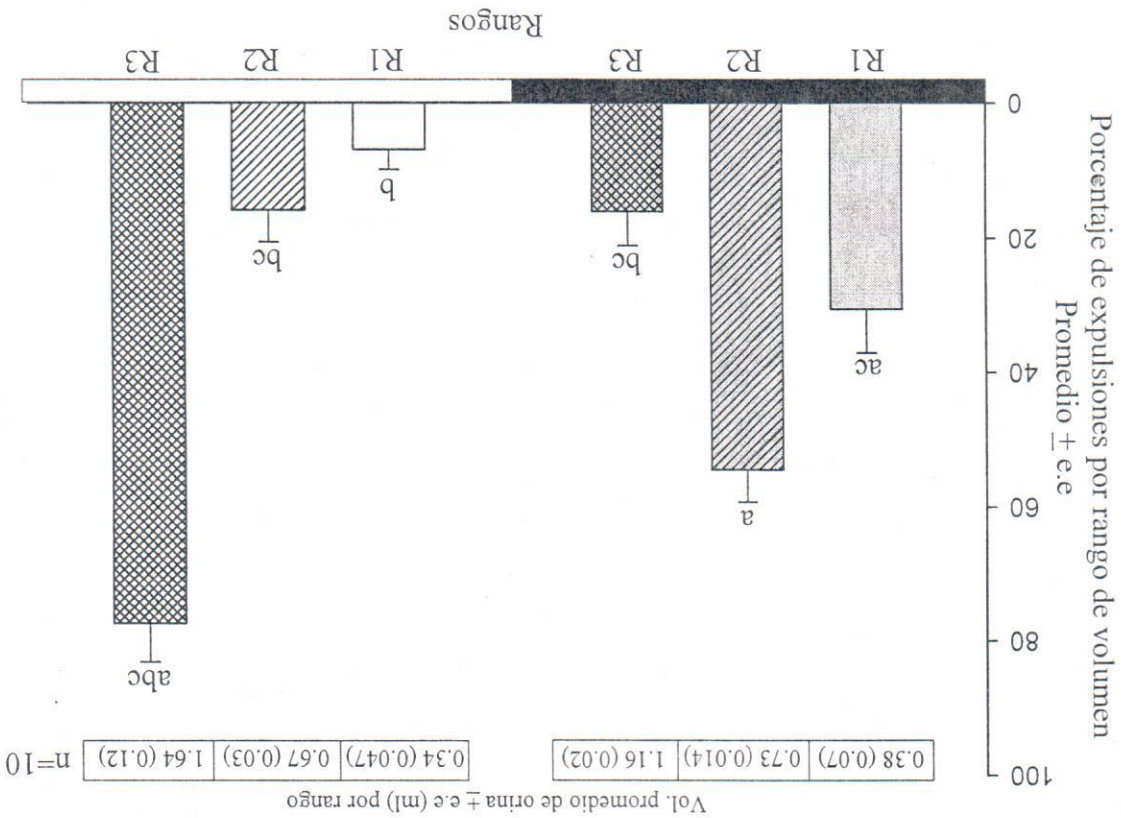
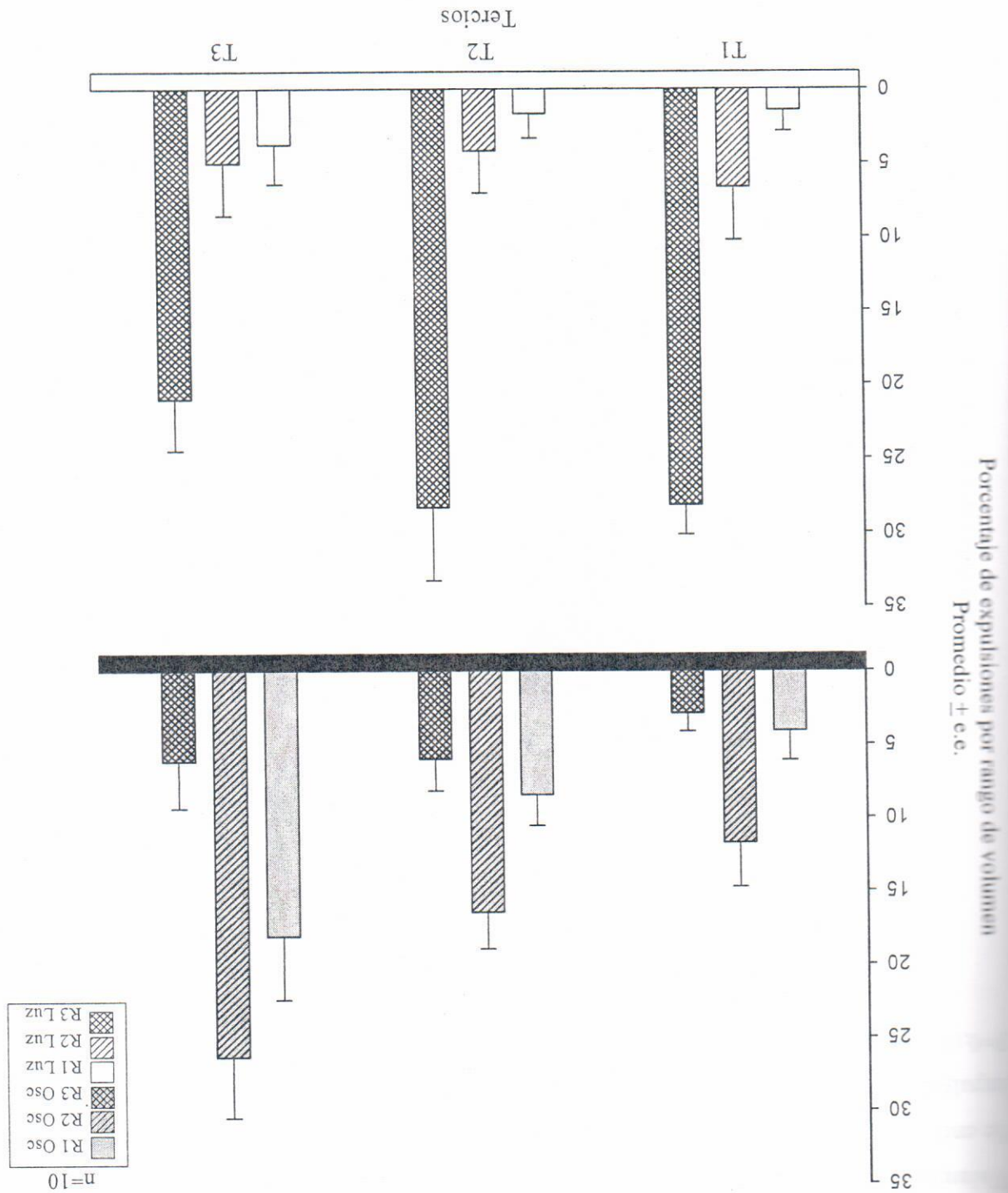


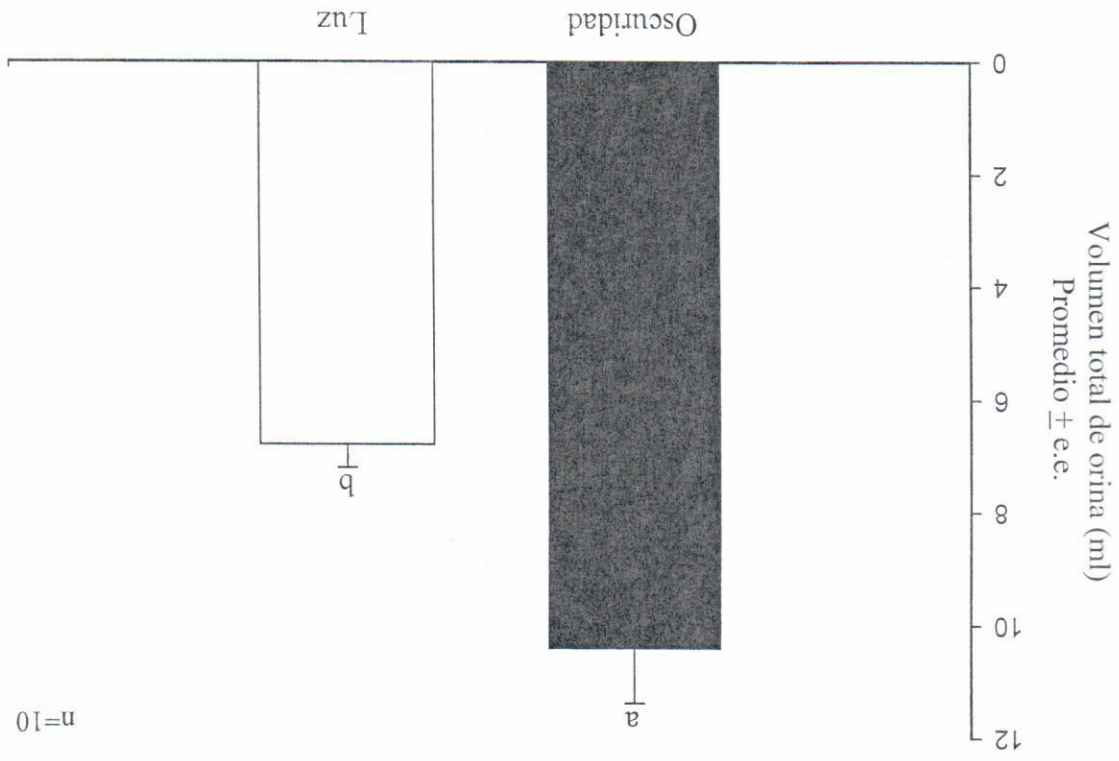
Figura 28 se muestra que a diferencia de lo que ocurrió en la fase de oscuridad, en la fase de luz los valores de los tres rangos de volumen se mantuvieron similares en los tres tercios. En resumen, en los tres tercios de la fase de oscuridad, la mayoría de las expulsiones de orina fueron de volumen intermedio, mientras que en los tres tercios de la fase de luz fueron volúmenes grandes.

Figura 28. Porcentaje de expulsiones por rango de volumen en los tres tercios de las fases de oscuridad y luz durante 24h de registro. La barra inferior negra indica la fase de oscuridad y luz, respectivamente. El porcentaje se obtuvo con respecto a 12h. R1=0.01-0.5, R2=0.51-0.99 y R3= ≥ 1 ml.



Volumen total de orina

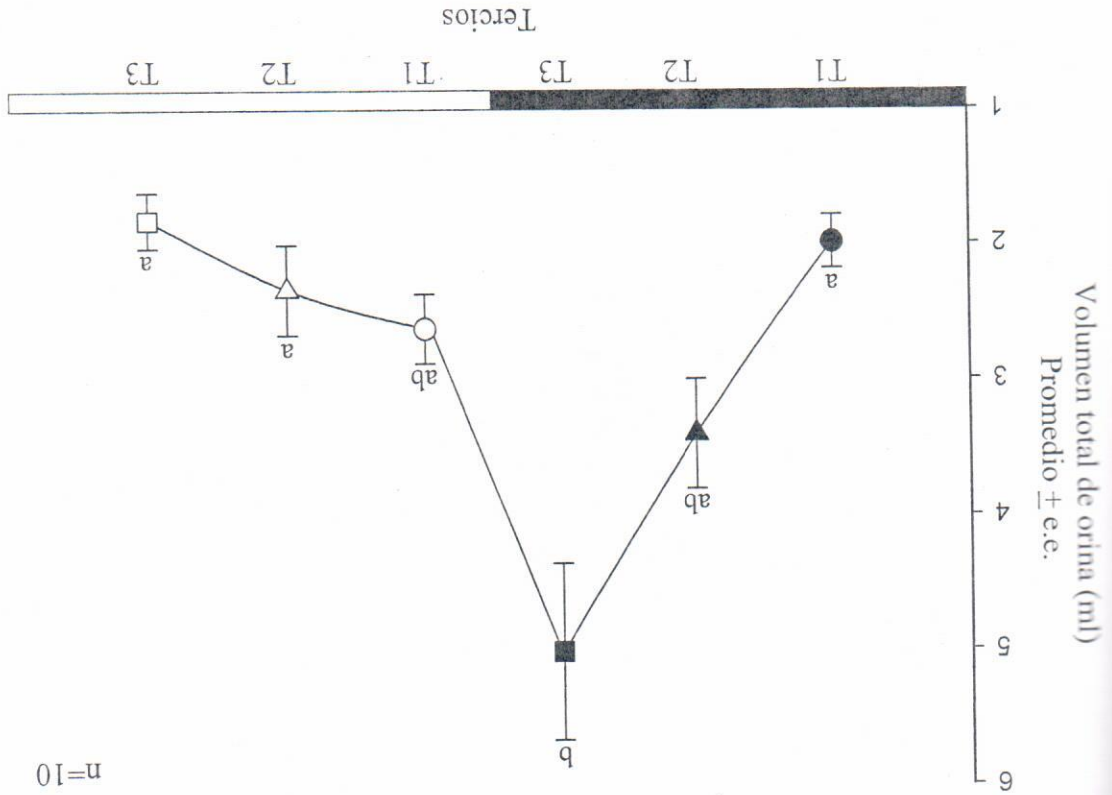
Se encontró que el volumen total de orina en la fase de oscuridad fue 34.74% mayor que lo expulsado en la fase de luz (10.39 ± 0.97 ml vs 6.78 ± 0.41 ml, respectivamente; $t_{0.05(2)9}=4$, $P=0.003$; Figura 29).



n=10

Figura 29. Volumen total de orina en las fases de oscuridad y luz durante 24h de registro. Las ratas expulsaron mayor cantidad de orina en la fase de oscuridad que en la luz ($t_{0.05(2)9}=4$, $P=0.003$).

Figura 30. Volumen total de orina en los tercios de la fase de oscuridad y luz en 24h de registro. La barra inferior negra y blanca representa la fase de oscuridad y luz, respectivamente. En contraste a la fase de luz, las ratas expulsaron mayor cantidad de orina en las últimas horas de la fase de oscuridad que en las primeras horas.



También se encontró que el volumen total de orina se distribuyó asimétricamente entre los tercios de la fase de oscuridad, pero no en la de luz ($\chi^2_{1, 0.05(6)}=24.34, P<0.0002$; Figura 30). En la fase de oscuridad, el volumen de orina expulsado en el tercer tercio fue mayor que la expulsada en los otros tercios (T3 oscuridad vs T1 oscuridad, T2 y T3 de luz, en los tres casos, $P<0.01$).

Duración de expulsión de orina

La duración de la expulsión de orina fue 42.28% mayor en la fase de luz que en la oscuridad (5.25±0.31 seg vs 3.03±0.16 seg, respectivamente; $t_{0.05(27)}=-7.08$, $P=0.000197$; Figura 31).

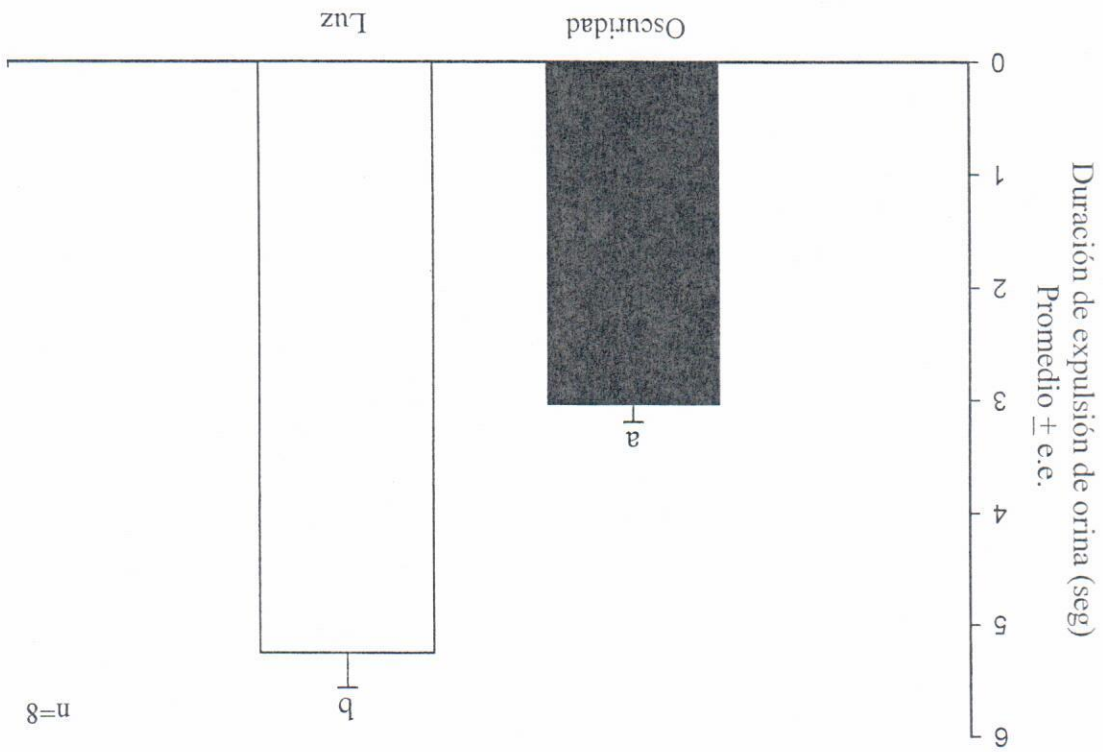


Figura 31. Duración de expulsión de orina en las fases de oscuridad y luz en 24h de registro. El tiempo de expulsión de orina fue mayor en la fase de luz que en la oscuridad ($t_{0.05(27)}=-7.08$, $P=0.000197$).

Ingesta de agua
 La cantidad de agua ingerida varió significativamente entre las fases de oscuridad y luz (56.02 ± 3.08 ml vs 7.32 ± 1.23 ml; $t_{0.05(2)}=14.33$, $P=0.001$; Figura 32). En la fase de oscuridad las ratas consumieron mayor cantidad de agua (87% del agua ingerida en 24h) que en la fase de luz.

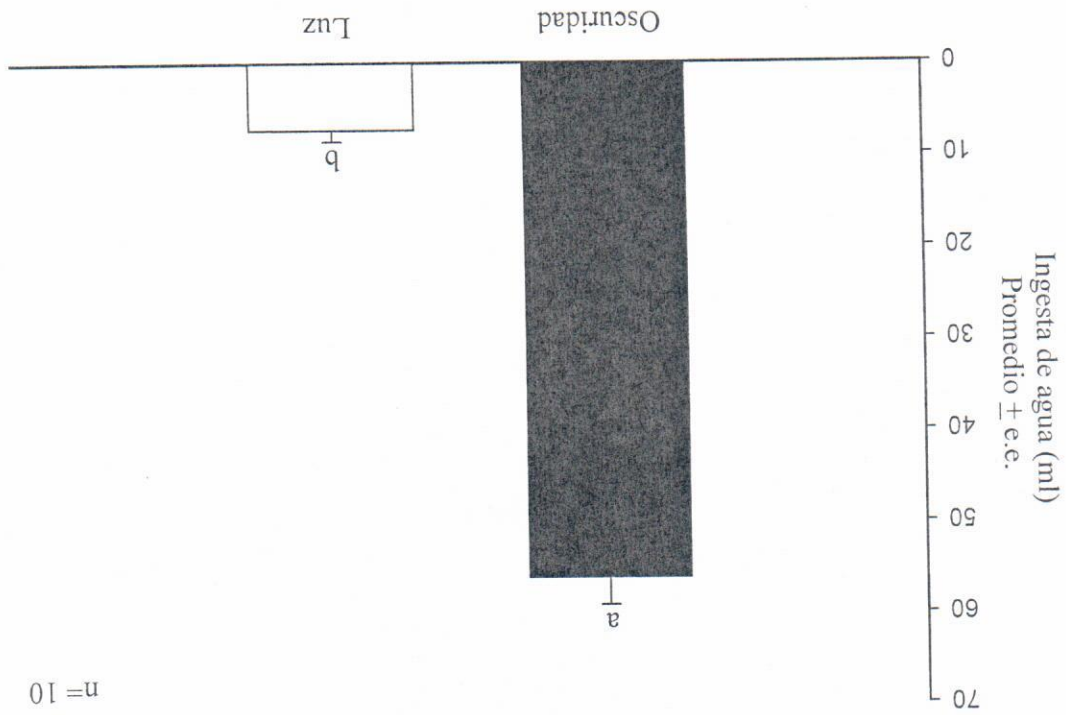
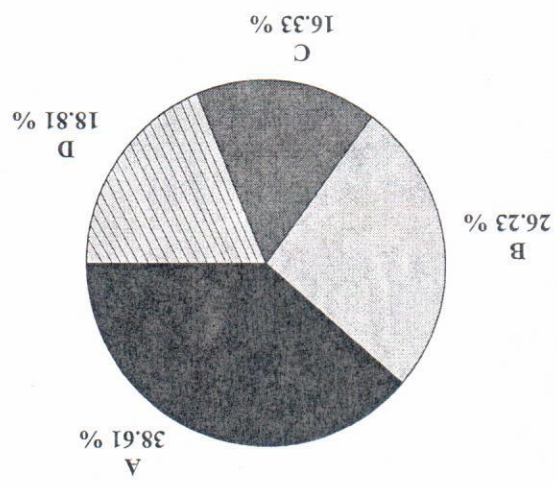


Figura 32. Ingesta de agua en las fases de oscuridad y luz en 24h de registro. Note que en la fase de oscuridad las ratas consumieron mayor cantidad de agua ($t_{0.05(2)}=14.33$, $P=0.001$).

También se determinó si el número de expulsiones en los cuadrantes difería entre las fases de oscuridad y de luz. Se encontró que en la fase de oscuridad el porcentaje de las expulsiones de orina en los cuatro cuadrantes no varió estadísticamente ($\chi^2_{r, 0.05(4)10}=0.74$, $P=0.86$). En cambio, en la fase de luz el porcentaje del número de expulsiones en el cuadrante A fue mayor al de los cuadrantes C y D ($\chi^2_{r, 0.05(4)10}=18.66$, $P=0.0003$; $P<0.001$ y $P<0.05$, respectivamente. A vs B $P>0.05$, Figura 34). En la tabla 7 se muestran los datos de deposición de orina por animal en ambas fases del ciclo oscuridad-luz. Note que durante la fase de luz la mayoría de los individuos no depositaron la orina en los cuadrantes C y/o D, mismos que si utilizaron para la expulsión de orina en la fase de oscuridad.

Figura 33. Porcentaje de expulsiones de orina por cuadrante.



El análisis descriptivo mostró que las ratas depositaron la orina en los cuatro cuadrantes. De las 202 expulsiones de orina, 78 fueron en A, 53 en B, 33 en C y 38 en D (Figura 33).

9.3.2 Sitios para la deposición de orina

Cuadrante	Fase										Total	
	Oscuridad					Luz						
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
1	4	4	6	6	2	2	2	2	1	1	1	1
2	9	3	5	4	1	3	1	1	2	2	1	2
3	4	3	5	3	3	1	1	1	1	1	1	1
4	1	2	3	6	1	1	2	2	2	2	1	1
5	7	5	4	2	2	2	1	1	1	1	1	1
6	5	4	1	1	5	5	1	1	2	2	1	1
7	2	4	3	3	3	3	2	2	2	2	1	1
8	8	6	6	2	2	2	1	1	1	1	1	1
9	2	5	3	7	7	7	7	5	5	5	2	1
10	5	2	2	2	2	5	2	2	2	2	1	1
Total	47	41	32	31	31	31	12	1	7	7	7	7

Tabla 7. Número de expulsiones de orina por cuadrante en las fases de oscuridad y luz.

Figura 34. Porcentaje de expulsiones de orina por cuadrante en la fase de oscuridad y luz en 24h de registro. En la fase de oscuridad las ratas depositaron la orina en los cuadrantes (A) $\chi^2_{(4)}=0.74$, $P=0.86$, mientras que en la fase de luz, orinaron principalmente en el cuadrante A ($\chi^2_{(4)}=18.66$, $P=0.0003$; A vs C y D, $P<0.001$ y $P<0.05$, respectivamente. A vs B $P>0.05$).

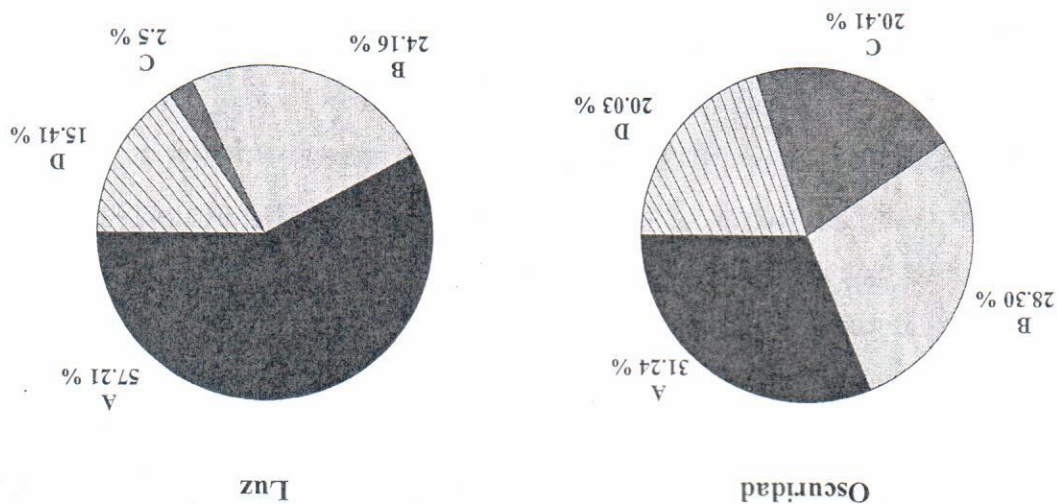
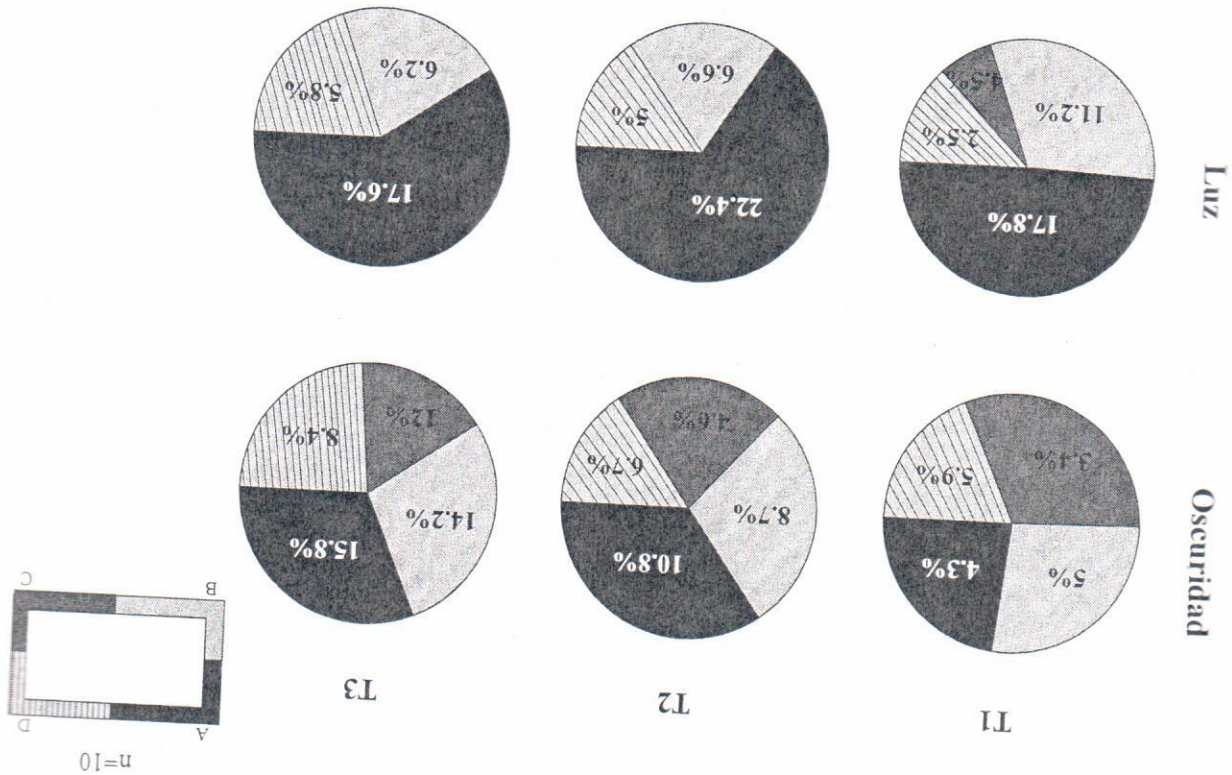


Figura 35. Porcentaje de expulsiones de orina por cuadrante en los tercios de las fases de oscuridad y luz durante 24h. El porcentaje se obtuvo con respecto a 12h. T1, T2 y T3 representan los tres tercios de cada fase. Los resultados de las pruebas pos-hoc no se muestran.

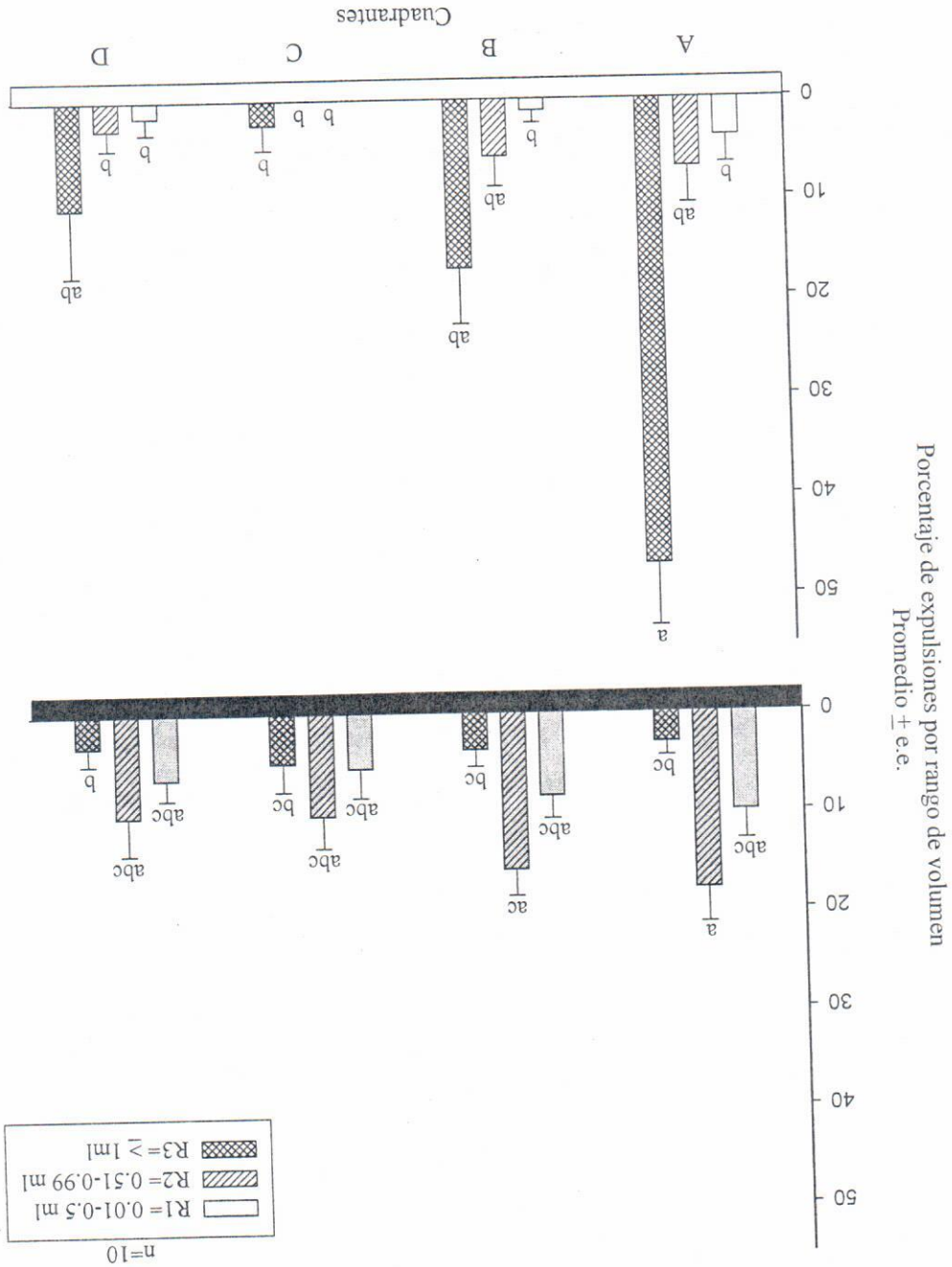


Al analizar la deposición de orina en los cuadrantes por cada tercio se encontró que el patrón observado en cada tercio de la fase de oscuridad (Figura 34) y no hubo variación significativa entre los porcentajes de los cuatro cuadrantes. Sin embargo, comparando los valores de cada cuadrante entre los tercios se determinó que el porcentaje de las expulsiones en el cuadrante A de T3 fue mayor al de T1 ($\chi^2_{(12)}=28.65, P=0.0026; P<0.05$). A diferencia de la fase de oscuridad, en la fase de luz los porcentajes de expulsiones de orina de los cuadrantes variaron en los tercios ($\chi^2_{(12)}=37.06, P=0.0001$), especialmente en el segundo y tercer tercio. Esto es, el porcentaje de las expulsiones de orina en el cuadrante A fue estadísticamente mayor que el del cuadrante C ($P<0.05$).

También fue analizado el número de expulsiones de orina por rango de volumen con respecto a los cuadrantes. Se encontró que en la fase de oscuridad, en los cuatro cuadrantes se expulsaron volúmenes de orina pequeños (R1), intermedios (R2) y grandes (R3) (Figura 36). El porcentaje de expulsiones de orina varió entre los rangos de volumen ($\chi^2_{r 0.05(12)10}=27.06$, $P=0.0046$), siendo mayor el porcentaje de R2 en el cuadrante A ($P>0.05$). En la fase de luz, el porcentaje de rangos de volumen de orina en los cuatro cuadrantes también varió ($\chi^2_{r 0.05(12)10}=50.68$, $P<0.0001$), siendo mayor el porcentaje del R3 en el cuadrante A ($P<0.05$).

R3.

Figura 36. Porcentaje de expulsiones por rango de volumen en los cuatro cuadrantes en las fases de oscuridad y luz. La barra inferior blanca indica la fase de oscuridad y luz, en los respectivos. El porcentaje se obtuvo con respecto a 12h. En la fase de oscuridad, en los cuatro cuadrantes se depositaron expulsiones de los tres rangos de volumen. Mientras que en la fase de luz, en el cuadrante A se depositaron mayor número de expulsiones de volúmenes



9.3.3 Postura de expulsión de orina

Para describir las posturas durante la expulsión de orina se analizaron nueve expulsiones de orina por animal, seis en la fase de oscuridad (dos por cada tercio) y tres en la de luz. Dado que en la fase de luz no fue posible determinar esta conducta en un animal, sólo se analizaron 87 expulsiones de orina (60 en la fase de oscuridad y 27 en la de luz). Se observó que durante la expulsión de orina las ratas adoptaron dos posturas (Figura 37).

Postura 1

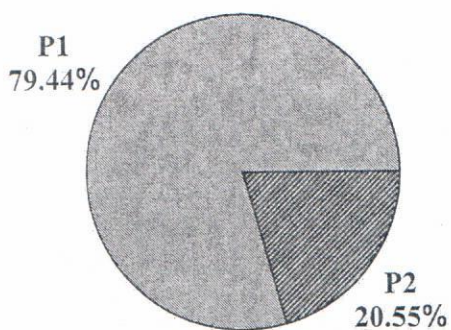
La rata colocó la grupa hacia la pared de la caja. Las extremidades delanteras y traseras fueron extendidas y elevada la grupa. Al elevarse la cola, ésta adquirió forma de letra C invertida, o de letra S. En algunos casos la cola sólo fue elevada ligeramente. La mayoría de las veces (aproximadamente 80%) la rata se quedó completamente inmóvil mientras expulsaba la orina. Algunas ratas movieron la cabeza hacia los lados. La postura 1 se presentó en el 79% de las expulsiones de orina (Figura 37. P1). El grado de extensión de las extremidades traseras varió con el grado de elevación de la grupa. Así, en algunos animales (6 de 10) la elevación de la cola, grupa y testículos fue marcada (28.57% de las expulsiones, Figura 37. P1*).

Postura 2

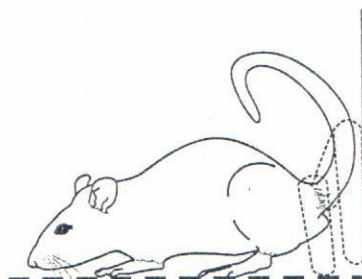
La rata colocó la grupa en dirección a la pared de la caja pero no extendió las patas delanteras ni las traseras. Los testículos y la cola permanecieron sobre la malla. La rata permaneció inmóvil mientras expulsó la orina. Esta postura se presentó en el 21% de las expulsiones (Figura 37. P2).

Estas posturas variaron con respecto a la colocación de la cola, la extensión de las patas delanteras y traseras y la elevación de la grupa. La elevación de la cola y grupa fueron una característica consistente en la expulsión de orina.

Posturas



P1



P1*



P2

Figura 37. Tipos de posturas adoptadas durante la expulsión de orina de la rata macho. En el lado derecho de la figura se muestran las dos posturas (P1 y P2) que adoptaron las ratas durante la expulsión de orina. Se muestra la P1 y una variación de ésta indicada por un asterisco (P1*). En la P1 y P1* la cola puede colocarse en diferentes formas (líneas punteadas). La línea vertical indica la pared de la caja y la transversal la malla sobre la que se encuentra el animal. En el lado izquierdo de la figura se muestra la frecuencia de cada una de las posturas, expresada en porcentaje.

Posteriormente, se determinó la frecuencia con que las ratas ejecutaron los tipos de postura en las fases de oscuridad y luz (Figura 38). En la fase de oscuridad, las ratas adoptaron principalmente la postura 1 ($W_{0.05(2)10}=2.66$, $P=0.007$), mientras que en la fase de luz, no hubo diferencias significativas en la frecuencia de ambas posturas ($W_{0.05(2)10}=1.83$, $P=0.06$).

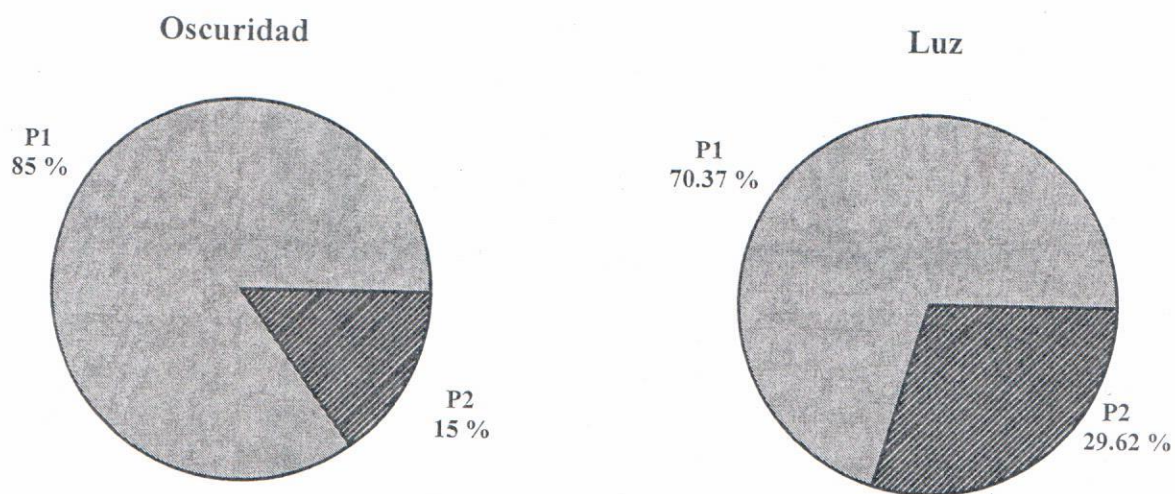


Figura 38. Porcentaje de ocurrencia de las posturas de expulsión de orina en las fases de oscuridad y luz. Note que en la fase de oscuridad, las ratas ejecutaron con mayor frecuencia la postura 1. Sin embargo, en la fase de luz el porcentaje de esta postura se redujo.

También fue analizada la frecuencia de las posturas de expulsión de orina en los tercios de la fase de oscuridad y luz. Se encontró que en los últimos dos tercios de fase de oscuridad, la postura 1 se presentó con mayor frecuencia que la postura 2 ($\chi^2_{r 0.05(6)9}=36.80$, $P=0.0001$, en ambos casos $P<0.05$; Figura 39). Este patrón de frecuencia de las posturas de expulsión de orina también se presentó en el primer tercio de la fase de luz ($\chi^2_{r 0.05(6)9}=11.1$, $P=0.04$, $P<0.05$), pero no en los otros dos tercios (Figura 39). Estos resultados sugieren que una vez que la rata está en su fase de descanso (luz) y se despierta para orinar, es más probable que adopte la postura 2 que cuando está activa,

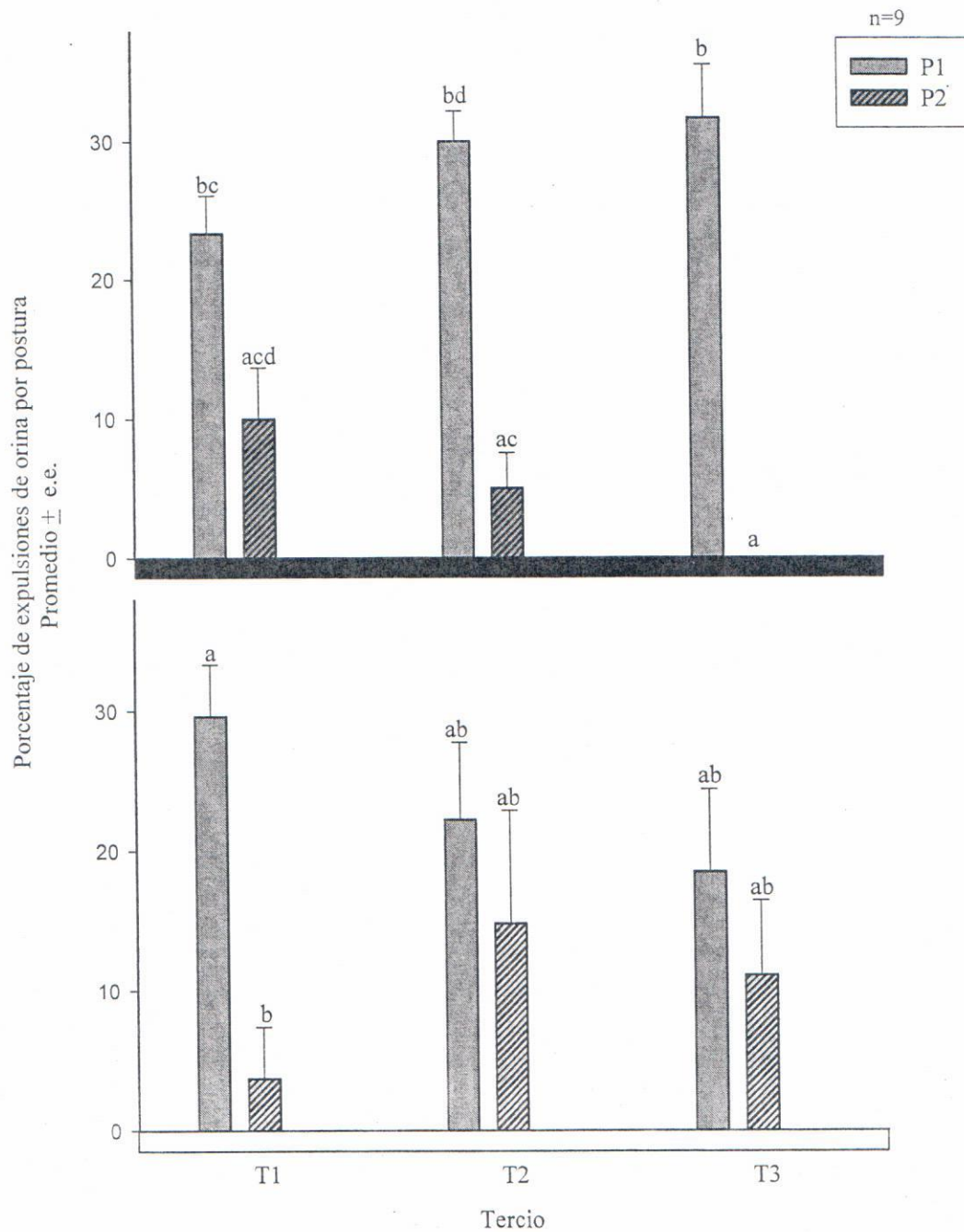


Figura 39. Porcentaje de expulsiones de orina por postura en los tres tercios de las fases de oscuridad y luz. La barra inferior negra y blanca representa la fase de oscuridad y luz, respectivamente. El porcentaje se obtuvo con respecto a 12h. En los últimos dos tercios de la fase de la fase de oscuridad, la postura 1 fue desplegada con mayor frecuencia para expulsar la orina. En contraste, solo en el primer tercio de la fase de luz la postura 1 fue desplegada con mayor frecuencia.

Finalmente, se determinó si las posturas de expulsión de orina estaban relacionadas con algún rango de volumen de orina (R1=0.01-0.5 ml, R2=0.51-0.99 ml, R3= \geq 1ml). Se encontró que en una misma postura, en ambas fases, no había variación significativa en el porcentaje de expulsiones de orina de los tres rangos de volumen (Oscuridad; $\chi^2_{r 0.05(6)9}=24.96$, P=0.0001; Luz $\chi^2_{r 0.05(6)9}=22.55$, P=0.0044). Esto indica que independientemente de la postura adoptada, las ratas expulsaron volúmenes variables de orina, cuyo valor promedio se muestra en la tabla 8.

Tabla 8. Volumen promedio de orina (ml) \pm e.e. expulsado en las dos posturas

Postura	Fase	
	Oscuridad	Luz
P1	0.72 \pm 0.06	1.32 \pm 0.18
P2	0.70 \pm 0.08	1.57 \pm 0.24

9.4 Discusión

El análisis del grupo 2 nos permitió cumplir con el segundo objetivo específico. En este grupo de animales se describieron los parámetros urinarios y los sitios de deposición de orina durante las fases del ciclo oscuridad-luz en una caja de acrílico con dimensiones inferiores a las del grupo 1. Asimismo, con la utilización de una caja de acrílico chica fue posible determinar un parámetro urinario no valorado en el grupo 1, la duración de la expulsión de orina y las posturas que los animales adoptaban durante la expulsión de la misma.

A pesar de que los animales estuvieron en una caja con medidas inferiores a las del primer grupo de animales, los parámetros urinarios y los sitios para la deposición de orina fueron consistentes a lo encontrado en el primer grupo (Tabla 9). Por lo que se realizó una discusión general del trabajo.

Tabla 9. Parámetros urinarios registrados durante 4 días continuos (Grupo1) y 24h (Grupo2).

Fase Parámetro	Grupo1 (n=5)		Grupo 2 (n=10)	
	Oscuridad	Luz	Oscuridad	Luz
Frecuencia de expulsión de orina	12.06 ± 2.22	5.4 ± 0.87	15.1 ± 1.14	5.1 ± 0.54
Intervalo entre las expulsiones de orina (min)	68.85 ± 8.20	143.77 ± 16.5	47.5 ± 3.6	157.8 ± 17.30
Volumen de orina por expulsión (ml)	0.96 ± 0.08	1.38 ± 0.11	0.69 ± 0.05	1.43 ± 0.14
Volumen total de orina (ml)	11.08 ± 1.36	7.14 ± 0.85	10.39 ± 0.97	6.78 ± 0.41
Duración de la expulsión de orina (seg)			3.03 ± 0.16	5.25 ± 0.31
Ingesta de agua (ml)	48.96 ± 3.43	13.25 ± 1.15	56.02 ± 3.08	7.32 ± 1.23

Se muestran valores promedio ± e.e.

10. DISCUSIÓN GENERAL

En el presente estudio se caracterizaron los parámetros urinarios y la conducta de expulsión de orina de la rata macho. Éste es el primer estudio en el que se analizan sistemáticamente las características de la micción en ratas macho considerando las fases del ciclo oscuridad-luz, los sitios de deposición de orina y las posturas adoptadas durante la expulsión de la misma. Es importante mencionar que se implementó un sistema de registro conductual en el que a pesar de que se modificaron algunas características del piso de la caja, la estructura básica de ésta fue similar a aquéllas donde crecieron las ratas, además de que tuvieron agua y alimento *ad libitum*. Esto con el fin de registrar el proceso normal de la micción sin la influencia de factores tales como el ambiente novedoso, poco espacio disponible, restricción de alimento y/o ingesta forzada de agua. Factores que no pueden ser eliminados cuando se utiliza la caja metabólica (Zoo Lee y cols. 1998; Gil y cols. 1999; Schmidt y cols. 2001; Yoshimura y cols. 2000; Gómez Sánchez y Gómez Sánchez 1991 citados en Eriksson y cols. 2004; Morizane y cols. 2005). Cabe señalar que la valoración del volumen de orina por expulsión fue más precisa que la obtenida en la caja metabólica, ya que se realizó un análisis directo en el que el evaluador midió cada volumen de orina inmediatamente después de ser expulsada por el animal, con lo que se evitó la pérdida por evaporación. La efectividad del sistema de registro se confirmó con la consistencia de los resultados obtenidos en los dos grupos de animales registrados (Tabla 9). La variación estadística no significativa de los valores de los parámetros urinarios registrados del día 1 al día 4 de registro confirmó que el patrón de los parámetros urinarios es consistente y no fue influida por el posible estrés que los animales pudieron haber sufrido al ser trasladados a un ambiente nuevo y/o a la presencia esporádica del observador. Cabe mencionar que hubo consistencia tanto en los parámetros urinarios como en los sitios de deposición de orina a pesar de que se utilizaron dos tipos de cajas, grandes (grupo 1) y chicas (grupo2), durante los registros. Esto metodológicamente resulta importante, ya que pueden utilizarse ambas cajas asegurándose que el espacio disponible para las ratas no afecta los parámetros urinarios ni la conducta de expulsión de orina.

Los resultados de los parámetros urinarios apoyaron nuestra primera hipótesis, ya que variaron de acuerdo a las fases del ciclo oscuridad-luz. La frecuencia de expulsión de orina y el volumen total de orina fueron mayor en la fase de oscuridad que en la de luz y en

consecuencia el intervalo entre las expulsiones de orina, el volumen de orina por expulsión y la duración de la expulsión de orina fueron menor en la fase de oscuridad. Cabe destacar que la frecuencia de expulsión de orina aumentó conforme transcurrió la fase de actividad (oscuridad). Este hallazgo es congruente con lo encontrado en la rata (Schmidt y cols. 2001) y en el mono *Saimiri sciureus* (Moore-Ede y Herd 1977).

Otro hallazgo fue que el volumen de orina por expulsión, además de presentar variación entre las fases del ciclo oscuridad-luz, varió ampliamente en el mismo individuo (Figuras 14 y 26). Esta variación individual no había sido descrita en la rata. Generalmente, en la literatura se presentan valores promedio para este parámetro (Chun y cols. 1990; Chai y cols. 2000; Morizane y cols. 2005). La relación del volumen de orina de cada expulsión con la duración de la expulsión permitió medir de manera indirecta la velocidad del flujo de orina, sugiriendo que es de alrededor de 0.24 ± 0.01 ml/seg en la fase de oscuridad y de 0.28 ± 0.02 ml/seg en la de luz. En los humanos, el índice de flujo urinario es un criterio importante para detectar la obstrucción urinaria y decidir el procedimiento médico y la intervención quirúrgica que se requiere para tratar dicho padecimiento (Ünsal y Çimentepe 2004b).

El análisis de los parámetros urinarios es importante porque estos aportan información sobre el almacenamiento y el vaciamiento vesical así como de la producción de orina. El intervalo interexpulsión y la frecuencia de expulsión de orina indican los periodos de almacenamiento y vaciamiento vesical. Estos dos parámetros y el volumen total de orina son indicadores de la producción de orina (Schmidt y cols. 2001). Se ha descrito que con el volumen de orina por expulsión se pueden hacer inferencias sobre el volumen umbral de orina y la capacidad vesical (Van Hoeck y cols. 2007). De acuerdo con nuestros resultados, la fase de almacenamiento y vaciamiento vesical, la producción de orina y la capacidad vesical varían a lo largo del ciclo de oscuridad-luz. Al transcurrir la fase de actividad de las ratas, la duración de la fase de almacenamiento vesical fue decreciendo, por lo que aumentó la frecuencia de la fase de vaciamiento vesical, propiciando que los volúmenes de orina expulsados en cada ocasión fueran menores a los registrados en la fase de descanso (luz). En contraste, en la fase de descanso de los animales aumentó la duración de la fase de almacenamiento vesical y disminuyó la frecuencia de vaciamiento. Esto podría explicar el hecho de en esta fase los volúmenes de orina por

expulsión fueran de mayor volumen. Lo cual requirió de un mayor tiempo de expulsión de orina. Con esto puede observarse que la duración de las fases de almacenamiento y de vaciamiento vesical no sólo presenta variación entre las fases de actividad y de descanso (oscuridad-luz) sino que también a lo largo de la fase de actividad. El incremento en el volumen total de orina sugiere que la producción de orina aumentó a lo largo de la fase de oscuridad. Dicho comportamiento es semejante al de la frecuencia de expulsión de orina en los humanos. Este parámetro y la producción de orina se correlacionan positivamente entre sí (Nakamura y cols. 1996). Por otra parte, el mayor volumen máximo de orina por expulsión en la fase de luz indica que la vejiga urinaria puede almacenar casi 80% más de orina de lo que almacena en la fase de oscuridad (Figura 26). En la literatura se menciona que las contracciones vesicales ocurren cuando la vejiga urinaria alcanza un volumen umbral de llenado, lo que desencadena la expulsión de orina (Guyton y Hall 2000). Sin embargo, la gran variabilidad en el volumen de orina por expulsión (desde 0.25 hasta 2.4 ml) sugiere que no hay un volumen umbral fijo que desencadene la expulsión de orina. De ser así, los volúmenes de orina expulsados hubieran sido homogéneos. Es probable que el mecanismo que desencadena la expulsión de orina sea multifactorial y no solamente relacionado con el volumen umbral.

Las diferencias encontradas en los parámetros urinarios con respecto a la fase de oscuridad y de luz pueden ser debidas a que factores relacionados con el metabolismo del agua varían de acuerdo al ciclo oscuridad-luz. Así, la filtración glomerular (Koopman y cols. 1990) y la excreción de electrolitos como el sodio, potasio, cloro y urea (derivado de proteínas) (Mills y Stanbury 1952 citados en Conroy y Mills 1970) se incrementan durante la fase de actividad (Koopman y cols. 1990; Mills y Stanbury 1952 citados en Conroy y Mills 1970). Ya sea que estos factores sean o no una consecuencia del incremento en la ingesta de agua, explicarían el aumento en la frecuencia de expulsión de orina en la fase de oscuridad.

En el presente trabajo mostramos que las ratas presentan sitios específicos para depositar la orina y que además despliegan posturas estereotipadas durante este proceso. Dichos resultados apoyan la segunda hipótesis propuesta. En la fase de oscuridad la ratas depositaron la orina cerca de las paredes de la caja de los cuatro cuadrantes, mientras que en la fase de luz lo hicieron principalmente cerca de la paredes de cuadrante A. La

explicación del por qué las ratas macho prefirieron depositar la orina cerca de las paredes de la caja no es clara. Es poco probable que dicha preferencia se deba a que las ratas utilizaran exclusivamente la región cercana a las paredes para sus actividades, ya que de acuerdo con nuestras observaciones las ratas utilizaron tanto el área de la periferia como el interior de la caja de acrílico para descansar, comer y desplazarse. En el roedor degún común se ha descrito que la deposición de orina y de heces se lleva a acabo alrededor de su territorio (Ebensperger y Bozinovic 2000 citados en Chávez y cols. 2003). En el coyote, la frecuencia de expulsión de orina es mayor cerca de la periferia de su territorio que en el interior del mismo (Gese y Ruff 1997 citados en Wirant y McGuire 2004).

Aunque en la fase de oscuridad las ratas depositaron la orina en los cuatro cuadrantes, hubo una tendencia a utilizar con mayor frecuencia los cuadrantes A y D. Estos estaban cerca de una de las paredes del cuarto donde se hicieron los registros. Probablemente, esa tendencia se deba a esa proximidad. Por lo que en futuros trabajos se puede emplear un cuarto de registro más grande. La explicación del por qué sólo en la fase de luz muestran una preferencia por el cuadrante A (debajo del comedero) tampoco es clara. Probablemente, dicha preferencia esté relacionada con el hecho de que los animales en la fase de luz duermen principalmente en el cuadrante A. Éste se localiza debajo de la depresión de la reja donde se coloca el alimento, por lo que la distancia entre la depresión y el piso de la caja es menor que la de los cuadrantes C y D. Quizás dichas características influyen en que la rata considere a esa región como nido.

Con respecto a las dos posturas características para la expulsión de la orina, no es sorprendente que la rata ejecute patrones motores estereotipados durante dicho proceso, ya que otros animales como perros (Pal 2003), gatos (Seksell 2000; Neilson 2004) y conejos (Bell 1985) también presentan diversas posturas estereotipadas durante la expulsión de orina. Encontramos que independientemente de la postura desplegada por la rata para expulsar la orina, ésta era dirigida al suelo y en forma intermitente, por lo que se formaba una sola gota de orina de tamaño variable. En contraste, en otras especies como el gato y el conejo, además de presentar varias posturas, la orina puede ser dirigida hacia el piso o hacia superficies verticales y ser expulsada en chorro o en rocío con volúmenes de orina variables (Bell 1985; Seksell 2000; Neilson 2004).

De las posturas descritas en el presente trabajo solo la postura 2 tiende a ser más frecuente en la fase de luz. La frecuencia de la postura 1 es semejante en ambas fases. Ambas posturas no estuvieron relacionadas con los sitios de deposición de orina ni con la cantidad de orina evacuada. En el caso de la conducta de marcaje con orina de la rata, ésta ha sido relacionada con la expulsión de pequeñas gotas de orina (Price 1975). En otras especies, este tipo de relaciones entre la conducta y otros factores no se han analizado. En animales como el perro (Pal 2003), el conejo (Bell 1985), el gato (Seksel 2000; Neilson 2004) y el ratón (Price 1975) solo se menciona que en determinada postura se expulsan grandes o pequeñas cantidades de orina. Con los resultados del presente trabajo ahora se conocen los sitios y los volúmenes de orina que no están asociados a las posturas de expulsión de orina. Lo cual será útil para el estudio conductual del proceso de micción y del marcaje con orina en la rata.

El por qué las ratas u otros animales presentan diferentes posturas para la expulsión de orina es desconocido. Se ha sugerido que entre la diversidad de posturas que presentan los animales para expulsar la orina realizan una con mayor frecuencia como señal visual para identificar al sexo de los individuos, sin necesidad de enfrentamientos. El perro adulto puede ejecutar 5 posturas para la expulsión de orina pero despliega principalmente la elevación de la pata trasera y la perra que puede ejecutar 7 posturas realiza principalmente la de cuclillas (Beach 1974; Pal 2003; Wirant y McGuire 2004). En el caso de la rata se desconoce si la conducta de expulsión de orina es sexualmente dimórfica.

En perros descerebrados se ha encontrado que la distensión vesical induce una postura semejante a la que se presenta durante la defecación o micción en animales despiertos (Fukuda y Fukai 1986). Esto sugiere que la postura adoptada durante la expulsión de orina podría ser inducida por la activación de mecanoreceptores vesicales. Además, el hecho de que las ratas se desplazaran y acercaran la grupa a la pared de la caja cada vez que orinaron sugiere que estos animales perciben el llenado urinario, por lo que la conducta de expulsión de orina puede servir como indicador de la función vesical, principalmente del inicio del reflejo de micción. Lo anterior, sugiere que la postura de expulsión de orina podría tener una vía medular y otra controlada por centros superiores.

El patrón que siguieron los parámetros urinarios a lo largo del día en la rata fue semejante al descrito en el humano. En éste también se muestran diferencias en la

frecuencia de expulsión de orina dependiendo de la fase de actividad y descanso. Durante la fase de actividad, los hombres y mujeres expulsaron orina en 7 y 8 ocasiones, respectivamente. Mientras que en la fase de descanso la frecuencia de expulsión es de 0 a 1 (Harvey y cols. 2001; Huang y cols. 2005; Mueller y cols. 2005). En la mujer se ha mencionado que el volumen de orina por expulsión es mayor en la fase de descanso (316 ± 153 ml) que en la fase de actividad (207 ± 77 ml). De igual forma, el volumen total de orina es mayor en la fase de actividad (1247 ± 533 ml) que en la de descanso (387 ± 190 ml, Huang y cols. 2005). Recientemente, Van Hoeck y cols. (2007) describieron en niños de 6-12 años de edad que en la fase de actividad el volumen de orina por expulsión tiene un amplio rango, desde 10 ml hasta 550 ml. Estos autores sugieren que existen dos ritmos circadianos sincronizados con la fase de actividad y de descanso, uno para la producción de orina y otro para la inhibición de las contracciones vesicales durante la fase de descanso.

En el humano se ha propuesto que una de las explicaciones a las variaciones de los parámetros urinarios entre la fase de actividad y de descanso puede deberse a la variación en la concentración sanguínea de la hormona antidiurética o vasopresina (Moon y cols. 2004). Esta hormona, entre otros efectos, regula la permeabilidad al agua de los túbulos renales. En ausencia de la hormona los conductos son casi impermeables a dicho líquido (Tortora y Anagnostakos 1989). Durante la fase de descanso la hormona antidiurética se presenta en altas concentraciones (2 pg/ml) por lo que en este periodo hay una gran reabsorción de agua desde los tubulos renales hacia el torrente sanguíneo, dando lugar a una orina concentrada. En cambio, en la fase de actividad la concentración sanguínea de esta hormona decrementa (0.6 pg/ml), lo que origina una menor reabsorción de agua desde los tubulos renales hacia la sangre, produciéndose una orina diluida (Tortora y Anagnostakos 1989; Tomasi y cols. 2001). Esto explicaría, en parte, porque en la fase de descanso de la rata se encontró una menor cantidad de orina producida (menor volumen total de orina).

En el humano, tanto hombres como mujeres, la posición adoptada durante la expulsión de orina es influenciada por factores socio-culturales y médicos. En algunos países, es común que los hombres expulsen la orina sentados (Moore y cols. 1991). También, se ha descrito que cerca del 85% de las mujeres prefieren orinar semisentadas cuando usan baños públicos (Moore y cols. 1991). Algunos pacientes tienen que orinar

12. PERSPECTIVAS

1. Se podría analizar si el número de horas luz tiene efecto sobre los parámetros urinarios.
2. Sería interesante describir en la rata macho la ontogenia de la conducta de expulsión de orina, así también determinar si ésta tiene influencia de las hormonas esteroides y si dicha conducta es sexualmente dimórfica.
3. La conducta de expulsión de orina fue bajo condiciones de aislamiento y sin estímulos aparentes. Se podría analizar si esta conducta y los volúmenes de orina expulsados se modifican al exponer a las ratas ante estímulos como conespecíficos u objetos.
4. La conducta de expulsión de orina podría ser utilizada como indicador de patologías urinarias o disfunciones urinarias en las denervaciones de la musculatura pélvica y perineal adyacente al aparato urinario inferior.

13. REFERENCIAS

- Anderson K y Waldeck K. 2001. Pharmacology of the bladder. En: Textbook of Female Urology and Urogynaecology. Cardozo L y Staskin D (eds.) Editorial ISIS Medical Media. EUA. pp. 140-147.
- Beach FA. 1974. Effects of gonadal hormones on urinary behavior in dogs. *Physiol Behav.* 12:1005-1013.
- Bell DJ. 1985. The rabbits and hares: Orden Lagomorpha. En: Social Odors Mammals. Brown R y McDonald C (eds.) Editorial Oxford. EUA. pp. 508-529.
- Bloom F, Nelson CA y Lazerson A. 2001. Brain, Mind, and Behaviour. Editorial Worth Publishers. EUA. pp. 209-217.
- Brink EE y Pfaff DW. 1980. Vertebral muscles of the back and tail of the albino rat (*Rattus norvegicus albinus*). *Brain Behav Evol.* 17:1-47.
- Chancellor MB, Rivas DA, Huang B, Kelly G y Salzman SK. 1994. Micturition patterns after spinal trauma as a measure of autonomic functional recovery. *J Urol.* 151:250-4.
- Chai TC, Andersson K, Tuttle B y Steers W. 2000. Altered neural control of micturition in the aged F344 rat. *Urol Res.* 28:348-354.
- Chávez AE, Bozinovic F, Peichl L y Palacios A. 2003. Retinal spectral sensitivity, fur coloration, and urine reflectance in the Genus Octodon (Rodentia): Implications for visual ecology. *IOVS.* 44:2290-2296.
- Chun AL, Wein AJ, Harkaway R y Levin R. 1990. Comparison of urinary bladder function in sexually mature and immature male and female rats. *J Urol.* 143:1267-1271.
- Conroy R y Mills J. 1970. The Human Circadian Rhythms. Editorial Churchill. London. pp. 47-67.
- Cruz Y y Downie J. 2005. Sexually dimorphic micturition in rats: Relationship of perineal muscle activity to voiding pattern. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 289:1307-1318.
- Cruz Y y Downie J. 2006. Abdominal muscle activity during voiding in female rats with normal or irritated bladder. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 290:R1436-45.
- Dagg AI, Bell WL y Windsor DE. 1971. Urine marking of cages and visual isolation as possible sources of error in behavioural studies of small mammals. *Lab Anim.* 5:163-167.
- Dail W y Sachs B. 1991. The ischiourethralis muscle of the rat: Anatomy, innervation and function. *Anatom Record.* 229:203-208.

- de Groat WC, Fraser MO, Yoshiyama M, Smerin S, Tai C, Chancellor MB, Yoshimura N y Roppolo JR. 2001. Neural control of the urethra. *Scand J Urol Nephrol Suppl.* 207:35-43.
- Elbadawi A. 1996. Functional anatomy of the organs of micturition. *Urodynamics.* 23:177-209.
- Endo Y y Shiraki R. 2000. Behavior and body temperature in rats following chronic foot shock or psychological stress exposure. *Physiol Behav.* 71:263-268.
- Eriksson E, Royo F, Lyberg K, Carlsson H y Hau J. 2004. Effect of metabolic cage housing on immunoglobulin A and corticosterone excretion in faeces and urine of young male rats. *Exp Physiol.* 89:427-433.
- Fukuda H y Fukai K. 1986. Postural change and straining induced by distension of the rectum, vagina and urinary bladder of decerebrate dogs. *Brain Res.* 380:276-286.
- Flood P. 1985. Sources of significant smells: the skin and other organs. En: *Social Odors Mammals.* Brown R y McDonald C (eds.). Editorial Oxford. EUA. pp. 508-529.
- Ganong WF. 2000. *Fisiología Médica.* Editorial Manual Moderno. México. pp. 777-809.
- Gil M, Aguirre A, Lemoine A, Segura E, Barontini M y Armando I. 1999. Influence of age on stress responses to metabolic cage housing in rats. *Cel Mol Neurob.* 19:625-633.
- Guyton AC y Hall JE. 2000. *Textbook of medical.* 10 ed. Editorial WB Saunders Company. EUA. pp. 364-379.
- Harvey MA, Versi E y Weiss P. 2001. Voiding diary. En: *Textbook of Female Urology and Urogynaecology.* Cardozo L y Staskin D (eds.). Editorial ISIS Medical Media. EUA. pp. 168-173.
- Häkkinen J, Koskimäki J, Huntala H, Tammela T, Hakama M y Auvinen A. 2004. Changes in prevalence of urinary symptoms in finnish men. *Scand J Urol Nephrol.* 38:378-384
- Hebel R y Stromberg M. 1986. *Anatomy and Embriology of the rat.* Editorial BioMed. Verlag. Alemania. pp. 65-69.
- Holstege G, Blok FM y Horst G. 1995. Brain stem systems for blinking, feeding y micturition. En: *The Rat Nervous System.* Paxinos G (eds.) 2 ed. Editorial Academic Press, Inc. pp. 265-275.
- Huang H, Lin A, Chen K y Chang L. 2005. Voiding pattern of healthy taiwanese women. *Urol Int.* 77:322-326.
- Johnson R. 1973. Scent marking in mammals. *Anim Behav.* 21:521-535.
- Johnson R y Jhonson A. 1990. Light-dark cycle modulates drinking to homeostatic challenges. *Am. J. Physiol.* 259:R1035-R1042.

- Kamo I, Cannon T, Conway D, Torimoto K, Chancellor M, De Groat W y Yoshimura N. 2004. The role of bladder-to-urethral reflexes in urinary continence mechanisms in rats. *Am J Physiol Renal Physiol*. 287:F434-F441.
- Kakizaki H, Fraser M y De groat W. 1997. Reflex pathways controlling urethral striated and smooth muscle function in the male rat. *Am J Physiol*. 272:R1647-R1656.
- Koopman MG, Minors DS y Waterhouse J. 1990. Urinary and renal circadian rhythms. Basic concepts and implications. En: *Biological Rhythms in Clinical Practice*. Arendt J, Minors DS, Waterhouse J (eds). Editorial Wright. London. pp. 83-97.
- Kristiansen NK, Ringgaard S, Nygaard H y Djurhuus JC. 2004. MRI Assessment of the influence on body position on the shape and position of the urinary bladder. *Scand J Urol Nephrol*. 38:53-61.
- Kruse MN, Noto H, Roppolo JR y de Groat WC. 1990. Pontine control of the urinary bladder and external urethral sphincter in the rat. *Brain Res*. 532:182-190.
- Liu Y, Allen GV y Downie J. 2007. Parabrachial nucleus influences the control of normal urinary bladder function and the response to bladder irritation in rats. *Neuroscience*. 144:731-742.
- Le Fever J, Van Asselt y Van Mastrigt R. 2004. Afferent bladder nerve activity in the rat: A mechanism for starting and stopping contractions. *Urol Res*. 32:395-405.
- McIntosh K, Davis L y Barfield R. 1979. Urine marking and sexual behavior in the rat (*Rattus norvegicus*). *Behav Neur Biol*. 26:161-168.
- McKenna K y Nadelhaft I. 1986. The organization of the pudendal nerve in the male and female rat. *J Comp Neurol*. 248:532-549.
- Maggi CA, Giuliani S y Santicioli P. 1986. Analysis of factors involved in determining urinary bladder voiding cycle in urethane-anesthetized rats. *Am J Physiol*. 251:R250-R257.
- Mallory B, Steers W y de Groat W. 1989. Electrophysiological study of micturition reflexes in rats. *Am J Physiol*. 257:R410-R421.
- Manzo J, Esquivel A, Hernández M, Carrillo P, Martínez-Gómez M y Pacheco P. 1997. The role of pubococcygeus muscle in urinary continence in the male rat. *J Urol*. 157:2402-2406.
- Martínez A. 2003. Caracterización anatómica y funcional de la uretra y de su esfínter externo de la rata macho. Tesis de Doctorado en Neuroetología. Universidad Veracruzana.
- Matsura S, Downie J y Allen V. 2000. Micturition evoked by glutamate microinjection in the ventrolateral periaqueductal gray is mediated through barrington's nucleus in the rat. *Neuroscience*. 101:1053-1061.

- Meyers F, Jawetz E y Goldfien A. 1980. Manual de Farmacología Clínica. 4ª ed. Editorial Manual Moderno. DF. pp. 221-233.
- Morrison JF, Birder LA, Craggs M, de Groat WC, Downie JW, Drake MJ, Fowler CJ y Thor KB. 2005. Neural control. En: Incontinence. Abrams P (ed). Editorial Health Publications Ltd. Paris. pp. 363-422.
- Moon D, Myeong H, Lee J, Jong J, Gon M y Ryong D. 2004. Antidiuretic hormone in elderly male patients with severe nocturia: A circadian study. *BJU International*. 94:571-575.
- Moore-Ede M y Herd J. 1977. Renal activity circadian rhythms: Independence from feeding and activity patterns. *Am J Physiol*. 232:F128-F135.
- Moore KH, Richmond DH, Sutherst JR, Imrie AH y Hutton JL. 1991. Crouching over the toilet seat: Prevalence among british gynaecological outpatients and its effect upon micturition. *Br J Obstet Gynaecol*. 98:569-572.
- Morizane S, Toji S, Matsumoto M y Miyagawa I. 2005. Effects of testosterone replacement on lower urinary tract functions in elderly male rats. *Yonago Acta Medica*. 48:93-99.
- Mostwin JL. 2001. Clinical physiology of micturition. En: Textbook of Female Urology and Urogynaecology. Cardozo L y Staskin D (eds.) Editorial ISIS Medical Media. pp. 126-138.
- Mueller E, Latini J, Lux M, Stablein U, Brubaker L, Kreder K y Fitzgerald M. 2005. Gender differences in 24-hour urinary diaries of asymptomatic north american adults. *J Urol*. 173:490-492.
- Nakamura S, Kobayashi Y, Tozuka K, Tokue A, Kimura A y Hamada C. 1996. Circadian changes in urine volume and frequency in elderly men. *J Urol*. 156:1275-79.
- Nelson RJ. 2005. An Introduction to Behavioral Endocrinology. 3ª edición. Editorial. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Massachusetts. pp. 192-195.
- Neilson J. 2004. Thinking outside the box: Feline elimination. *J Fel Med Surg*. 6:5-11.
- Pacheco P, Camacho MA, García LI, Hernández ME, Carrillo P y Manzo J. 1989. Somato-motor components of the pelvic and pudendal nerves of the female rat. *Brain Res*. 1989. 490:85-94.
- Pacheco P, Camacho MA, García LI, Hernández ME, Carrillo P y Manzo J. 1997. Electrophysiological evidence for the nomenclature of the pudendal nerve and sacral plexus in the male rat. *Brain Res*. 763:202-8.
- Pacheco P, Martínez A, Hernández ME y Manzo J. 2001. Anatomy and histology of the external urethral sphincter of the male rat. Society for Neuroscience. Washington, DC. Abstract. 667.12.

- Pal SK. 2003. Urine marking by free-ranging dogs (*Canis familiaris*) in relation to sex, season place and posture. *Appl Anim Behav Sci.* 80:45-59.
- Price EO. 1975. Hormonal control of urine-marking in wild and domestic Norway rats. *Horm Behav.* 6:393-397.
- Quiróz F. 2006. Tratado de Anatomía Humana. Tomo III. Aparato Respiratorio, Digestivo y Genitourinario. Glándulas de Secreción Interna y Órganos de los sentidos. 40 ed. Editorial. Porrúa. México. pp. 218-305.
- Ralls K. 1971. Mammalian scent marking. *Science.* 171:443-449.
- Rekwot PI, Ogwu D, Oyedipe EO y Sekoni VO. 2001. The role of pheromones and biostimulation in animal reproduction. *Anim Reprod Science.* 65:157-170.
- Riehmman M, Beyer W, Drynka P, Schltz S, Krause, Rodes P, Heisey D y Bruskewitz R. 1998. Position-related changes in voiding dynamics in men. *Adult Urology.* 52:625-630.
- Rouffignac C. 1999. Effects of water balance, diet and antidiuretic-hormone administration on the renal excretion of water. *Scand J Urol Nephrol Suppl.* 202:31-35.
- Setchell BP y Brooks DE. 1988. Anatomy, vasculature, innervation, and fluid of the male reproductive tract. En: *The Physiology of Reproduction.* Knobil E, Neill J (eds.) Vol. 1. Editorial Raven Press. EUA. pp. 753-836.
- Seksel K. 2000. Feline urine spraying. En: *Recent Advances in Companion animal Behavior Problems.* Houpt KA (eds). International Veterinary Information Service.
- Schmidt F, Shin P, Yoshimura Y, Ni R, Kneesel S y Constantinou C. 2001. Influence of gender on the diurnal variation of urine production and micturition characteristics of the rat. *NeuroUrol Urodyn.* 20:287-295.
- Schmidt F, Shin P, Jorjensen T, Djurhuus J y Constantinou C. 2002. Urodynamic patterns of normal male micturition: Influence of water consumption on urine production and detrusor function. *J Urol.* 168:1458-1463.
- Sugaya K, Nishijima S, Miyasato M y Ogawa Y. 2005. Central nervous control of micturition and urine storage. *J Smooth Muscle Res.* 41:117-132.
- Thor KB y Donatucci C. 2004. Central nervous system control of the lower urinary tract: New pharmacological approaches to stress urinary incontinence in women. *J Urol.* 172:27-33.
- Tomasi PA, Siracusano S, Monni A, Mela G y Delitala G. 2001. Decreased nocturnal urinary antidiuretic hormon excretion in enuresis in increased by imipramine. *BJU international.* 88:932-937.

- Tortora GJ y Anagnostakos NP. 1989. Principios de Anatomía y Fisiología. Editorial Harla. México. pp 860-895.
- Tracy W, Cannon M, Margot S y Damaser P. 2001. Effects of anesthesia on cystometry and leak point pressure of the female rat. *Lif Sci*. 69:1193-1202.
- Ünsal A y Çimentepe E. 2004a. Voiding position does not affect uroflowmetric parameters and post-void residual urine volume in healthy volunteers. *Scand J Urol Nephrol*. 38:469-471.
- Ünsal A y Çimentepe E. 2004b. Effect of voiding position on uroflowmetric parameters and post-void residual urine volume in patients with benign prostatic hyperplasia. *Scand J Urol Nephrol*. 38:240-242.
- Van Asselt E, Le Feber J y Van Mastrigt R. 1999. Threshold for efferent bladder nerve firing in the rat. *Am J Physiol*. 276:R1819-R1824.
- Van Hoeck K, Bael A, Lax B, Hirche H y Van Gool J. 2007. Circadian variation of voided in normal school-age children. *Eur Pediatr*. 166:579-584.
- Wirant SC y McGuire B. 2004. Urinary behavior of female domestic dogs (*Canis familiaris*): Influence of reproductive status, location, and age. *Appl Anim Behav Sci*. 85:335-348.
- Yoshimura Y, Schmidt F y Contantinou C. 2000. Gender specificity of tolterodine on micturition and the diurnal variation of urine production of the conscious rat. *BJU International*. 86:879-885.
- Yamanishi T, Yasuda K, Sakakibara R, Hattori T, Minamide M, Yiki T e Ito H. 1999. Variation in urinary flow according to voiding position in normal males. *Neurourol Urodyn*. 18:553-7.
- Zempoalteca R, Martínez-Gomez M, Hudson R, Cruz Y y Lucio RA. 2002. An anatomical and electrophysiological study of the genitofemoral nerve and some of its targets in the male rat. *J Anat*. 201:1-13.
- Zoo Lee J, Omata S, Tillig, B, Perkash I y Contantinou C. 1998. Chronology and urodynamic characterization of micturition in neurohormonally induced experimental prostate growth in the rat. *Neurourol Urodyn*. 17:55-69.
- Zorilla EP, Inoue K, Fekete EM, Tabarin A, Valdez G y Koob GF. 2005. Measuring meals: Structure of prandial food and water intake of rats. *Am J Physiol Regul Comp Physiol*. 288:1450-1467.