

REGINA CÉLIA SPADARI CONRADO

ATIVIDADE ELÉTRICA MIOMETRIAL EM RATAS NÃO-PRENHES

Tese apresentada ao Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, para a obtenção do título de MESTRE em Biologia na área de Fisiologia e Biofísica.

CAMPINAS
1978

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

Aos meus queridos pais

e à minha família

pelo apoio e incentivo dados nos momentos difíceis

dedico

Ao

Professor Dr. Carlos Eduardo Negreiros de Paiva

pela confiança em mim depositada,

pelos conhecimentos transmitidos,

pela orientação

agradeço.

Ao amigo

Prof. Dr. Octávio de Queiróz Aprigliano

agradeço

Agradeço

- Ao Prof. Dr. Ernesto José Dottaviano, pela compreensão e estímulo que dedica aos docentes desta casa.

- Ao Prof. Dr. Antonio Celso Ramalho, pelo incentivo e apoio.

- Aos Professores e membros do Departamento de Fisiologia e Biofísica, pelos conhecimentos transmitidos, pelo carinho com que me acolheram e pela amizade que me dispensaram.

- Aos técnicos Herval de Lara Almeida e Ivete de Jesus Roque, pelo valioso auxílio na parte experimental.

- À Sra. Ivanira Martins Bertin, pela ajuda na execução dos gráficos.

- Ao colega Edson Françaço, pelas fotografias.

- À Srta. Maria Elidia dos Santos, pelos serviços datilográficos.

ÍNDICE

INTRODUÇÃO	01
1. Histórico do estudo da atividade espontânea do músculo liso uterino	01
2. Atividade marca-passo e potenciais de ação no músculo liso uterino	09
3. Eventos que ocorrem durante o ciclo estral da rata	10
MATERIAL E MÉTODOS	14
RESULTADOS	17
A. Características gerais da atividade elétrica espontânea do miométrio da rata não prenhe ...	17
B. Diferenças e caracterização da atividade elé - trica nas fases do ciclo estral	22
Proestro	23
Estro	38
Metaestro	44
Diestro	52
C. Análise das variações dos diversos parâmetros nas fases do ciclo estral da rata	52
DISCUSSÃO	71
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76

INTRODUÇÃO

1. Histórico do estudo da atividade elétrica extracelular espontânea do músculo liso uterino

O estudo da atividade elétrica miométrial iniciou-se através de experiências com peças isoladas de miométrio, nas quais implantavam-se eletrodos que permitiam registro das variações ocorridas no potencial elétrico, bem como as respostas do tecido a estímulos elétricos (MELTON, 1956). Nestes trabalhos, podia-se fazer ou não, simultaneamente, registros da atividade mecânica do tecido muscular.

Através deste tipo de experiência, MELTON (1956) analisou a ação de estrógenos e progesterona sobre o miométrio da rata. Segundo suas observações, os estrogênios transformam o útero da rata castrada de praticamente inexcitável em uma estrutura altamente excitável, sendo as variações no grau de excitabilidade proporcionais às doses de hormônios utilizadas. Além disso, os úteros de todos os animais tratados com estrógenos mostraram atividade elétrica espontânea.

MELTON caracterizou a atividade elétrica espontânea do útero da rata, como sendo de dois tipos: ondas de baixa amplitude e longa duração e picos de maior amplitude e frequência, com duração de aproximadamente 0,1 s. O primeiro tipo correspondia a uma descarga contínua e não ocorria em associação a contrações mensuráveis, enquanto que os picos de grande amplitude ocorriam em trens de 15 a 30 potenciais, sempre associados com contrações do útero. Estes precediam as contrações e desapareciam antes do relaxamento completo.

Através da implantação de vários eletrodos utilizando, portanto, vários canais para registro, MELTON mostrou que diferentes porções do útero podiam estar ativas si

multânea ou independentemente. Uma parte do útero poderia estar quiescente enquanto outras estivessem ativas; ou uma parte somente estaria ativa. Uma outra possibilidade seria que todos os pontos dos quais registros estavam sendo feitos poderiam estar ativos, atividade esta ocorrendo a diferentes frequências. Esta atividade local foi sempre do tipo "baixo", enquanto que as descargas rápidas, quando se iniciavam em determinado ponto, eram observadas também em todos os outros pontos (atividade propagada). MELTON afirmou também que o útero estrogênizado e tratado com progesterona, não modificava em nada sua atividade elétrica espontânea, embora a progesterona pudesse afetar o tônus do miométrio.

Através de experiências semelhantes tornou-se claro que poderiam ocorrer amplas variações no padrão de atividade elétrica, até de um mesmo corno uterino. Mas, como o músculo liso uterino sofre variações cíclicas de função, é provável que os registros de diferentes pesquisadores tenham sido feitos em estágios funcionais diferentes. Assim, numa tentativa de obter informações mais consistentes da atividade elétrica do miométrio e solucionar as dificuldades encontradas nas experiências agudas, KAO (1959) realizou uma série de experiências implantando pequenos eletrodos não-polarizáveis no miométrio de coelhas registrando repetidamente por períodos de várias semanas. KAO estudou a atividade elétrica do miométrio de coelhas prenhes e virgens ovariectomizadas e tratadas com estrógenos. Desse modo tornou-se possível a observação da atividade elétrica espontânea do mesmo grupo de células musculares lisas, sob uma grande variedade de condições fisiológicas e experimentais, em animais não anestesiados.

Este autor comparou seus resultados com aqueles obtidos por outros pesquisadores e verificou que, de fato, fibras diferentes de um mesmo corno uterino mostravam ampla variação na sua atividade elétrica. Numa porção do miométrio podiam ocorrer vários trens de potenciais de ação enquanto que outra, adjacente, podia estar completamente quiescente, o que sugeria que grupos diferentes de células miometriais podiam

parecer comportar-se de modo diferente quando as observações eram feitas durante períodos de tempo muito curtos. Além disso, concluiu que os componentes principais da atividade elétrica eram similares nos dois tipos de experiência.

KAO (1959) identificou as "ondas lentas" referidas por MELTON (1956) e afirmou que estas representavam mudanças oscilatórias irregulares, sem periodicidade. Nos animais ovariectomizados as flutuações tendiam a ser mais lentas e a linha de base tinha aparência "ondulada". Nos mesmos animais, 24h após injeção intramuscular de estrógenos, desaparecia o caráter ondulante da linha de base e começavam a surgir potenciais de ação.

KAO (1959) também identificou potenciais de ação, semelhantes aqueles registrados no miométrio isolado por MELTON (1956). Sua duração foi de 100-200ms e a amplitude variou de 0,3-3mV. Este autor concluiu que a amplitude e a frequência dos potenciais de ação variavam com o estado hormonal do miométrio. Estrógenos atuavam sobre o útero da coelha, aumentando a amplitude e frequência dos potenciais de ação. Não observou propagação de impulsos em suas preparações, mas admitia haver igualdade no número de potenciais em ambas as extremidades uterinas e simultaneidade da atividade entre os dois cornos uterinos de um mesmo animal.

Em 1965, dois outros autores, CSAPO e TAKEDA, desenvolveram um método que lhes permitiu registrar simultaneamente as atividades elétrica e mecânica do útero de coelhas prenhes e parturientes. Usando três eletrodos implantados na parede miometrial em três regiões distantes umas das outras examinaram a relação funcional destas porções uterinas e as consequências sobre a pressão intra-uterina (P.I.U.) de várias mudanças na excitabilidade miometrial. As variações na P.I.U. eram obtidas através de um balão de borracha cheio com solução fisiológica, colocado dentro da cavidade uterina e ligado ao sistema de registro. Através desta técnica passaram a estudar o efeito da progesterona sobre seu alvo primário.

rio, a célula miometrial.

Estes autores verificaram inicialmente o caráter da atividade elétrica e mecânica do útero parturiente, livre do bloqueio progesteronal. Em seguida, registraram a atividade do útero a termo, sob domínio total de progesterona. Subsequentemente, mostraram o efeito bloqueador da placenta, pela remoção do conjunto de placentas somente de um dos cornos uterinos, deixando intacto o outro corno e os ovários. Eles demonstraram a evolução da atividade uterina após o desaparecimento do efeito da progesterona placentária e o restabelecimento do bloqueio, produzido por progesterona exógena.

Assim, concluíram que, na coelha, a ação bloqueadora da progesterona exercer-se-ia controlando a extensão e a velocidade de propagação do impulso e, portanto, diminuindo a relação porções ativas/porções inativas o que, em última análise, resultaria numa pressão ativa baixa. Consequentemente, a progesterona determinaria também a forma da curva de pressão, a qual seria simples quando a atividade se propagasse rapidamente, e complexa quando esta propagação se limitasse a curtas distâncias. Assim sendo, quando o bloqueio por progesterona dominasse o útero prenhe, diferentes porções uterinas seriam ativadas independentemente e a distância de propagação seria pequena, resultando em uma curva de pressão complexa, uma vez que esta seria determinada pela coincidência da atividade em diferentes porções uterinas. Baseados nestas observações, CSAPO e TAKEDA concluíram que a progesterona agiria diminuindo a capacidade das células miometriais da coelha de propagar impulsos.

O efeito do estágio do ciclo estral sobre a força e frequência das contrações do útero da cobaia, foi estudado por FEIT, FREUND e VENTURA (1968). O padrão observado no estro foi de maior força de contração e menor frequência, enquanto que no diestro a força era menor mas a frequência maior.

Em 1973, NAAKTGEBOREN et alii empregaram novamente a técnica de eletrodos múltiplos implantados cronicamente na parede miometrial, para estudar a atividade elétrica do útero de ovelhas durante as várias fases do ciclo. Segundo suas observações, o padrão de atividade elétrica uterina na ovelha sofre variações cíclicas. Inicialmente o útero parecia quiescente pois uns poucos potenciais ou trens de potenciais apareciam muito raramente. Poucos dias mais tarde, o autor observou que o útero passava a mostrar maior atividade. Os potenciais ocorriam em pequenos trens com suas amplitudes aumentando gradativamente. Em quatro dias o padrão se modificava, de um quadro difuso, sem coordenação visível, com amplitude variando ao redor de $10\mu\text{V}$ e, excepcionalmente, ultrapassando $50\mu\text{V}$, para um padrão rítmico com trens nos quais os potenciais alcançavam amplitudes superiores a $150\mu\text{V}$. Este padrão foi registrado antes do estro, onde a atividade alcançava um máximo, com trens longos formados por potenciais de grande amplitude (acima de $250\mu\text{V}$). Os trens de atividade elétrica tinham duração de 8-10s, enquanto que os intervalos entre eles mostravam maior variação (8-20s).

NAAKTGEBOREN et alii observaram que os trens de potenciais apareciam primeiro no par tubário de eletrodos e alguns segundos depois nos eletrodos sutiados próximos do corpo do útero. O trem de atividade atingia todo o corno uterino a partir da extremidade tubária, alcançando a extremidade cervical. No dia seguinte o padrão foi similar mas houve longos períodos de silêncio que poderiam durar mais de 5 minutos e meio. Com grande frequência o trem de atividade era observado inicialmente próximo do corpo do útero, propagando-se em direção à extremidade tubária, havendo portanto, inversão na direção da propagação. Durante os dias subsequentes, observou uma diminuição na atividade, demonstrada pela perda da coordenação (o padrão tendendo a tornar-se mais difuso e perdendo a aparência rítmica) e por uma queda na amplitude dos potenciais.

Estes resultados concordam com os de LEHRER e

SCHINDLER (1974) que estudaram os movimentos do útero de ovelha através de observação visual e com os dados de LEHRER et alii (1974) que estudaram a variação da motilidade uterina de ovelhas, através de telemetria.

NAAKTGEBOREN et alii (1973) relacionaram seus dados com os níveis de estrógeno e progesterona no plasma venoso ovariano durante o ciclo estral da ovelha, publicados por MOORE et alii (1969). A concentração de estrógenos no plasma venoso ovariano alcança seus valores mais altos no dia anterior ao do cio. MOORE et alii não detectaram estrógenos no sangue venoso ovariano no momento da ovulação. Durante o período de predominância da progesterona o útero permaneceu quiescente e a atividade que foi descrita, ocorreu provavelmente imediatamente após terem surgido os altos níveis de estrógenos. Em vista disso, NAAKTGEBOREN et alii concluíram que as mudanças no padrão de contração devem ser causadas por mudanças na relação estrógeno/progesterona. A progesterona inibiria as propriedades condutoras da célula miométrial da ovelha, enquanto que estrógeno favoreceria a condução. Se as propriedades de condução das células vizinhas fossem ótimas, o estímulo se propagaria muito rapidamente e as contrações seriam bem coordenadas. Condução pobre permitiria apenas contrações locais, de pequenos grupos de células musculares, como já apontado por CSAPO e TAKEDA (1965) para explicar o mesmo fenômeno na coelha.

Assim, NAAKTGEBOREN et alii afirmaram que, na ovelha, um período quiescente alterna-se com um período de atividade regular, com potenciais de grande amplitude. Este último ocorre em intervalos de 17 dias e é simultâneo com o aparecimento do comportamento típico do estro.

Na vaca, o estudo da atividade elétrica no oviduto e útero foi realizado por RUCKEBUSH e BAYARD (1975), também através da técnica de multieletrodos extracelulares. Estes autores observaram uma transição gradual de atividade local e não propagável para atividade propagada, acompanhada,

por aumento na duração das contrações e, posteriormente, da amplitude. Estas alterações ocorreram 48h antes do início do estro e coincidiram com uma rápida queda no nível de progesterona.

Os estudos a respeito da atividade do miométrio da rata, referem-se principalmente ao útero prenhe (CLABAUT, 1972; PAIVA e CSAPO, 1973; KURIYAMA e SUZUKI, 1976; MALTIER e CAVAILLÉ, 1978; PORTER e DOWNING, 1978).

Neste animal, a técnica de multieletrodos extracelulares foi empregada inicialmente por PAIVA e CSAPO (1973) para estudo da atividade elétrica do útero prenhe e sua resposta ao tratamento com prostaglandinas. Estes autores verificaram uma transição gradual da atividade local, não propagável e assíncrona, acompanhada por oscilações irregulares na pressão intra-uterina, para atividade elétrica propagável e sincrônica e nível alto e regular de pressão intra-uterina. Esta transição ocorria quando os níveis de progesterona caíam de $108 \pm 9\text{ng/ml}$ para 4ng/ml .

As variações da excitabilidade do miométrio da rata com os estágios do ciclo estral foram descritas pela primeira vez por KATZENSTEIN (1938) e KATZENSTEIN e SOSKIN (1939). Estes autores mostraram que a cronaxia para contração mínima foi menor no estro e maior no diestro.

MELTON e SALDIVAR (1965) também estudaram a atividade elétrica do miométrio da rata. Estes autores verificaram que o útero da rata tratada com estrógenos mostra fortes contrações rítmicas, pois os impulsos iniciados num ponto são transmitidos através do miométrio, excitando progressivamente todas as células. Tal condução da atividade não foi observada no útero de animais castrados e não tratados. Por outro lado, a condução do impulso ocorreu em todos os estágios do ciclo e cada um destes estágios mostrou um padrão característico de atividade elétrica espontânea e de contração.

A mais proeminente diferença na atividade do útero de ratas nos vários estágios do ciclo foi o padrão de atividade elétrica. No proestro e estro, os trens de potenciais associados com contrações foram separados por intervalos de silêncio elétrico. No metaestro os trens de potenciais podiam ainda ser individualizados mas os intervalos entre eles foram ocupados por uma descarga contínua de atividade elétrica de baixo nível. No diestro a descarga de potenciais foi contínua em alguns segmentos e intermitente em outros.

Em seguida, a atividade do músculo liso uterino da rata não prenhe foi estudada por TALO e KÄRKI (1976). Estes autores implantaram, cronicamente, seis eletrodos no corno uterino esquerdo e, através deles, verificaram o desenvolvimento da atividade elétrica do miométrio durante o ciclo estral.

Segundo TALO e KÄRKI (1976) a frequência de trens diminui progressivamente do estro para o metaestro e deste para o primeiro dia do diestro e, então, para o proestro. A duração dos trens é usualmente maior no metaestro, com exceção de poucos longos trens vistos no diestro e proestro. Nenhuma diferença significativa foi encontrada, quanto a duração dos trens, entre proestro, diestro e estro. A amplitude dos trens foi normalmente maior no metaestro e menor no diestro. As diferenças entre as outras fases não foram significativas.

Em seu trabalho, TALO e KÄRKI verificaram ainda que a atividade elétrica se propagava com maior frequência na direção cervical do que na tubária. A porcentagem média de trens se propagando na direção cervical variava entre 54% e 89% em dias outros que não do diestro. As porcentagens médias de trens se propagando na direção cervical estariam abaixo de 50% (31%-85%) no meio do corno uterino mas acima de 50% (50%-86%) nas extremidades.

2. Atividade marca-passo e potenciais de ação no músculo liso uterino

Quando um microeletrodo é inserido numa célula muscular lisa visceral quiescente, é registrada uma diferença de potencial que poderá variar entre 35mV e 65 mV (DROOGMANS e CASTEELS, 1976), com o interior da célula negativo em relação ao exterior. Esta diferença de potencial é chamada potencial de repouso. Entretanto, esta terminologia, embora universalizada, não é apropriada uma vez que não é possível estimar o nível de repouso da membrana celular numa estrutura espontaneamente ativa (MARSHAL, 1974). Assim sendo, o valor utilizado como potencial de repouso designa o nível máximo de polarização da membrana, atingindo entre períodos de atividade.

De qualquer maneira, o potencial de repouso da membrana de uma célula muscular lisa quiescente difere daquele de uma célula muscular esquelética no repouso, de duas maneiras: ele tem um valor mais baixo, e é mais lábil. Esta última propriedade o habilita a gerar espontaneamente potenciais de ação (MARSHAL, 1974).

A atividade elétrica espontânea dos músculos lisos tem dois componentes básicos segundo ANDERSON E RAMON (1976) e MARSHAL (1974): uma flutuação lenta, senoidal, sublimiar e rítmica do potencial de membrana - as ondas lentas referidas por MELTON, já em 1956 - e potenciais de ação - que MELTON também já havia observado em seu trabalho, e que mais tarde CSAPO e TAKEDA (1965) confirmaram.

As ondas lentas ocorrem com um período variando de 10 segundos a minutos e amplitude oscilando de uns poucos milivolts até 20 mV, dependendo das condições de preparação, ambiente hormonal e método de registro. (ANDERSON e RAMON, 1976).

O segundo tipo de variação que ocorre no potencial de membrana da célula muscular lisa lembra aquele visto no tecido nodal do coração e consiste de uma despolarização lenta e localizada da membrana da célula, culminando na produção de um potencial de ação. Por causa de sua similaridade com o potencial do marca-passo cardíaco, esta atividade espontânea do músculo liso tem sido chamada de "tipo marca-passo". Entretanto, enquanto no músculo cardíaco o marca-passo se localiza no tecido nodal, a atividade marca-passo do músculo uterino pode ser encontrada em todo o tecido, uma vez que todas as células musculares lisas parecem ser capazes de se tornarem marca-passos (MARSHAL, 1974).

Estas flutuações rítmicas do potencial de membrana podem gerar potenciais de ação o que podem ser propagados através do tecido muscular, ativando vários grupos de células.

A técnica de registro através de eletrodos extracelulares, consegue captar a atividade elétrica da superfície gerada por um ou mais conjuntos de célula miométriais.

3. Eventos que ocorrem durante o ciclo estral da rata.

Paralelamente ao estudo da atividade elétrica do miométrio, vários autores tentaram estabelecer um conjunto de variáveis que, pudessem caracterizar cada uma das fases do ciclo nos diversos animais.

Para ratas mantidas em laboratórios sob condições controladas de luz (14h luz e 10 h no escuro) a sequência temporal de muitos dos eventos que ocorrem durante o ciclo estral está bem delineada (EVERETT, 1961; SCHWARTZ e BARTOSIK, 1962; SCHWARTZ, 1964).

O esfregaço vaginal no metaestro e diestro é predominantemente leucocitário, enquanto que no proestro ele é caracterizado por células epiteliais nucleadas e na manhã do estro, quando o óvulo está na trompa, ele é totalmente queratinizado (SCHWARTZ e BARTOSIK, 1962).

O peso uterino é máximo no proestro, o útero fica distendido por fluido luminal (ASTWOOD, 1939; ARMSTRONG, 1968; CLEMETSON et alii, 1977) e o impulso para cópula também surge neste dia (BOLING et alii, 1941).

Observa-se uma queda no conteúdo hipofisário de LH (SCHWARTZ e BARTOSIK, 1962; SCHWARTZ, 1964) e FSH (CALIGARIS et alii, 1967; RAO et alii, 1974; entre o proestro e o estro, refletindo a descarga de um pico de gonadotrofinas, indutor da ovulação, na tarde do proestro.

A liberação de LH ocorre, na rata, na tarde do proestro (14h - 18h), precedendo por umas poucas horas o momento da ovulação que ocorre por volta da segunda hora de estro (BROWN-GRANDT et alii, 1970).

A concentração periférica de FSH flutua durante o ciclo estral da rata. O conteúdo hipofisário é maior no início do proestro, ocorrendo uma queda na tarde deste mesmo dia. Daí há um aumento até o proestro seguinte (RAMIREZ et al., 1964; ANDERSON e McSHAN, 1966; CALIGARIS et alii, 1967; GOLDMAN et alii, 1969).

As mudanças vaginais e uterinas, a liberação maciça, causando o pico ovulatório de gonadotrofinas (BROWN-GRANDT et alii, 1970), e o desenvolvimento do comportamento de acasalamento, requerem, todos, a presença de hormônios ovarianos, os quais são secretados no dia anterior ao proestro (ARMSTRONG, 1968).

A secreção de estradiol pelos ovários da rata começa a aumentar no início do metaestro e fim do diestro.

Entre 24 horas de diestro e 9 horas de proestro há um aumento significativo, para cair novamente no fim do proestro entre 16:30 - 17:30 horas (Yoshinaga et alii, 1969; BROWN - GRANDT et alii, 1970).

No dia do estro há um aumento estatisticamente não significativo, mas aquele que ocorre na manhã do metaestro é estatisticamente significante.

Progesterona e pregnen-4-en-20-ol-3-ona

(20 OHP) são secretadas durante todo o ciclo estral da rata (HASHIMOTO et alii, 1968). Entretanto, observa-se um rápido aumento na sua taxa de secreção logo após o pico de LH ter ocorrido no fim do proestro, segundo alguns autores (PIACSEK et alii, 1971) ou simultaneamente com este (HASHIMOTO et alii, 1968) ou ainda um pouco antes (BARRACLOUGH, 1971). Um segundo aumento, menor, é observado no primeiro dia do diestro (HASHIMOTO et alii, 1968).

Pela revisão da literatura por nós apresentada, pode-se observar que a variação do comportamento elétrico do miométrio não-prenhe obedece a um padrão rítmico e constante nas espécies animais já estudadas (cobaia - FLIT, FREUND e VENTURA, 1968; coelha - KAO, 1959; CSAPO e TAKEDA, 1965; ovelha - NAAKTGEBOREN, 1973; LEHRER e SCHINDLER, 1974; LEHRER et alii, 1974; rata - MELTON, 1956 e SALDIVAR, 1965; TALO e KARKI, 1976; vaca - RUCKEBUSH e BAYARD, 1975). Provavelmente este padrão está relacionado com os níveis circulantes de hormônios sexuais.

O comportamento elétrico do miométrio da rata, entretanto, permanece por ser esclarecido, uma vez que os dados a esse respeito são escassos e incompletos. E, sendo este um animal que vem sendo amplamente utilizado em laboratório, principalmente na área de endocrinologia dos hormônios ligados à reprodução, pareceu-nos oportuno um estudo mais pormenorizado da atividade elétrica de seu útero.

Assim sendo, este trabalho objetiva estudar a variação cíclica da atividade elétrica miométrial da rata virgem, através da técnica de multieletródos extracelulares, em experimentos agudos e, a partir disto, tentar estabelecer um padrão de atividade característico de cada uma das fases do ciclo estral.

MATERIAL E MÉTODOS

Na presente investigação utilizamos ratas virgens, com idade entre três e cinco meses, Rattus norvegicus, var. albinus, Wistar, cujos pesos variavam de 150 a 240 g, tratadas com ração padrão balanceada e água "ad libitum".

Nestes animais, registramos a atividade elétrica miometrial através de seis eletrodos implantados no útero, após laparotomia sob anestesia com éter. Fizemos os registros em seguida à implantação dos eletrodos, enquanto os animais eram mantidos sem anestesia. Após os registros, os animais eram sacrificados e autopsiados para verificação das condições do útero e dos eletrodos.

Fizemos a determinação da fase do ciclo estral em que se encontravam os animais através de esfregaço vaginal diário e, imediatamente antes da implantação dos eletrodos.

Obtivemos cinco registros completos em cada uma das quatro fases do ciclo estral, de modo a conseguirmos quatro grupos, cada um com cinco amostras. As várias fases do ciclo estral foram identificadas pelas seguintes características:

DIESTRO - Animais cujo esfregaço vaginal mostrava predominantemente leucócitos.

PROESTRO - Animais em cujo esfregaço notava-se predominância de células epiteliais nucleadas.

ESTRO - Aqueles animais em cujo esfregaço vaginal ocorriam exclusivamente células epiteliais queratinizadas.

METAESTRO - Animais em cujo esfregaço observavam-se células epiteliais nucleadas, queratinizadas e leucó-

cidos em quantidades equivalentes.

Usamos apenas aqueles animais cujo esfregaço vaginal se mostrou bem característico da fase desejada.

O conjunto de eletrodos e a técnica de registro

A técnica usada neste estudo foi desenvolvida por PAIVA e CSAPO (1973) através da combinação de três técnicas anteriores (a-) a técnica do microeletrodo extracelular "in situ" (CSAPO e WIEEST, 1972); (b-) a técnica do eletrodo de sucção "in vitro" (CSAPO e TAKEDA, 1965); e (c-) a técnica do eletrodo de sucção modificada, usada em experimentos agudos (CSAPO, 1969).

Os eletrodos registradores consistiram de um fio de prata (diâmetro 0.1 mm, Carlo Erba). Este foi passado através de um tubo de polietileno (PE10, D.I. 0.011"), o qual foi expandido (pelo calor) em funil, na sua extremidade uterina. O fio foi passado através da parede miometrial, voltando depois ao funil e ao tubo. Assim, a porção nua do eletrodo registrador formava uma pequena alça. Somente 1 mm desta alça atravessava a parede miometrial, mas não o endométrio. Sua porção nua remanescente era coberta pelo funil e pela porção terminal do tubo de polietileno. O deslizamento do eletrodo para fora do funil (e a possibilidade de curto-circuito com os tecidos vizinhos) era prevenido dobrando-se o tubo em ângulo reto próximo à sua extremidade distal.

Os seis eletrodos exploradores, confeccionados de acordo com a forma descrita, eram implantados em ambos cornos uterinos como segue: - um deles à cerca de 5 mm da extremidade ovárica, outro à cerca de 5 mm da extremidade vaginal e o terceiro, na porção média, a igual distância dos dois primeiros.

Implantamos um sétimo eletrodo, de referência, de construção similar, no músculo reto abdominal. Este eletrodo funcionava como zero, comum a todos os seis eletrodos receptores.

Após a implantação dos eletrodos procedíamos à sutura dos planos, fazendo-o de modo que as extremidades distais dos cateteres, passando através dela, pudessem permanecer livres para serem conectadas ao sistema registrador.

Em seguida ao procedimento cirúrgico, colocávamos o animal em uma gaiola de acrílico, especialmente confeccionada, na qual a rata podia ser mantida sem anestesia e praticamente imóvel, de modo que os registros pudessem ser feitos.

Os eletrodos eram ligados a pre-amplificadores de alto ganho (Sanborn 350-2700C). Estes, por sua vez, achavam-se acoplados a um sistema registrador (Sanborn 358-5460 MV, Polyviso Sanborn).

Os registros eram feitos em seguida e duravam em média 135 min, dos quais os primeiros 45 min referiam-se a atividade elétrica de um dos corpos uterinos; em seguida, separadamente, registrávamos a atividade elétrica espontânea do outro corno uterino e, finalmente, os últimos 45 min referiam-se ao registro simultâneo da atividade elétrica das extremidades ovárica e vaginal de ambos os cornos uterinos.

Os dados assim obtidos foram submetidos à análise estatística.

As diferenças quanto a ocorrência de atividade elétrica entre os cornos uterinos, os pontos estudados e as fases do ciclo, foram testadas através do teste X^2 .

RESULTADOS

Apresentaremos aqui nossas observações da atividade elétrica miometrial. As características desta atividade de serão analisadas e, a partir destes dados, caracterizaremos cada uma das fases do ciclo estral da rata.

Os resultados estão subdivididos em itens para facilitar a observação dos dados.

A. Características gerais da atividade elétrica espontânea do miométrio da rata não prenhe

A atividade elétrica espontânea observada no miométrio da rata não prenhe apresenta-se sob a forma de trens de potenciais que se alternam com períodos de silêncio (Figuras 1-12). As características desta atividade variam com as fases do ciclo.

Em geral, a duração dos trens de potenciais varia entre 6 e 24 segundos ($\bar{D} = 17s$), a amplitude média dos potenciais de ação é de 820 μV , podendo alcançar amplitudes máximas de 1250 μV no metaestro, enquanto que a frequência dos trens de potenciais oscila entre 0,32 trens/min e 1,68 trens/min ($\bar{F} = 0,80$ trens/min).

As figuras 3 a 12 ilustram a atividade em trens descrita acima. De particular interesse é a figura 10 (atividade durante o metaestro) a qual permite observar detalhes dos potenciais que constituem um trem. Note que os trens de potenciais tem a forma de fusos. Nesta figura, observam-se potenciais de ação de grande amplitude ($\bar{A} = 800\mu V$), em contraste com aqueles observados, por exemplo na figura 6 (atividade elétrica no proestro) em que os maiores poten-

ciais não chegam a alcançar 190 μ V.

Este tipo de atividade espontânea, na qual se observam potenciais de ação distribuídos em trens fusiformes, pode ser encontrado em qualquer das fases do ciclo estral da rata. Além disso, no proestro, verifica-se também atividade difusa (Figura 2) e longos períodos de silêncio (Figura 1).

Durante os períodos de atividade difusa, como o próprio nome sugere, os potenciais não se apresentam agrupados em trens fusiformes mas ocorrem distribuídos de maneira mais ou menos homogênea, através de todo o período. Sua amplitude não sofre grandes alterações, como ocorre na atividade em trens, mas oscila em torno de uma amplitude média de 62 μ V. A frequência dos potenciais de ação, nestes períodos, é bastante alta, como pode ser visto na figura 2.

Os longos períodos de silêncio, observados apenas no proestro, tem duração superior a 60 segundos, em alguns casos. Na figura 1 pode-se observar um desses períodos.

A tabela 1 resume os vários tipos de atividade elétrica e sua ocorrência nas fases do ciclo estral da rata. Como pode ser observado, nesta tabela, atividade elétrica difusa e períodos de silêncio ocorreram apenas no proestro, não tendo sido observados nas outras fases. Por essa razão, todas as comparações entre as fases do ciclo estral, entre regiões ou pontos de cada corno uterino e entre os cornos direito e esquerdo, foram realizadas considerando-se apenas os períodos de atividade em trens de potenciais.

A ocorrência deste tipo de atividade está registrada nas tabelas 2 e 3. O teste do χ^2 , feito com estes dados, indicou não haver diferenças significativas, entre as fases do ciclo, quanto à ocorrência de atividade em trens.

TABELA 1 - Tipos de atividade elétrica e sua ocorrência nas fases do ciclo estral da rata.

Tipos Fases	atividade difusa	atividade em trens	silêncio
proestro	+	+	+
estro	0	+	0
metaestro	0	+	0
diestro	0	+	0

+ = ocorrência

0 = não ocorrência

TABELA 2 - Ocorrência de atividade elétrica miométrial nos seis pontos estudados em cada fase do ciclo estral da rata.

Fases Pontos	PROESTRO						ESTRO						METAESTRO						DIESTRO					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
S	+	0	0	0	+	0	0	+	+	+	+	+	+	0	0	+	+	0	0	+	0	0	+	
D M	+	0	0	0	+	+	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	0	+	
I	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
S	+	+	0	0	+	0	0	0	+	0	+	+	0	+	+	0	+	0	0	+	0	0	+	
E M	+	+	+	0	+	+	0	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	0	+	+	+	0	+	
I	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Regis- tro	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24

+ = ocorrência de atividade

0 = ausência de atividade

TABELA 3 - Ocorrência de atividade elétrica miométrial nas fases e pontos estudados para cálculo do X^2 e comparação das diferenças.

Fases	PROESTRO (P)			ESTRO (E)			METAESTRO (M)			DIESTRO (D)			TOTAL GERAL
	S	M	T _P	S	M	T _E	S	M	T _M	S	M	T _D	
+	5	7	12	7	5	12	8	10	18	4	8	12	55
0	12	12	24	12	12	24	12	12	24	12	12	24	96

X^2 Total = 8,47183 (para 7 G.L.)

X^2 entre fases = 4,21464 (para 3 G.L.)

X^2 entre pontos = 1,06428 (para 1 G.L.)

p^{\wedge} = 0,57292

q^{\wedge} = 0,42708

S = eletrodo superior

M = eletrodo médio

T = Total de observações

TP = Total do próestro

TE = Total do estro

TM = Total do metaestro

TD = Total do diestro

Também não se verificaram diferenças significativas na ocorrência da atividade elétrica em trens de potenciais, entre os cornos uterinos ou entre as regiões média e superior. O eletrodo inferior, próximo à extremidade vaginal de cada corno uterino, foi o único que registrou atividade elétrica em todos os animais observados, o que não ocorreu nos eletrodos médio e superior, os quais em alguns casos, permaneceram silentes durante todo o tempo de registro (figuras 11A e 11B).

A constatação quanto à ocorrência de atividade em trens descrita anteriormente, permitiu-nos testar as diferenças entre as fases, regiões e cornos uterinos, quanto às características da atividade elétrica miometrial espontânea em trens de potenciais.

Através destes testes, verificamos diferenças significativas entre as fases do ciclo, no que se refere à duração dos trens de potenciais, frequência de potenciais de ação no trem e número de potenciais em cada trem. O parâmetro amplitude média dos potenciais mostrou diferenças significativas entre as fases e regiões estudadas. Os parâmetros duração dos períodos de silêncio entre os trens e amplitude máxima dos potenciais de ação não mostraram diferenças significativas. Entre os cornos uterinos direito e esquerdo não houve diferenças significativas, o mesmo ocorrendo entre os pontos médio e superior. Nas regiões estudadas, as diferenças se verificaram entre a inferior e a média e entre as regiões inferior e superior.

As tabelas 4 a 7 caracterizam cada fase do ciclo estral da rata, especificando o ponto onde determinado parâmetro foi medido.

As tabelas 8 a 14 mostram os dados computados para cada parâmetro estudado, acompanhados, cada qual, do respectivo resultado da análise de variância, coeficiente de

variabilidade e teste de Tukey, quando este se fez necessário.

B. Diferenças e caracterização da atividade elétrica nas fases do ciclo estral

PROESTRO - Esta fase, cujo esfregaço vaginal apresenta um padrão histológico com predominância de células epiteliais nucleadas, caracteriza-se por uma atividade elétrica bastante variável. Podemos observar, no proestro tanto períodos de absoluto silêncio, em que não registramos nenhum potencial (Figura 1), com períodos de atividade difusa; em que os seis eletrodos passaram a registrar simultaneamente uma atividade intensa, com potenciais rápidos, de baixa amplitude e alta frequência (Figura 2).

A atividade em trens, observada nas outras fases, também ocorreu no proestro, entre os períodos de silêncio e os de atividade difusa. Nas figuras 3 e 4 podem-se observar trens com baixa frequência de potenciais. Estes tem baixa amplitude e se propagam em direção ascendente (da extremidade vaginal para a extremidade ovariana do corno uterino). Na figura 5 observamos propagação no sentido contrário, ou seja, a atividade que está iniciando em algum ponto na extremidade ovariana do corno uterino, propaga-se em direção à extremidade vagina.

Na figura 3 pode-se notar que, embora os potenciais se agrupem, eles não o fazem em trens fusiformes, como ocorre nas figuras 4 e 5, mas permanecem "espalhados", num padrão que poderia ser considerado intermediário entre atividade difusa e atividade em trens.

Na figura 6, a baixa amplitude dos potenciais de ação também é uma constante. Nesta ilustração não observa

FIGURA 1

Atividade elétrica miométrial durante o proes-
tro: Registro nas regiões inferior direita (ID) e inferior
esquerda (IE). Pode-se observar em A,B,C, e D que a ativida-
de em trens de potenciais diminui gradativamente por diminui-
ção da amplitude e número de potenciais em cada trem, dando
lugar a um longo período de silêncio ($\bar{D} = 200$ min.).

O traçado inferior da figura 1D mostra o regis-
tro da atividade elétrica na região inferior esquerda após
200 min. Após o período de silêncio que, neste caso, durou
200 min. observa-se, o restabelecimento da atividade em
trens na região inferior esquerda do corno uterino conside-
rado (IE).

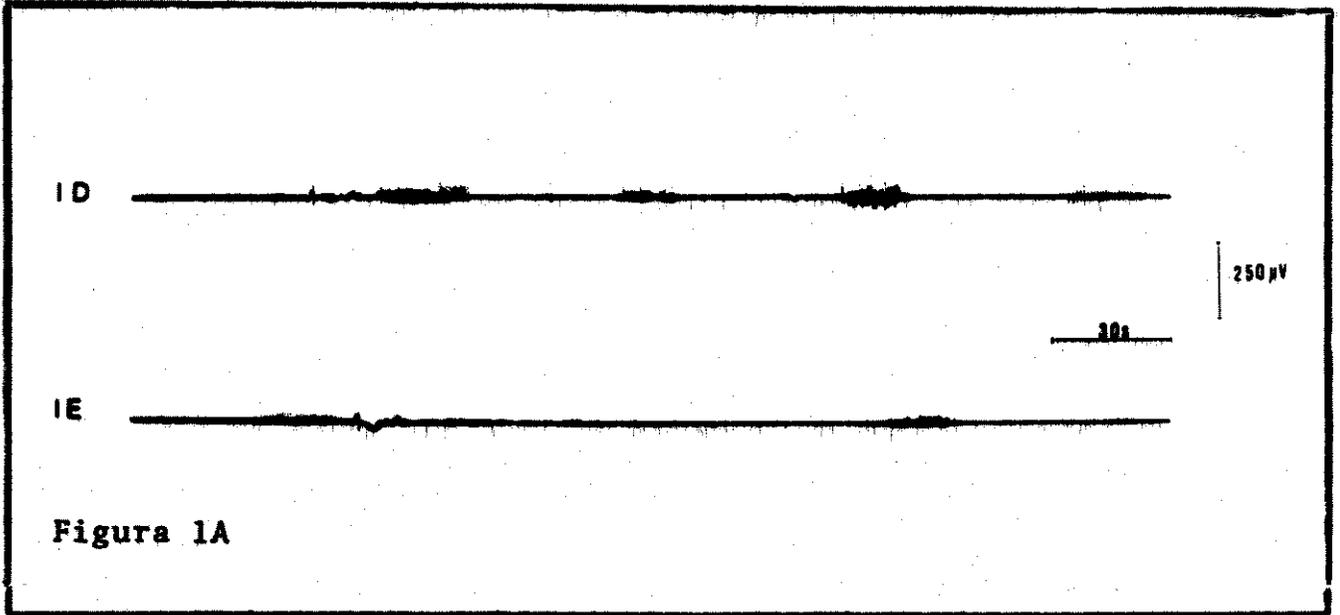


Figura 1A

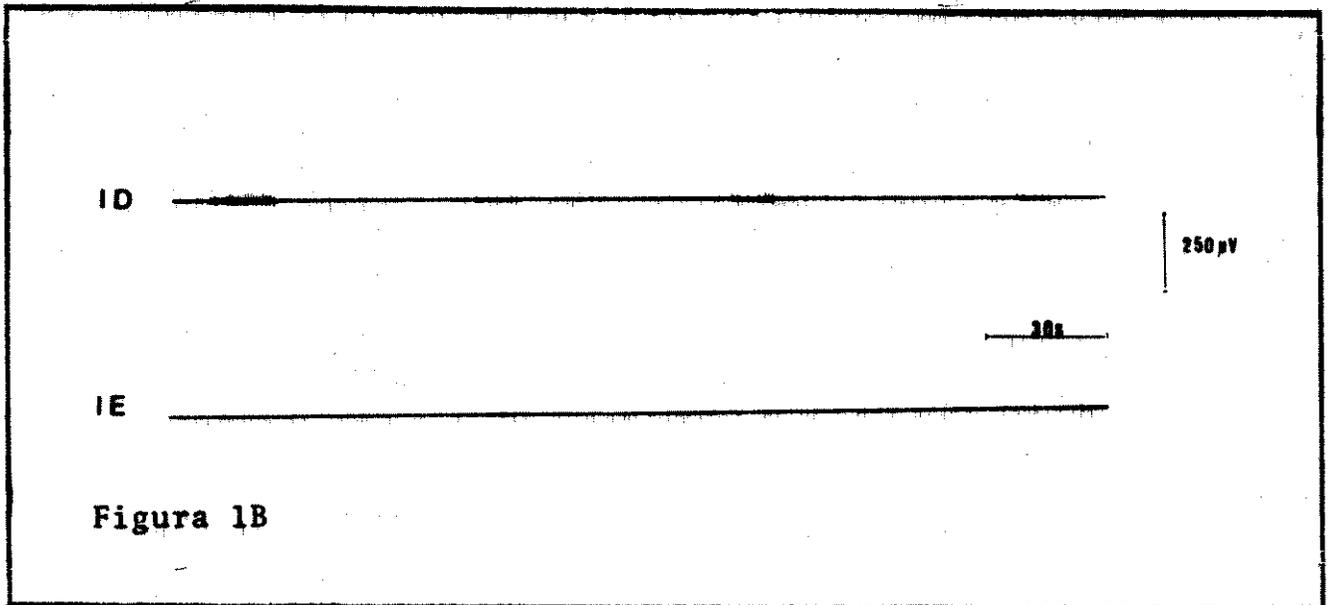


Figura 1B

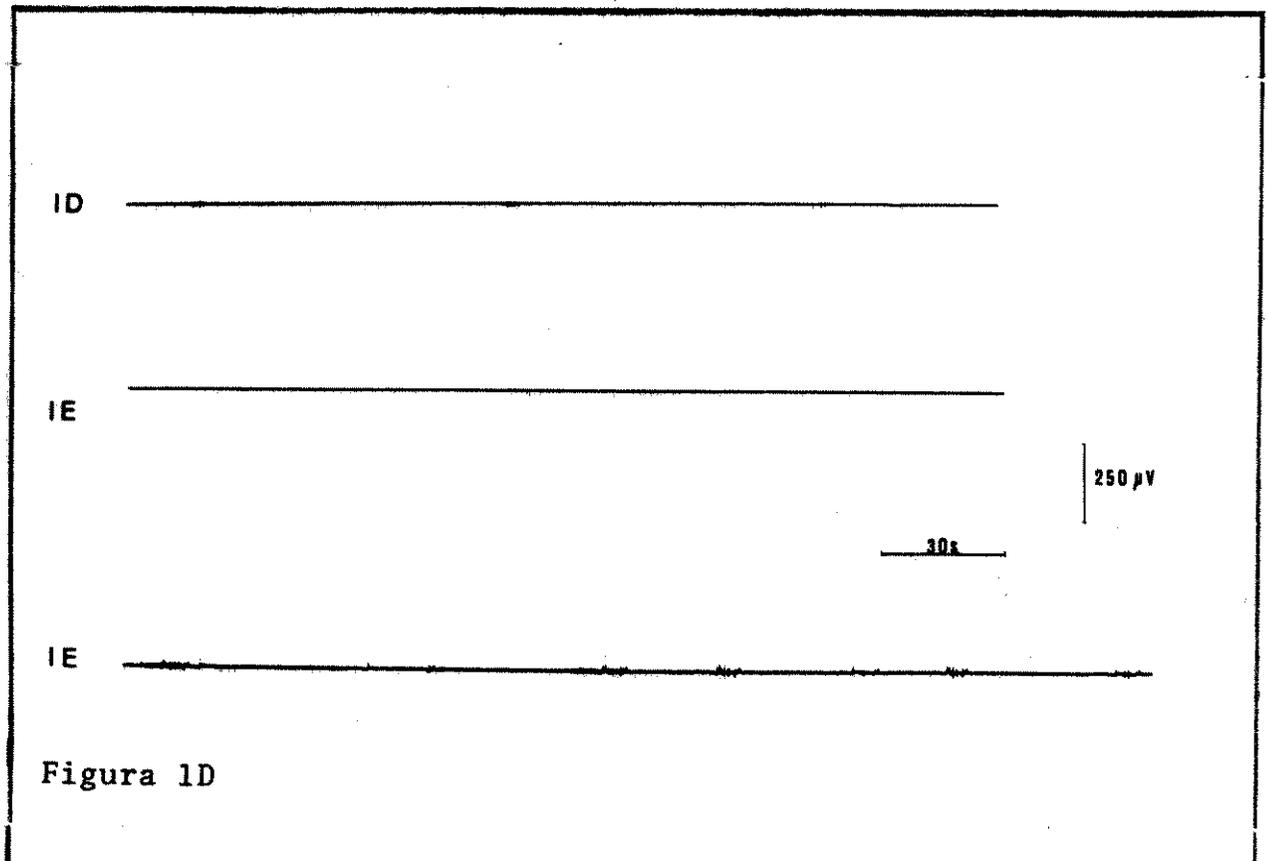
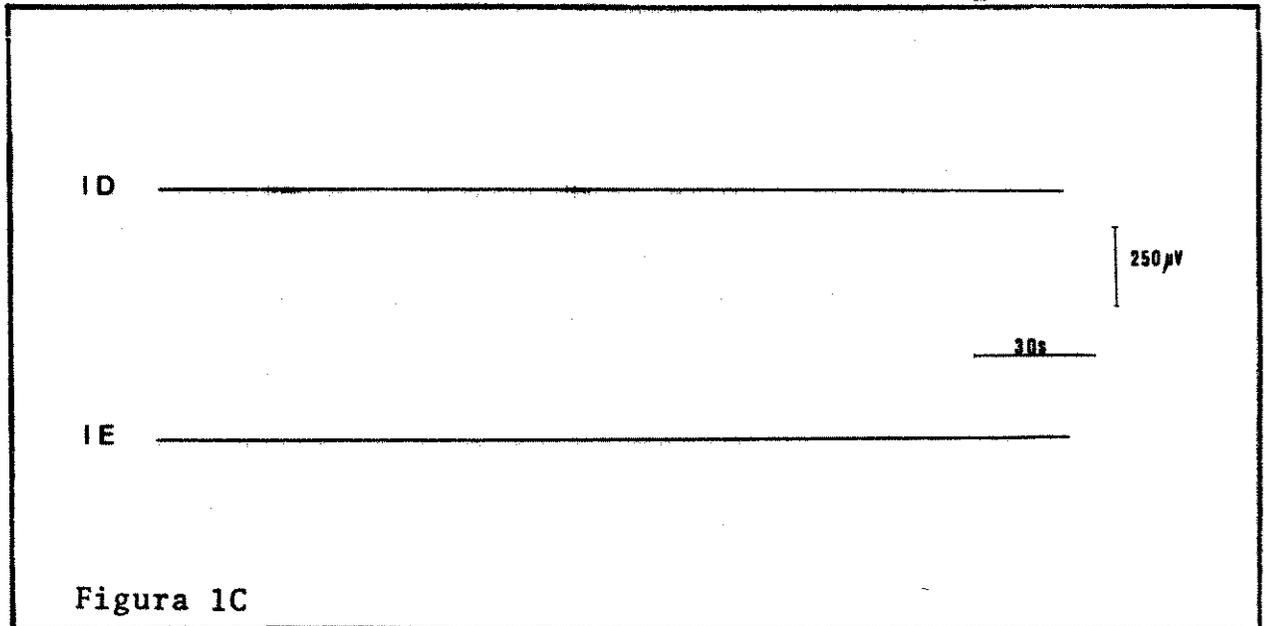


FIGURA 2

Atividade elétrica miometrial durante o proes-
tro: Nesta figura exemplificamos a atividade difusa descrita
no texto. Os potenciais de ação tem amplitude relativamente
baixa e se distribuem difusamente, nunca se agrupando em
trens fusiformes. O padrão é idêntico em todas as regiões es-
tudadas, durante o período em que este tipo de atividade se
estabeleceu. O registro da região inferior direita (ID) foi
incluído para mostrar que a atividade difusa, quando ocorre,
o faz simultaneamente em ambos os cornos uterinos.

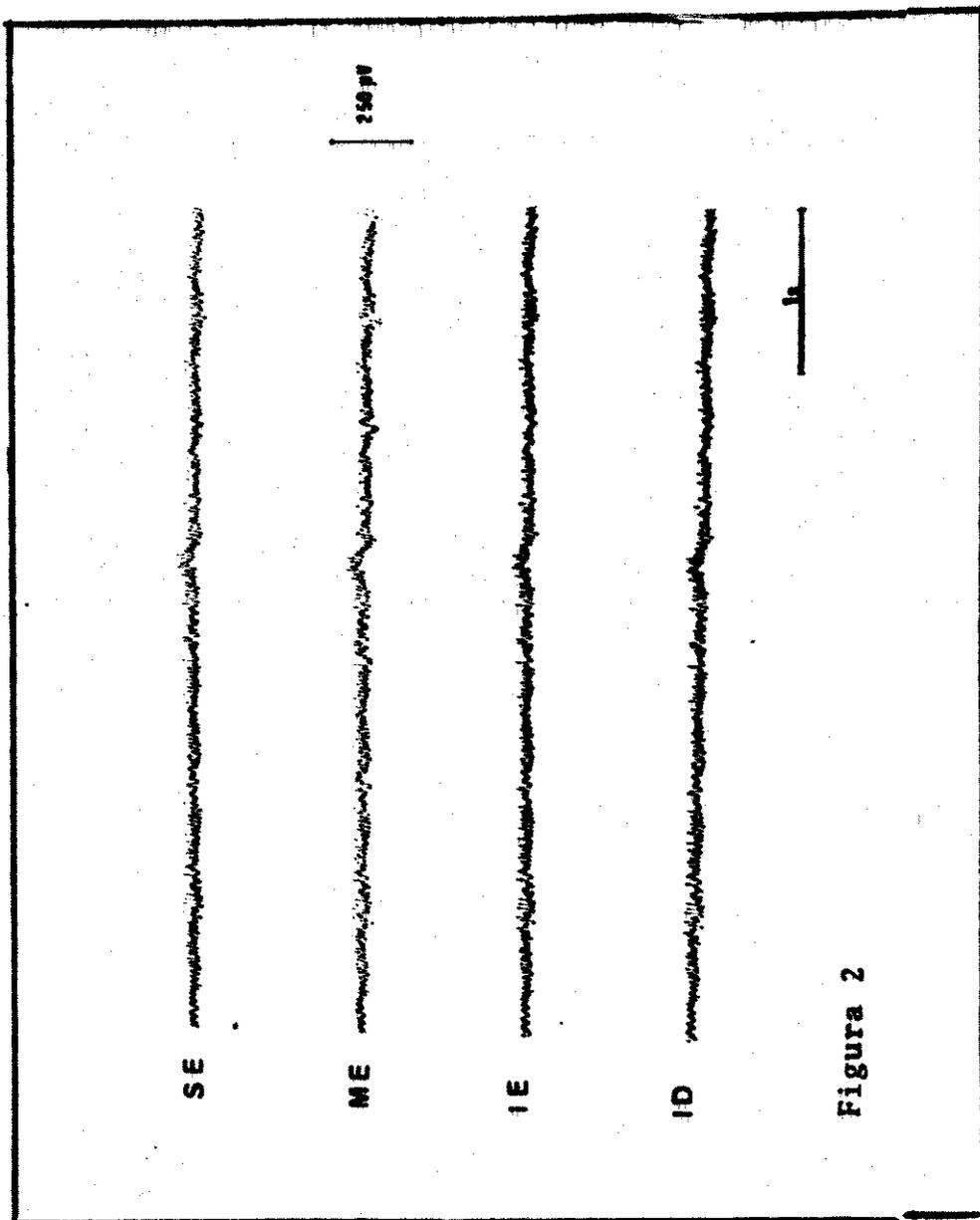


FIGURA 3

Atividade elétrica miometrial durante o proestro: Nesta figura estão apresentados registros do corno uterino esquerdo. Pode-se observar que a propagação da atividade é ascendente e que os potenciais tem amplitude relativamente baixa.

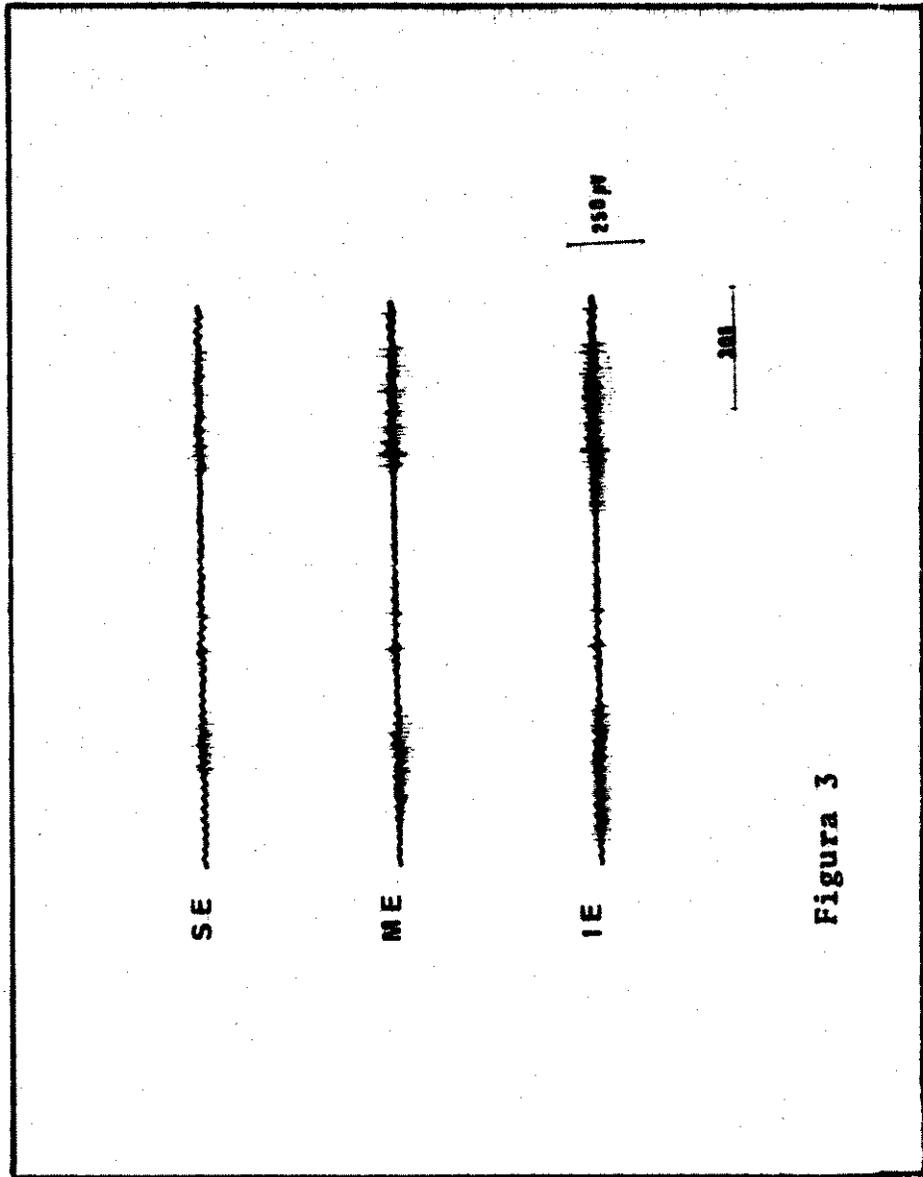


Figura 3

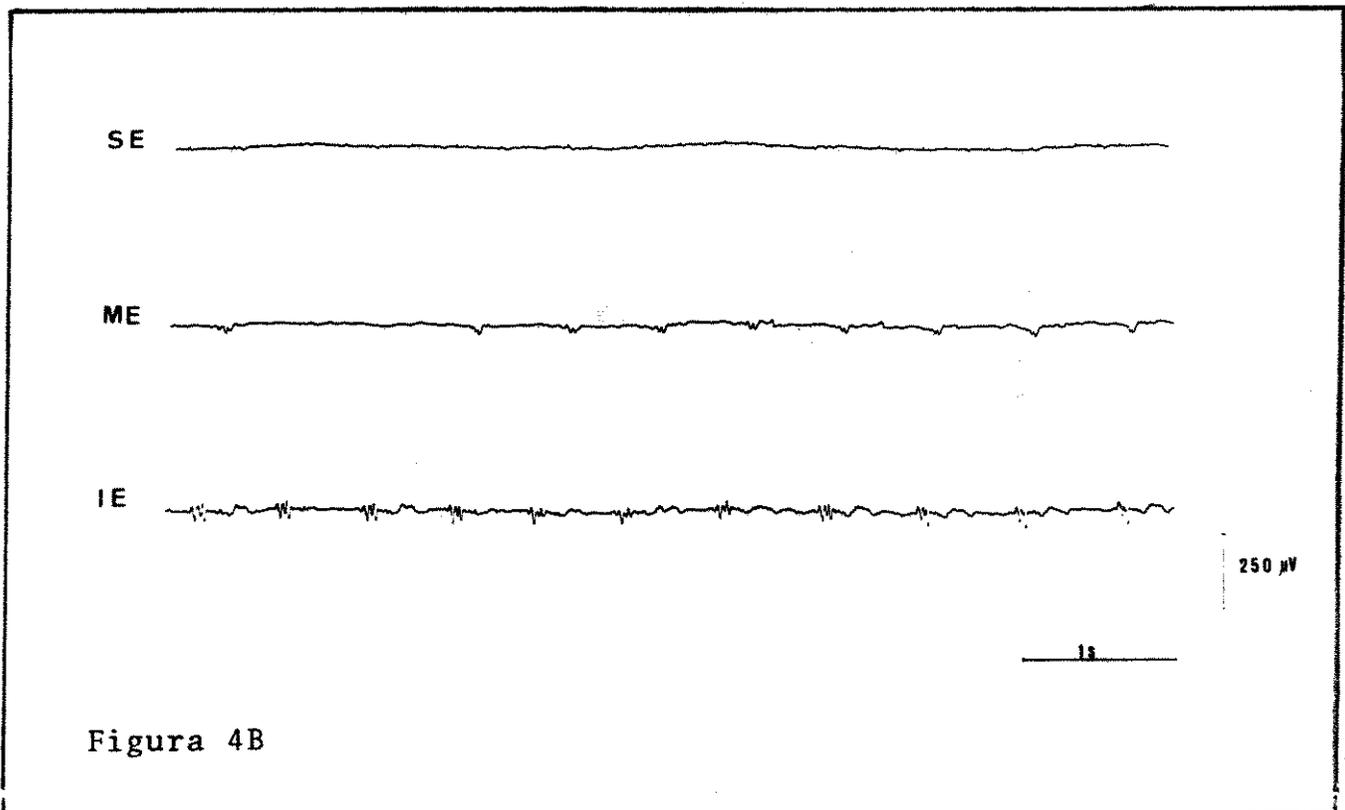
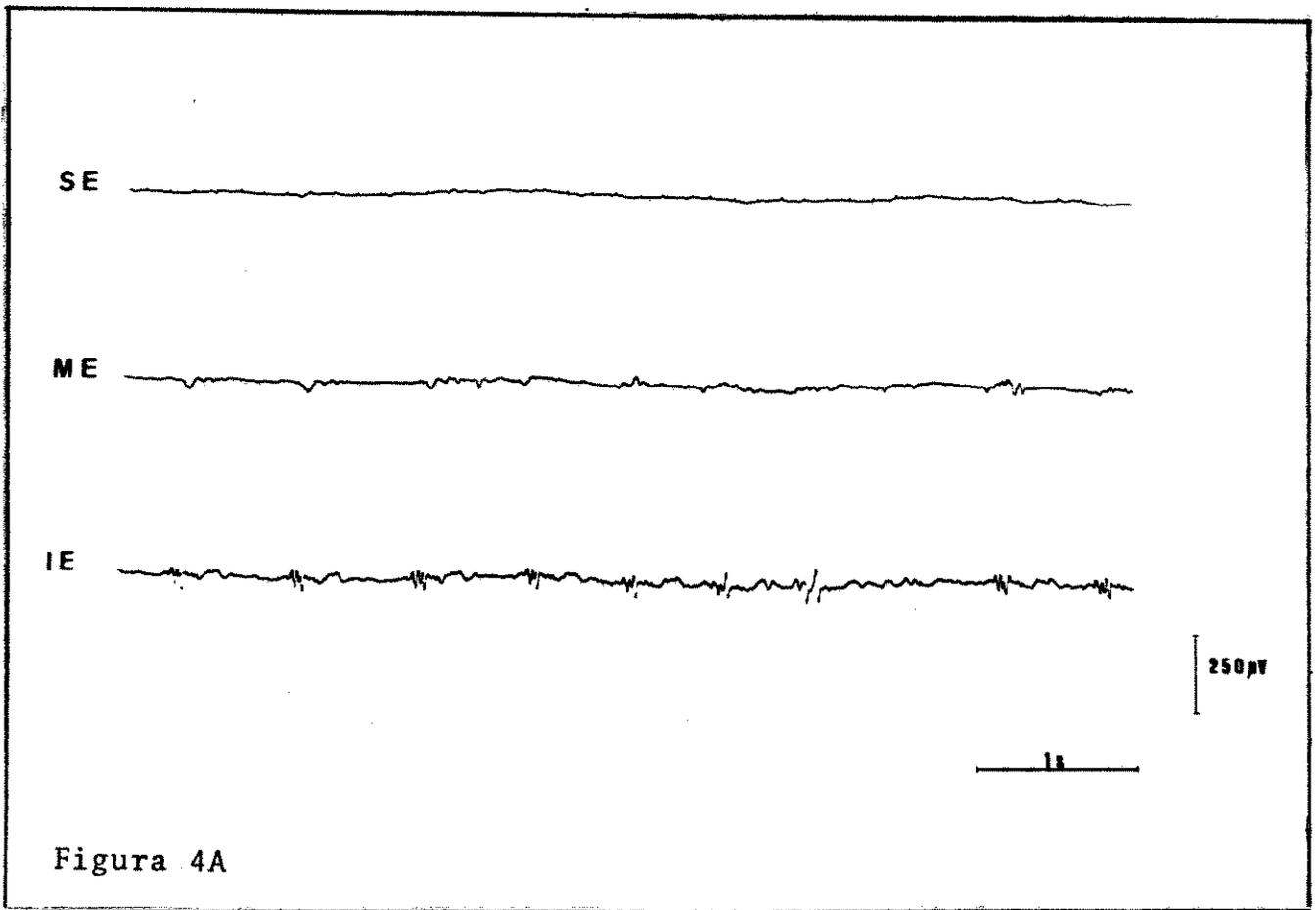
FIGURA 4

Atividade elétrica durante o proestro: A sequência de traçados, feitas com o papel em maior velocidade (34mm = 1s), mostra a sequência temporal da excitação das regiões estudadas. Em A e B apenas os eletrodos inferiores (IE) e médio (ME) registraram alterações elétricas, sendo a amplitude e frequência dos potenciais maior na região inferior que na média.

Observa-se que a amplitude dos potenciais aumenta gradativamente ao mesmo tempo que, em C, o eletrodo superior passa a registrar atividade elétrica das células mio-metriais.

Neste caso, portanto, a propagação foi ascendente.

Em D observa-se a finalização do trem de potenciais em todos os eletrodos registradores.



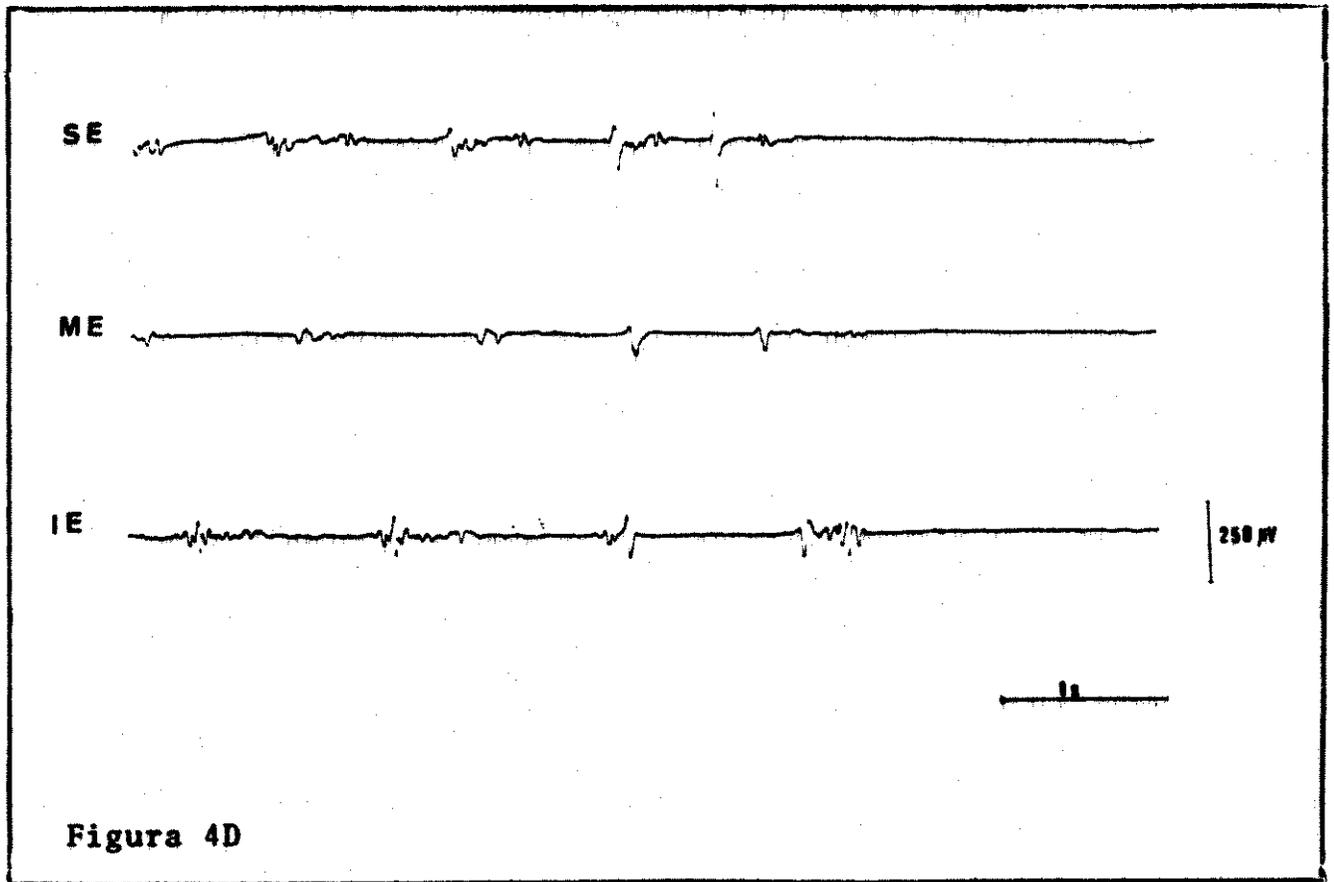
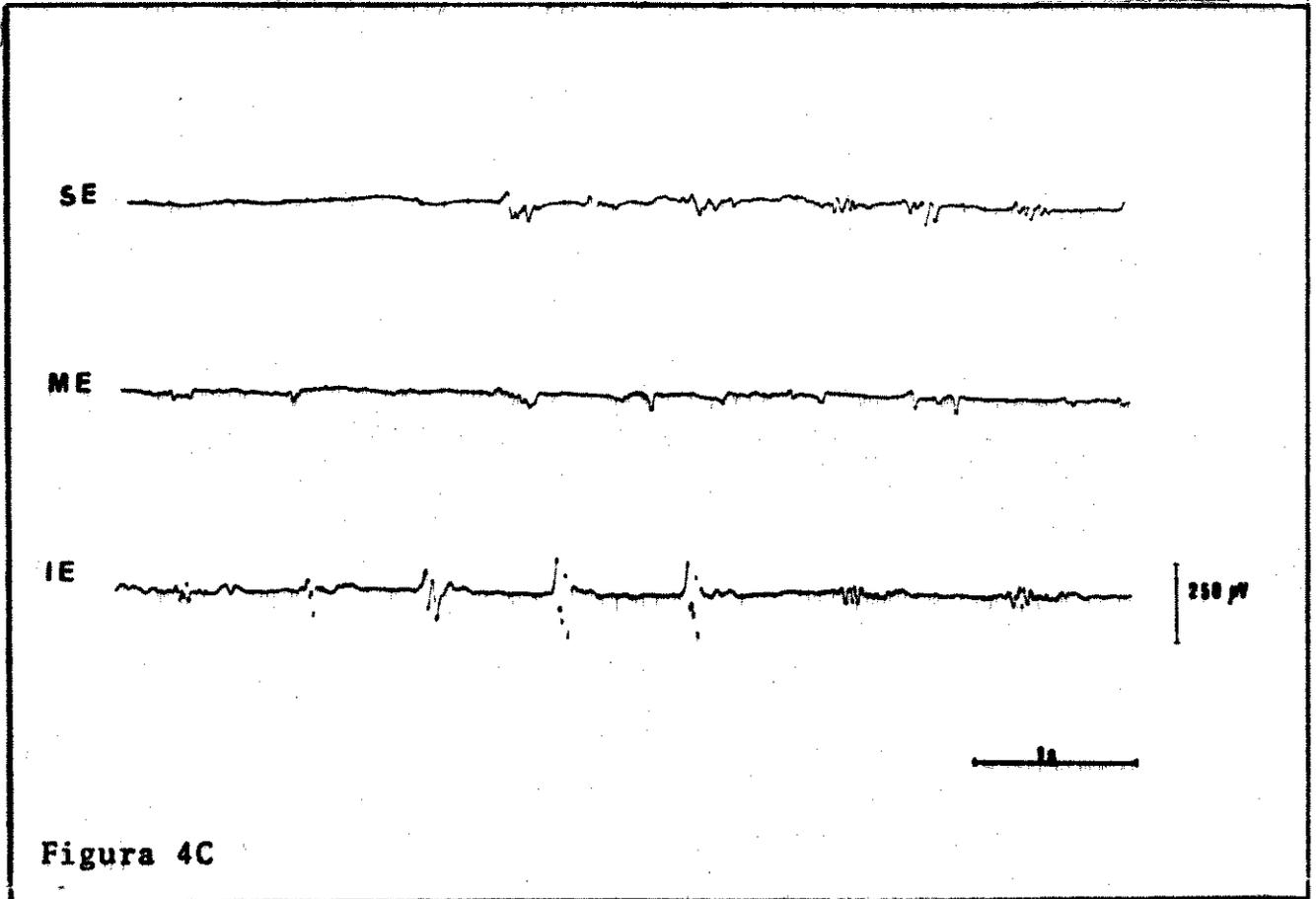


FIGURA 5

Atividade elétrica em trens de potenciais durante o proestro: Observar que a atividade é registrada inicialmente apenas pelo eletrodo superior (SE). Em seguida esta atividade começa a aparecer também no eletrodo médio (ME), mas não chega a ser captada pelo eletrodo inferior (IE). Isto leva a crer que a atividade elétrica está se originando em algum ponto na região superior do corno uterino considerado, propagando-se em direção descendente sem, entretanto, atingir sua extremidade inferior.

Deve-se notar também a baixa amplitude e frequência dos potenciais de ação.

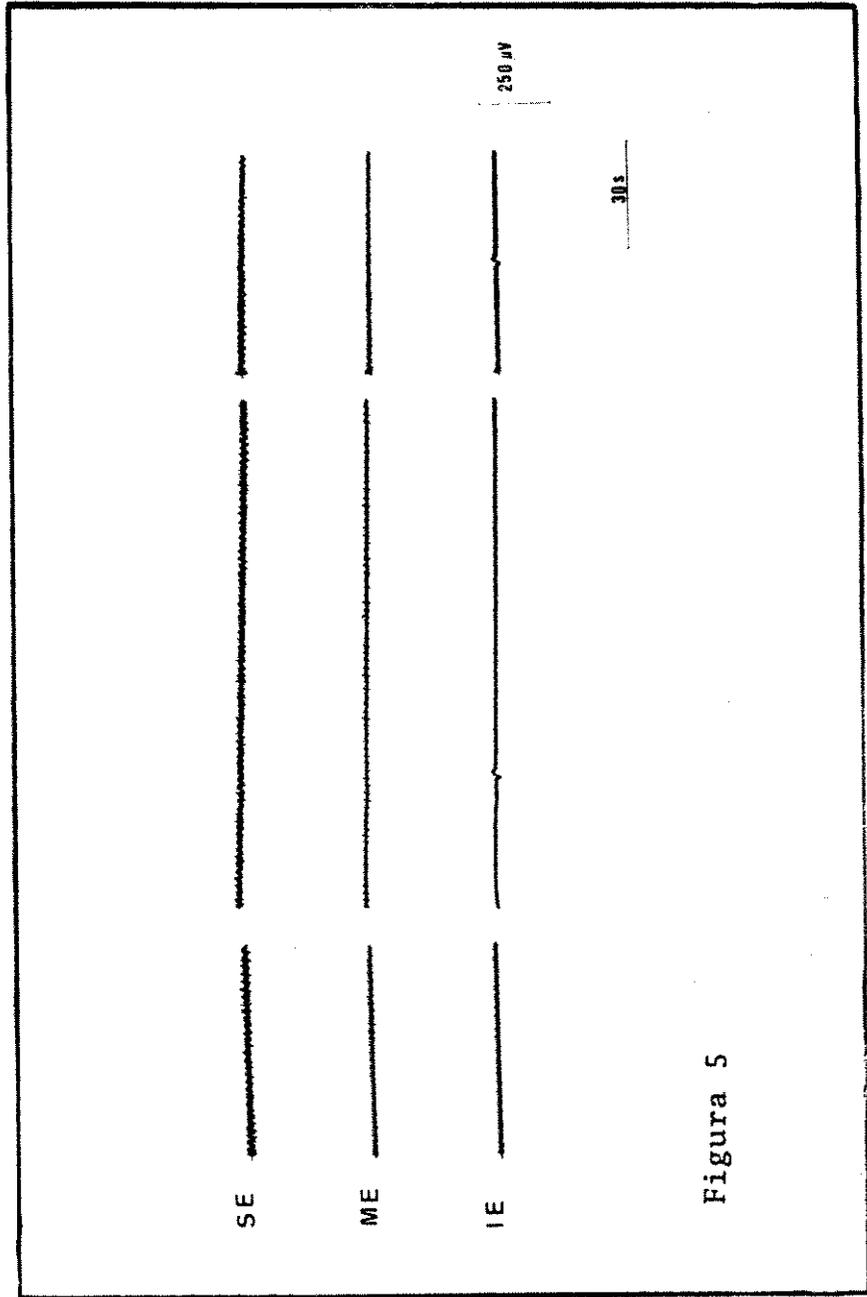


Figura 5

FIGURA 6

Atividade elétrica miometrial durante o proes-
tro: Esta figura mostra o registro da atividade na região superior do corno uterino direito (SD) em em três regiões do corno uterino esquerdo (SE, ME e IE).

Observa-se que os potenciais tem baixa amplitude e não se propagam. Entretanto, há sincronismo na atividade de ambos os cornos uterinos, pois a atividade ocorre simultaneamente nas regiões superiores direita e esquerda enquanto que os outros eletrodos (ME, IE) permanecem silentes.

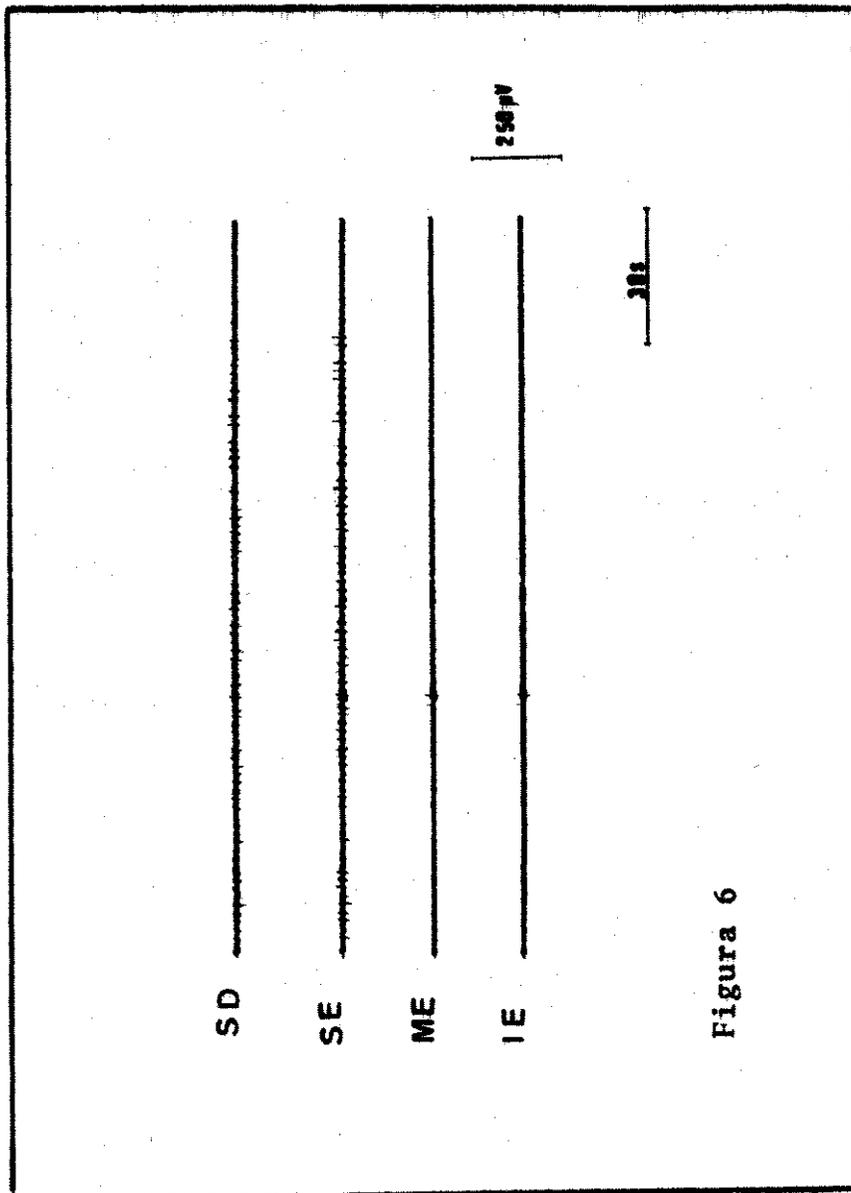


Figura 6

mos propagação da atividade elétrica, que foi registrada apenas na extremidade ovariana dos cornos uterinos, uma vez que os eletrodos médio e superior permaneceram silentes. Ainda nesta figura, observamos sincronismo da atividade na extremidade ovariana de ambos os cornos uterinos. Podemos notar que a atividade se inicia e se finda, no mesmo instante, nos eletrodos superiores direito e esquerdo. Devemos perceber também que, neste registro, a atividade mostrou o mesmo padrão descrito para a figura 3, que poderia ser considerado como intermediário entre atividade difusa e atividade em trens.

Na tabela 4 foram colocados os valores médios de todos os parâmetros obtidos no proestro. O número de potenciais em cada trem foi 56 e a duração dos trens 14 segundos, o que nos permite dizer que a frequência média de potenciais, nos trens, foi de 4 pot/s. A amplitude média dos potenciais foi de 131 μ V.

Assim sendo, o proestro pode ser caracterizado como sendo uma fase de atividade elétrica extremamente variável, como exemplificado nas figuras 1 a 6.

ESTRO - Nesta fase, o esfregaço vaginal apresentou células epiteliais queratinizadas enquanto a atividade elétrica se mostrou regular e sincrônica.

Esta regularidade foi determinada pela duração dos trens de potenciais e dos períodos de silêncio entre eles que foi bastante constante. Este fenômeno está ilustrado nas figuras 7 e 8.

Na figura 7 observamos também sincronismo da atividade registrada nas extremidades inferiores de ambos os cornos uterinos.

Na figura 8 torna-se evidente a propagação da atividade em direção à extremidade tubária do corno uterino.

TABELA 4 - Médias dos valores obtidos no proestro.

parâmetros	frequência de trens (trens/min)	duração média dos trens (s)	número de potenciais em cada trem	frequência de potenciais (pot/seg)	amplitude máxima de potenciais (μv)	amplitude de média de potenciais (μv)	período de silêncio entre os trens (seg)	Noc	N _T
SD	0,47	9,75	14,00	3,50	62,50	37,50	130,50	3	6
MD	0,70	14,30	59,82	4,19	475,00	150,00	101,17	3	6
ID	0,76	15,34	76,66	4,71	370,83	109,29	52,19	6	6
SE	0,32	11,05	42,25	4,79	329,17	145,83	168,94	3	6
ME	0,48	15,47	57,10	3,83	325,00	150,00	122,37	5	6
IE	0,82	20,25	89,32	4,36	450,00	194,17	58,78	6	6

Noc = número de registros em que ocorreu atividade elétrica miométrial

N_T = número total de observações.

FIGURA 7

Atividade elétrica no estro: Nesta figura são mostrados registros das regiões inferiores dos cornos uterinos direito (ID) e esquerdo (IE).

Verifica-se, atividade regular e sincrônica característica desta fase do ciclo.

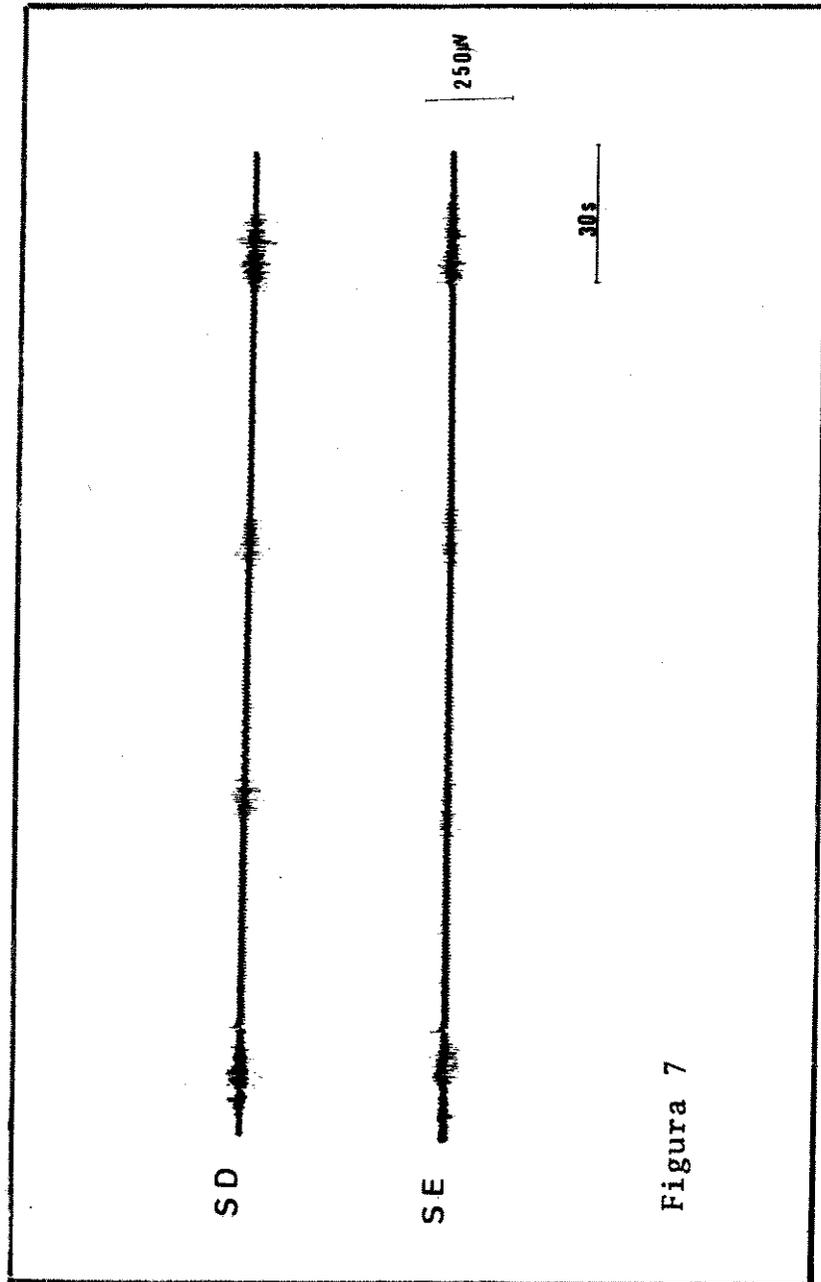


Figura 7

FIGURA 8

Atividade elétrica durante o estro: Esta figura mostra o registro da atividade elétrica nas três regiões estudadas de um mesmo corno uterino (SE, ME, IE). Observa-se que a amplitude dos potenciais de ação é maior na região inferior, diminuindo progressivamente. Além disso, os potenciais aparecem primeiro no eletrodo inferior, imediatamente depois no eletrodo médio e finalmente no eletrodo superior. Isto indica que a atividade está sendo gerada em algum ponto localizado na região inferior do corno uterino propagando-se em direção ascendente.

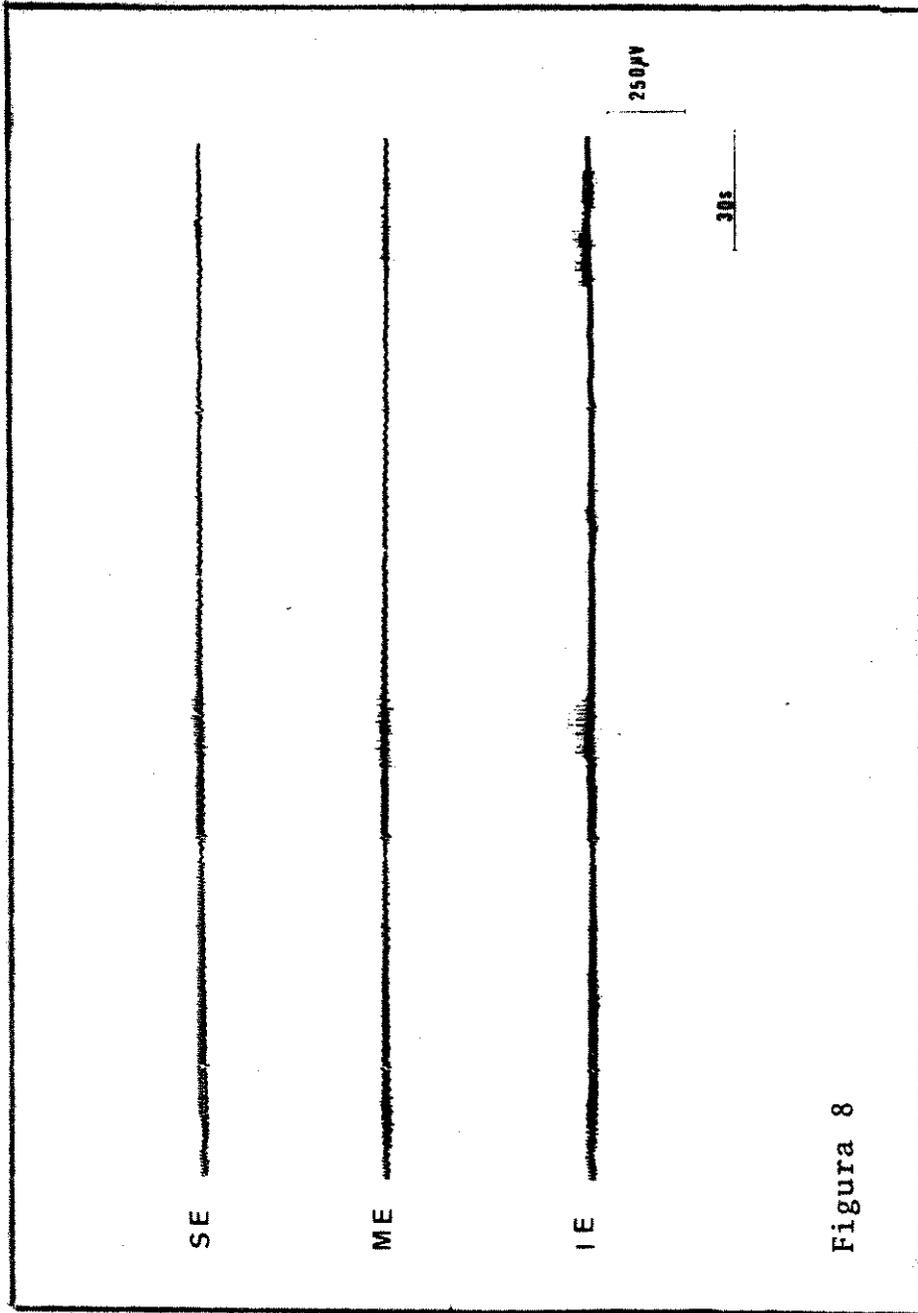


Figura 8

No estro, a atividade elétrica sempre se iniciou na extremidade vaginal de cada corno, propagando-se em direção à extremidade tubária, podendo atingi-la ou não.

Nesta fase, observamos também, com muita frequência, fusão de dois ou mais trens, originando um trem mais longo. Isto também pode ser visto nas figuras 7 e 8, referentes a esta fase.

A tabela 5 mostra as médias dos valores obtidos no estro. Nesta fase a duração média dos trens foi de 23 segundos e o número médio de potenciais no trem foi de 45. Isto nos permite dizer que a frequência de potenciais no trem foi de 3 pot/s. enquanto que a amplitude média dos potenciais foi de $222\mu\text{V}$.

Assim, as figuras 7 e 8, juntamente com os dados da tabela 5 caracterizam esta fase como de atividade regular, sincrônica e propagável, sendo esta última predominantemente ascendente.

METAESTRO - No metaestro, o aspecto histológico do esfregaço vaginal foi de células epiteliais nucleadas queratinizadas e leucócitos em quantidades equivalentes.

No que se refere à atividade elétrica miométrial, podemos dizer que, nesta fase, também ocorre fusão de vários trens de potenciais, formando trens bastante longos como aqueles que foram registrados pelos eletrodos inferiores das figuras 9 e 10. Conseqüentemente, a duração dos trens foi maior nesta fase.

Na tabela 6 estão as médias dos dados obtidos no metaestro. Nesta fase a duração média dos trens foi de 19 seg. e o número médio de potenciais em cada trem foi 106, o que nos leva a afirmar que a frequência média de potenciais nos trens foi de 6 pot/s. enquanto que a amplitude média dos potenciais foi $310\mu\text{V}$.

TABELA 5 - Médias dos valores obtidos no estro

parâmetros	freqüência de trens (trens/min)	duração média dos trens (s)	número de potenciais em cada trem	freqüência de potenciais (pot/seg)	amplitude máxima de potenciais (v)	amplitude de média de potenciais (v)	período de silêncio entre os trens (seg)	Noc	N _T
SD	0,16	24,44	19,10	1,07	271,66	108,33	153,96	3	6
MD	0,37	20,68	53,29	3,38	243,75	112,50	85,62	4	6
ID	0,82	10,44	40,41	3,27	445,83	404,17	68,84	6	6
SE	0,88	24,31	28,46	2,32	315,00	125,00	111,43	3	6
ME	0,50	38,11	33,75	1,17	300,00	112,50	132,18	2	6
IE	0,88	17,43	93,31	5,86	477,67	466,67	50,08	6	6

Noc = número de registros em que ocorreu atividade elétrica miométrial

N_T = número total de observações

FIGURA 9

Atividade elétrica durante o metaestro: A figura mostra dois registros subsequentes da atividade elétrica miometrial na região inferior do corno uterino direito de um mesmo animal. Pode-se observar que o fenômeno da fusão de trens é uma constante, fazendo com que a duração dos trens seja maior que nas outras fases.

Note-se também a grande amplitude dos potenciais de ação.

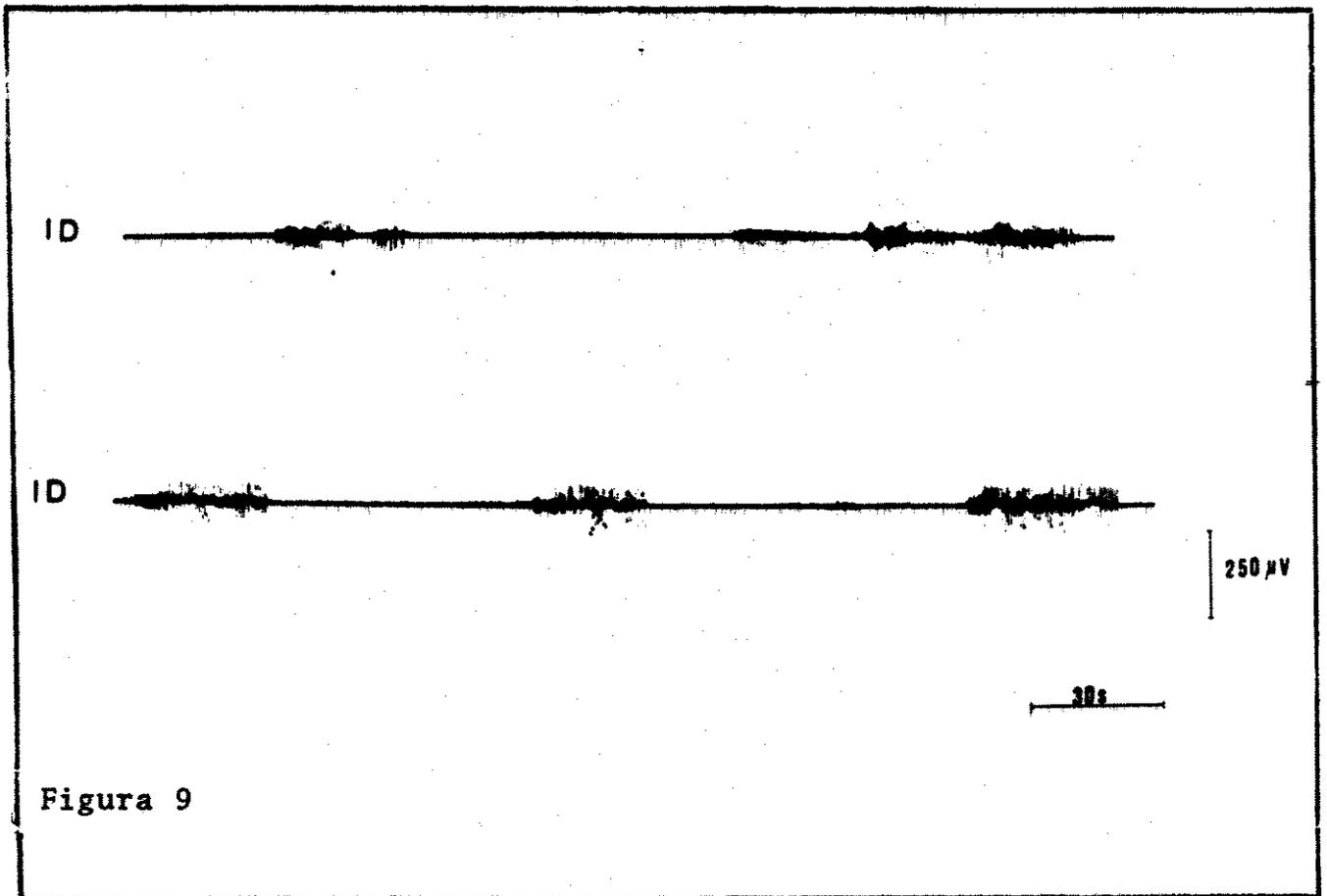


Figura 9

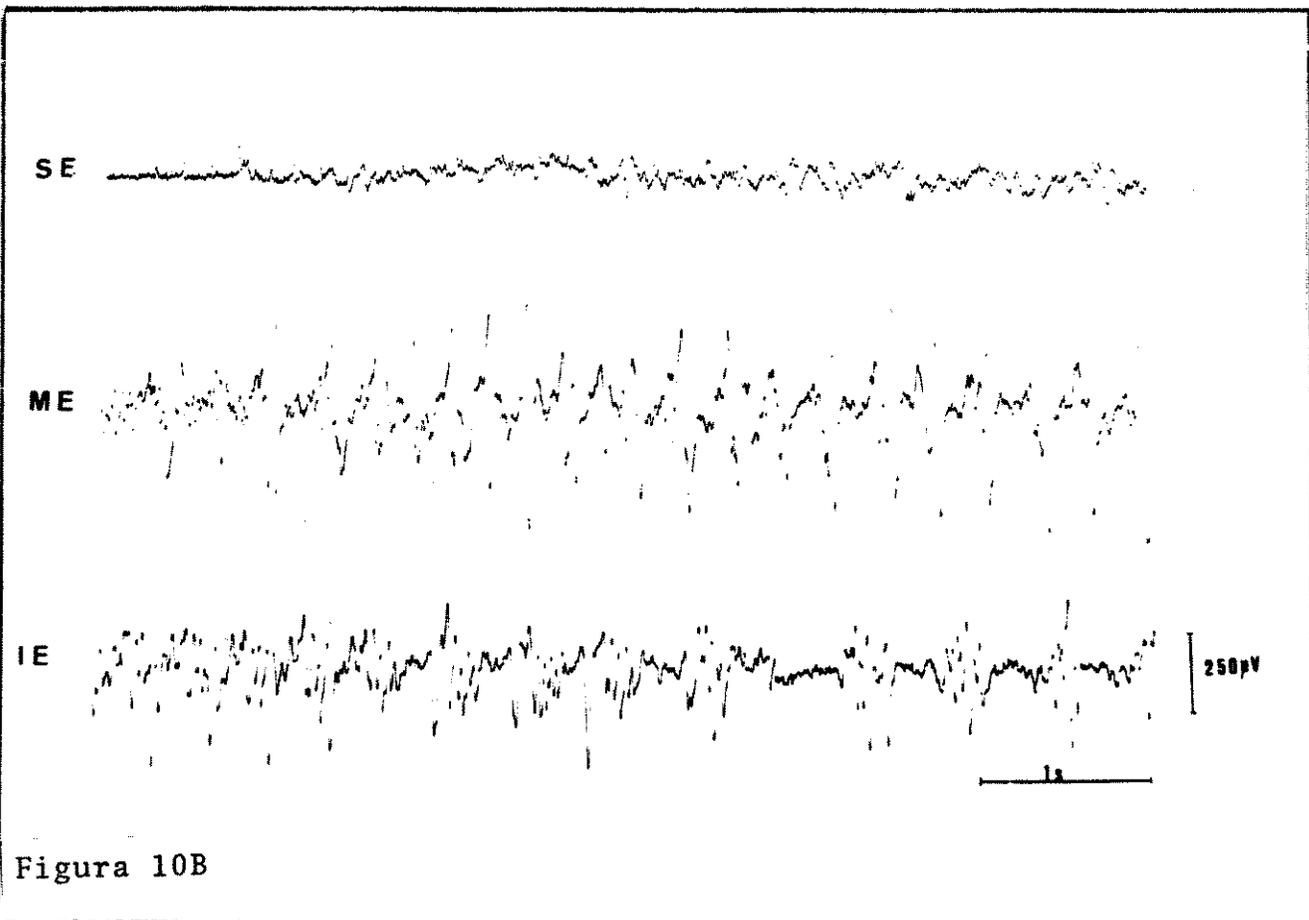
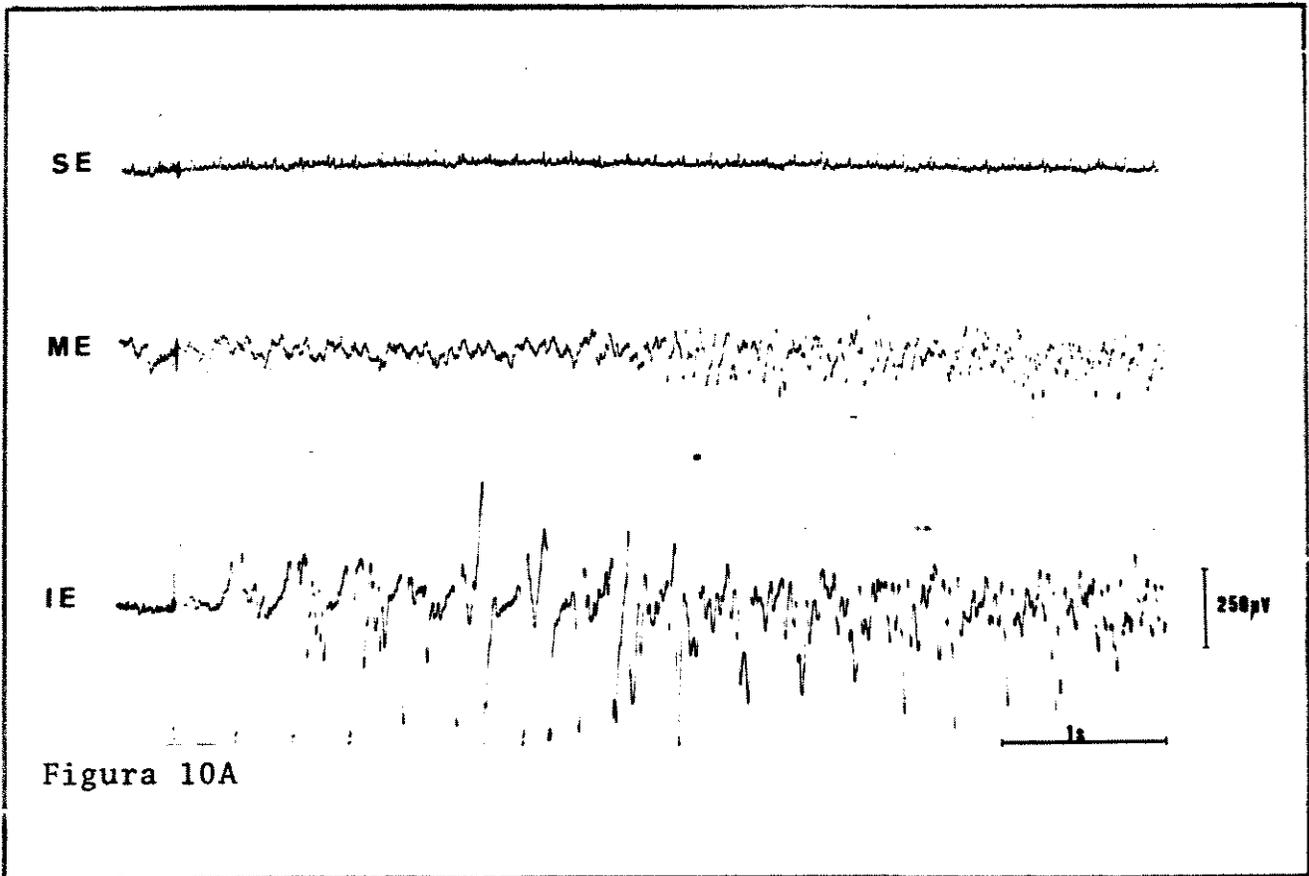
FIGURA 10

Atividade elétrica durante o metaestro: Registrou-se aqui a atividade em três regiões do corno uterino esquerdo (SE, ME, IE).

Em A pode-se observar que os grandes potenciais de ação aparecem apenas no eletrodo inferior, enquanto que o eletrodo médio registra somente potenciais de menor amplitude, ao mesmo tempo que no eletrodo superior os picos apresentam amplitude menor ainda.

Em B observa-se que a amplitude dos potenciais registrados pelo eletrodo médio aumentou bastante. Ao mesmo tempo as oscilações do potencial também são maiores no eletrodo superior.

Em C ilustra-se a extinção progressiva da atividade, que vai desaparecendo em todos os eletrodos.



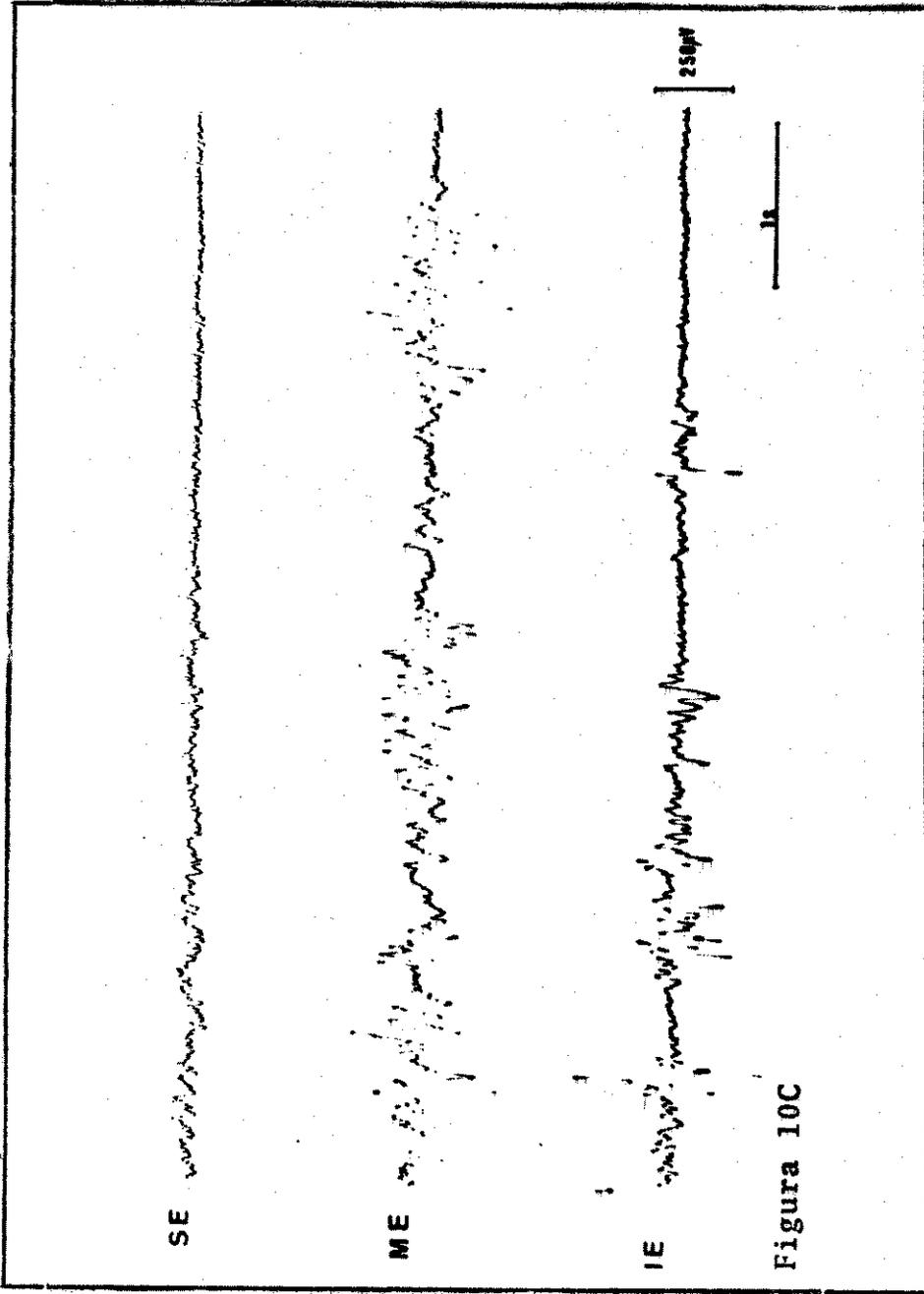


Figura 10C

TABELA 6 - Médias dos valores obtidos no metaestro

parâmetros pontos	frequência de trens (trens/min)	duração média dos trens (s)	número de potenciais em cada trem	frequência de potenciais (pot/seg)	amplitude máxima de potenciais (μv)	amplitude média de potenciais (μv)	período de silêncio entre os trens (seg)	Noc	N_T
SD	0,71	14,29	103,68	4,03	181,25	181,25	97,80	4	6
MD	1,11	23,20	132,02	4,99	318,33	291,67	71,14	6	6
ID	1,00	19,99	97,68	5,30	455,83	316,67	53,02	6	6
SE	1,11	12,31	56,54	5,01	196,25	187,50	97,78	4	6
ME	1,36	22,97	123,38	7,25	400,00	381,25	49,12	4	6
IE	1,16	21,13	122,20	7,50	570,00	504,17	69,88	6	6

Noc = número de registros em que ocorrem atividade elétrica miométrial

N_T = número total de observações

Na figura 10, podemos observar um trem de potenciais típico do metaestro. A grande amplitude dos potenciais de ação é característica da fase e a propagação da atividade em direção à extremidade tubária do corno uterino é evidente.

DIESTRO - No diestro, o padrão do esfregaço vaginal é de predominância de leucócitos, enquanto que a atividade elétrica é local e assincrônica, como ilustrado nas figuras 11 e 12. A amplitude média dos potenciais de ação é usualmente baixa (ao redor de 160 μ V) mas, ocasionalmente, podem surgir potenciais de grande amplitude, como exemplificado na figura 12.

O número médio de potenciais em cada foi de 49 enquanto que a duração média dos trens foi de 12 segundos. Consequentemente, a frequência média de potenciais foi 4 pot/s.

Na tabela 7 estão computadas as médias dos valores obtidos no diestro. Esta, juntamente com as figuras 11 e 12, caracterizam a atividade elétrica típica desta fase do ciclo estral da rata.

C. Análise das variações dos diversos parâmetros nas fases do ciclo estral da rata

A figura 13 ilustra as variações da duração dos trens de potenciais nas quatro fases do ciclo. Este parâmetro mostrou diferenças significativas entre o diestro e o estro, entre o proestro e o estro, e entre o diestro e o metaestro (também tabela 8). A duração média dos trens foi menor no diestro (12 segundos), aumentou no proestro (14 segundos), para alcançar um máximo no estro (22 segundos), diminuindo novamente no metaestro (19 segundos), embora a diferença entre estas duas últimas fases não tenha sido significativa.

FIGURA 11

Atividade elétrica durante o diestro: Atividade elétrica em três regiões do corno uterino direito.

O fenômeno mais evidente nesta figura (A e B) é a ausência de propagação da atividade que ocorre apenas na região inferior (ID), enquanto que os outros dois eletrodos permanecem silentes. Aliado a isto, deve-se notar o pequeno número de potenciais no trem e sua baixa amplitude.

Em B, mostra-se o mesmo fenômeno registrado com uma velocidade maior do papel (34 mm = 1s) para que se possa observar com detalhe as características da atividade.

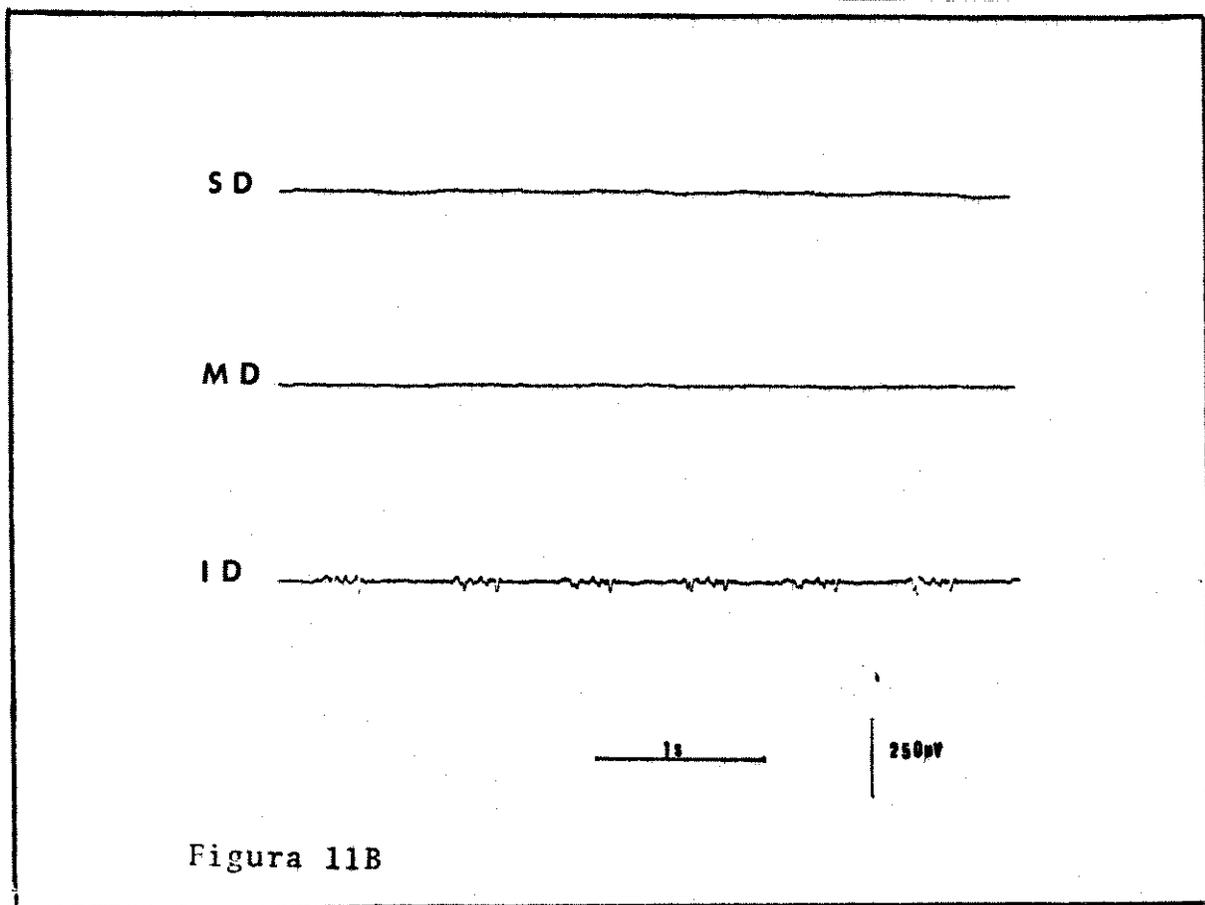
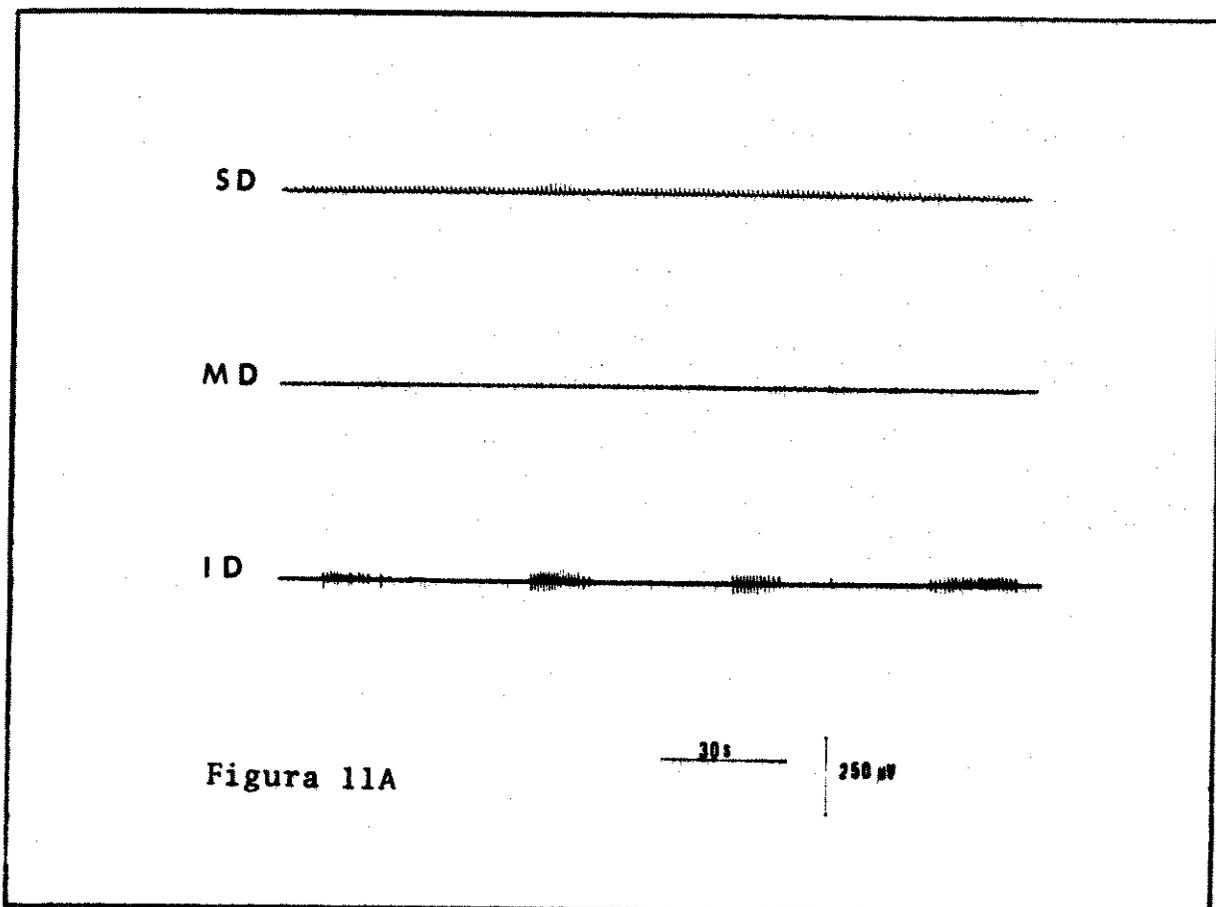


FIGURA 12

Atividade elétrica durante o diestro: Nesta figura demonstra-se a atividade elétrica registrada na região inferior do corno uterino esquerdo. Observam-se os potenciais de grande amplitude que, como explicado no texto, podem surgir nesta fase.

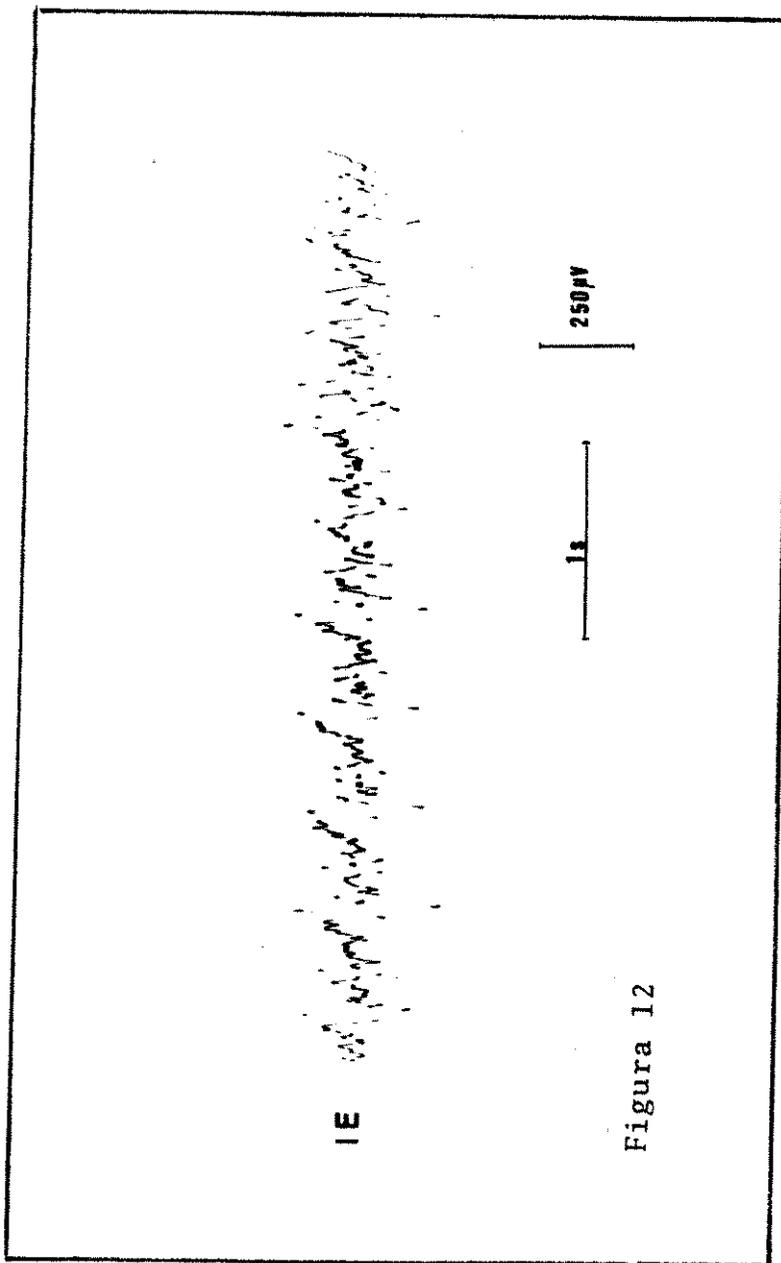


Figura 12

TABELA 7 - Médias dos valores obtidos no diestro

parâmetros	freqüência de trens (trens/min)	duração média dos trens (s)	número de potenciais em cada trem	freqüência de potenciais (pot/seg)	amplitude máxima de potenciais (μ v)	amplitude de média de potenciais (μ v)	período de silêncio entre os trens (seg)	Noc	N _T
SD	1,05	5,75	13,50	2,89	112,50	100,00	170,16	2	6
MD	* 1,68	8,82	41,29	8,23	201,25	120,00	82,25	4	6
ID	0,73	15,81	72,71	4,51	325,83	262,50	107,38	6	6
SE	0,46	8,71	21,06	2,40	80,00	80,00	37,66	2	6
ME	0,94	18,77	56,01	3,07	163,75	206,25	52,22	4	6
IE	0,96	16,02	86,93	4,73	214,17	180,83	59,41	6	6

Noc = número de registros em que ocorreu atividade elétrica miométrial

N_T = número total de observações

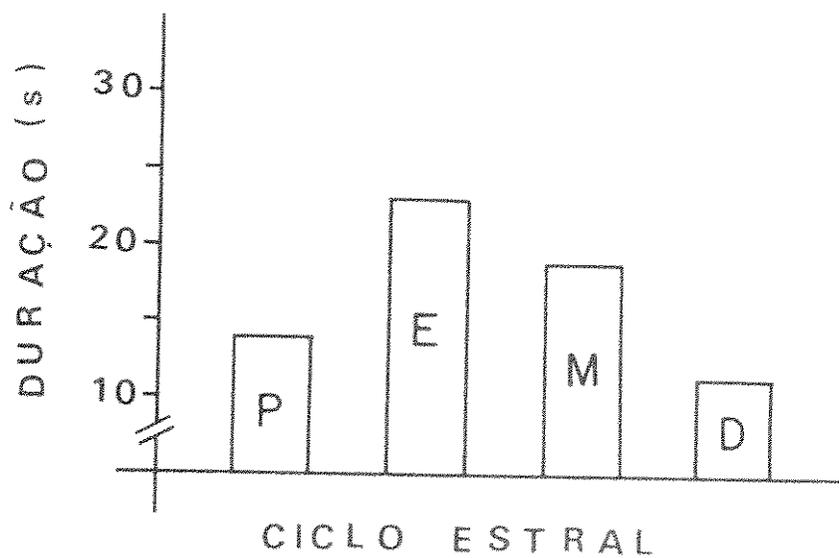


FIGURA 13 - Duração dos trens de potenciais no proestro (P), estro (E), metaestro (M) e diestro (D).

TABELA 8 - Duração dos trens de Potenciais (seg.)

FASES	PROESTRO		ESTRO		METAESTRO		DIESTRO	
	D	E	D	E	D	E	D	E
Cornos Pontos								
S	9,75	11,05	24,44	24,31	14,29	12,31	5,75	8,71
M	14,30	15,47	20,68	38,11	23,20	22,97	8,82	18,77
I	15,34	20,25	10,44	17,43	19,99	21,13	15,81	16,02

CV = 19,60%

Análise de Variância - diferença significativa entre
fases (F = 11,4298, para 3GL.,
p < 0,05)

Teste de Tukey para fases

$$\Delta_{5\%} = 6,687$$

	P	E	M	D	X
P		8,208	-4,622	- 2,047	14,360
E			-3,587	-10,255	22,568
M				6,668	18,982
D					12,3131

A variação do número de potenciais em cada trem está ilustrada na figura 14 e na tabela 9. O número de potenciais em cada trem foi significativamente diferente entre metaestro e todas as outras fases, embora não tenha sido diferente entre diestro e proestro, diestro e estro e proestro e estro. O número de potenciais em cada trem foi praticamente igual no diestro (49 pot/trem), proestro (57 pot/trem) e estro (45 pot/trem) e aumentou abruptamente no metaestro (107 pot/trem).

Portanto, a frequência de potenciais (tabela 10) também foi maior no metaestro (6 pot/s.) embora as diferenças entre esta fase e o diestro (4 pot/s.) e entre metaestro e proestro (4 pot/s.) não tenham sido significativas. Entretanto, a diferença entre estro (3 pot/s.) e metaestro (6 pot/s.) foi significativa. Estas variações podem ser melhor constatadas na figura 15.

A amplitude média dos potenciais é maior no metaestro (310 μ V) e menor no proestro (131 μ V). Esta diminuiu do metaestro para o diestro (158 μ V) e deste para o proestro, aumentando do diestro para o estro (222 μ V) e deste novamente para o estro. As diferenças entre as médias foram significativas entre metaestro e diestro e entre metaestro e proestro. Estes dados estão ilustrados na figura 16 e na tabela 11.

A amplitude média dos potenciais foi o único parâmetro que mostrou diferenças significativas entre os pontos estudados (Figura 17 e tabela 11).

Não observamos diferenças significativas entre fases do ciclo ou regiões do corno uterino nos parâmetros duração dos períodos de silêncio entre os trens, amplitude máxima dos potenciais e frequência de trens de potenciais, como pode ser observado, respectivamente, nas tabelas 12, 13 e 14.

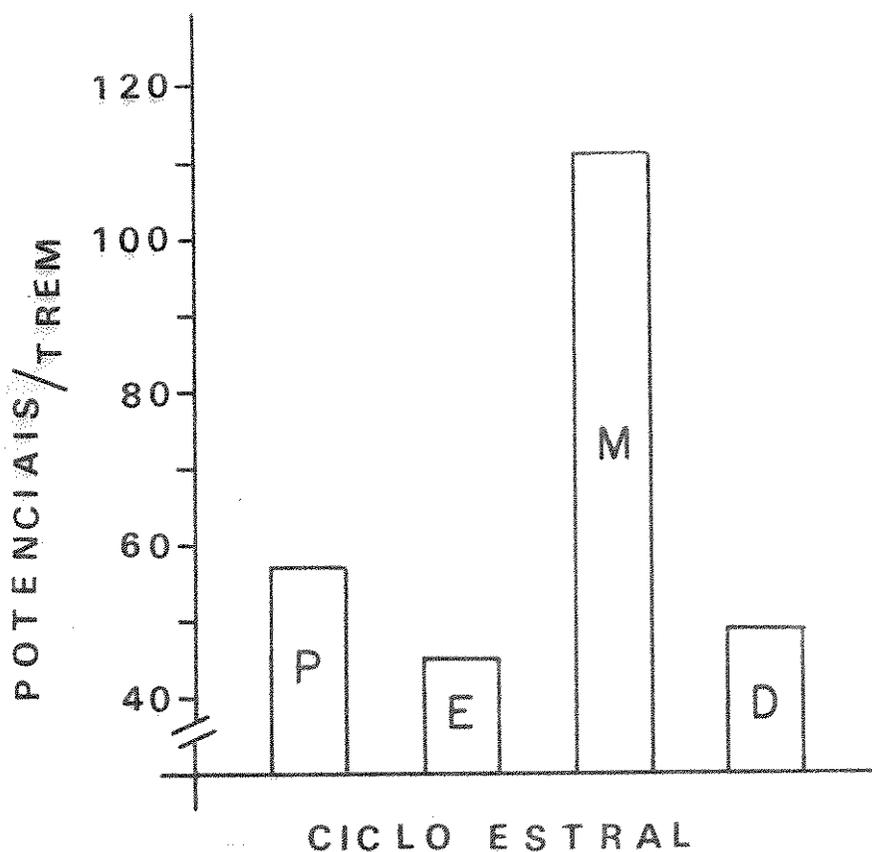


FIGURA 14 - Número de potenciais de ação em cada trem no proestro (P), estro (E), metaestro (M) e diestro (D).

TABELA 9 - Número de Potenciais em cada trem
(pot/trem).

FASES	PROESTRO		ESTRO		METAESTRO		DIESTRO	
	D	E	D	E	D	E	D	E
Cornos								
Pontos								
S	14,00	42,25	19,19	28,46	103,68	56,54	13,50	21,06
M	59,82	57,10	53,29	33,75	132,02	123,38	41,29	56,01
I	76,66	89,32	40,41	93,31	97,68	122,20	72,71	86,93

C.V. = 26,77%

Análise de Variância - diferenças significativas entre fases (F = 16,5335 para 3 G.L., p < 0,05)

Teste de Tukey para fases

$$\Delta_{5\%} = 34,238$$

	P	E	M	D	\bar{X}
P		11,790	-49,392	7,942	56,525
E			61,182	3,848	44,735
M				57,334	105,917
D					48,583

TABELA 10 - Frequência de Potenciais (pot/seg).

FASES	PROESTRO		ESTRO		METAESTRO		DIESTRO	
	D	E	D	E	D	E	D	E
Cornos Pontos								
S	3,50	4,79	1,07	2,32	4,03	5,01	2,89	2,40
M	4,19	3,83	3,38	1,17	4,99	7,25	8,23	3,07
I	4,71	4,36	3,27	5,86	5,30	7,50	4,51	4,73

C.V. = 42,53%

Análise de variância - diferença significativa entre fases (F = 5,44 para 3 G.L., p < 0,05).

Teste de Tukey para fases

$$\Delta_{5\%} = 2,409$$

	P	E	M	D	\bar{X}
P		1,385	1,450	0,075	4,230
E			2,435	1,460	2,845
M				1,375	5,680
D					4,305

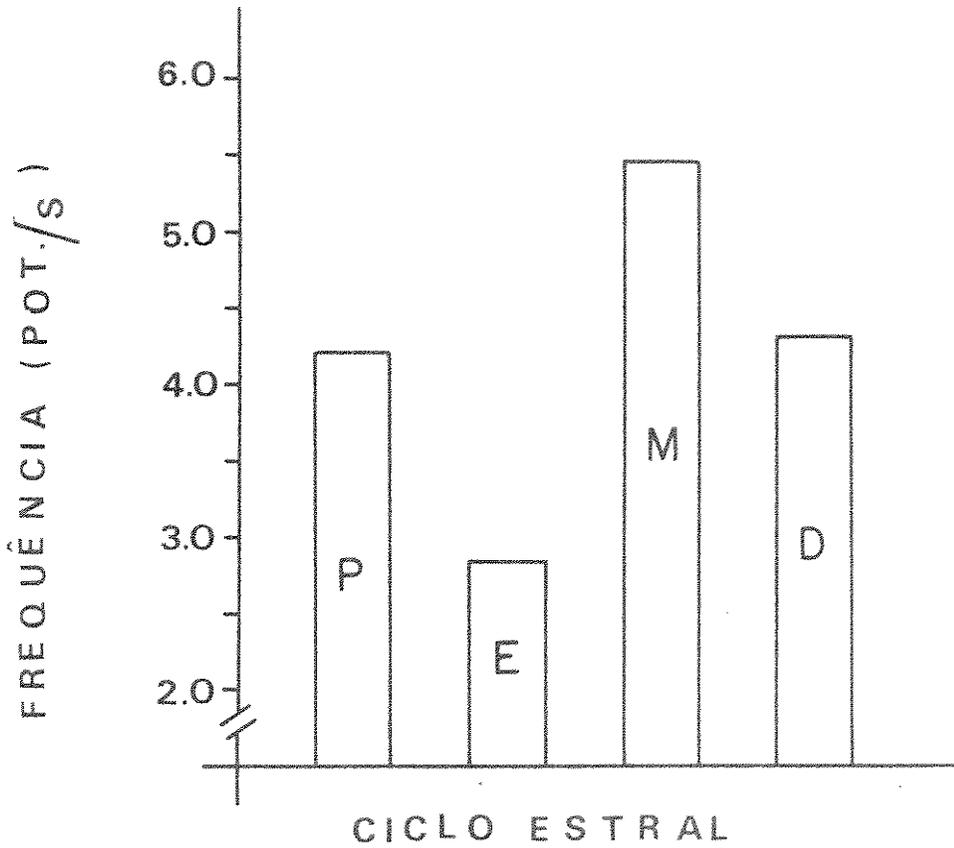


FIGURA 15 - Frequência de potenciais de ação no proestro (P), estro (E), metaestro (M) e diestro (D).

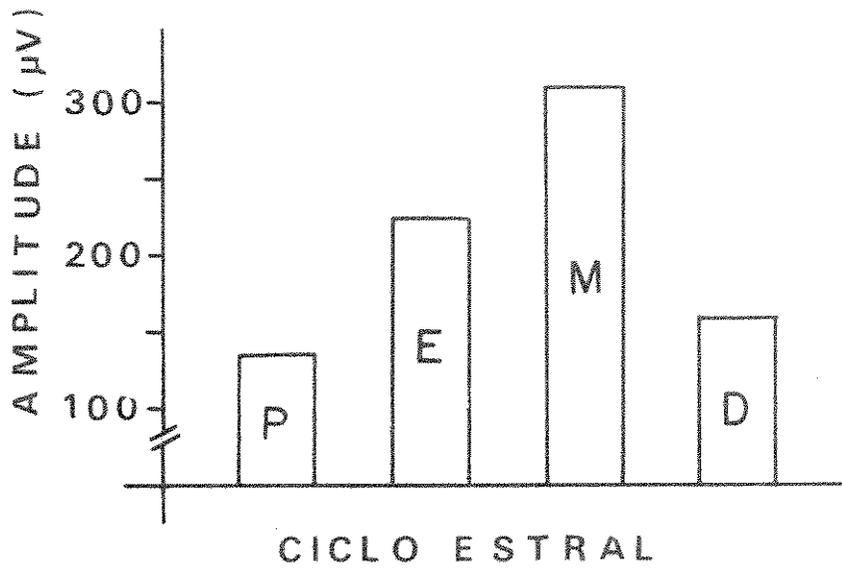


FIGURA 16 - Amplitude média dos potenciais de ação no proestro (P), estro (E), metaestro (M) e diestro (D).

TABELA 11 - Amplitude média dos potenciais (μV).

FASES	PROESTRO		ESTRO		METAESTRO		DIESTRO	
	D	E	D	E	D	E	D	E
S	37,50	145,33	108,33	125,00	181,25	187,50	100,00	80,00
M	150,00	150,00	112,50	112,50	291,67	381,25	120,00	206,25
I	109,29	194,17	404,17	466,67	316,67	504,17	262,50	180,83

C.C. = 26,98%

Análise de variância - há diferenças significativas entre fases ($F = 12,3998$ para 3 G.L., $p < 0,05$) e entre pontos ($F = 22,5145$ para 2 G.L., $p < 0,05$).

Teste de Tukey para fases - $\Delta_{5\%} = 110,818$

	P	E	M	D	\bar{X}
P		90,399	179,286	27,131	131,132
E			88,890	63,265	221,528
M				152,155	310,418
D					158,263

Teste de Tukey para regiões

 $\Delta_{5\%} = 85,003$

	S	M	I	\bar{X}
S		69,845	184,133	120,676
M			114,288	190,521
I				304,809

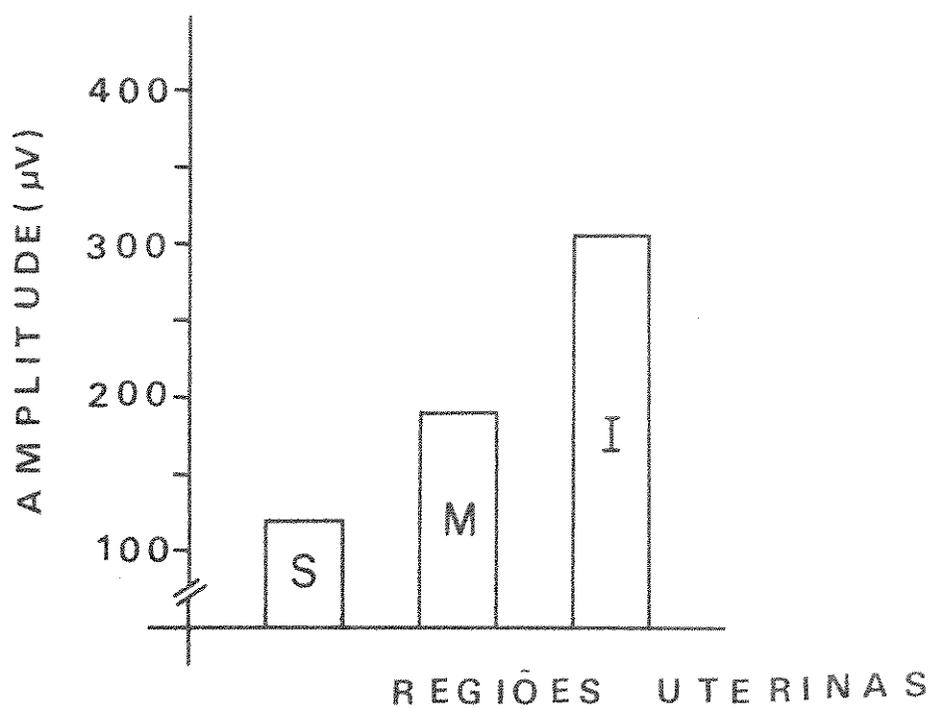


FIGURA 17 - Amplitude média dos potenciais de ação nas regiões superior (S), média (M) e inferior (I) dos cornos uterinos.

TABELA 12 - Duração dos períodos de silêncio
entre os trens (min.).

FASES	PROESTRO		ESTRO		METAESTRO		DIESTRO	
	D	E	D	E	D	E	D	E
Cornos								
Pontos								
S	130,50	168,94	153,96	111,43	97,80	97,78	170,16	37,66
M	101,17	122,37	85,62	132,18	71,14	49,12	82,25	52,22
I	52,19	58,78	68,84	50,08	53,02	69,88	107,38	59,45

C.V. = 29,36%

Análise de variância - Não significância.

TABELA 13 - Amplitude máxima dos potenciais (μV)

FASES	PROESTRO		ESTRO		METAESTRO		DIESTRO	
	D	E	D	E	D	E	D	E
Cornos Pontos								
S	62,50	329,17	271,66	315,00	181,25	196,25	112,50	80,00
M	475,00	325,00	243,75	300,00	318,33	400,00	201,25	163,75
I	370,83	450,00	445,83	477,50	455,83	570,00	325,83	214,17

C.V. = 27,27%

Análise de variância - Não significativa.

TABELA 14 - Frequência de trens de potenciais
(trens/min.)

FASES	PROESTRO		ESTRO		METAESTRO		DIESTRO	
	D	E	D	E	D	E	D	E
Cornos Pontos								
S	0,47	0,32	0,16	0,88	0,71	1,11	1,05	0,46
M	0,70	0,48	0,37	0,50	1,11	1,36	1,68	0,94
I	0,76	0,82	0,82	0,88	1,00	1,10	0,73	0,96

C.V. = 29,90%

Análise de variância - não significativa ($p > 0,05$)
para todos os dados analisados.

DISCUSSÃO

Nossos resultados mostram que o útero da rata não prenhe apresenta atividade elétrica espontânea durante todo o ciclo estral. Entretanto, as características desta atividade variam com as fases do ciclo e, portanto, cada fase pode ser caracterizada por determinado padrão de atividade que se repete de maneira cíclica.

Assim sendo, o proestro caracteriza-se por apresentar uma atividade extremamente variável, com períodos de silêncio, períodos de atividade difusa e períodos de atividade em trens de potenciais. A atividade em trens, por nós analisada mais detalhadamente nesta fase foi local em alguns momentos e propagável em outros, não sendo possível estabelecer-se uma direção preferencial para a propagação, nem mesmo sincronismo da atividade dos cornos uterinos.

Este padrão de atividade certamente reflete as condições às quais o miométrio está submetido nesta fase do ciclo.

Sabe-se que os níveis plasmáticos de estrógenos atingem seu valor máximo na manhã do proestro (BROWN-GRANDT et alii, 1970), e que este esteróide ovariano causa várias alterações no tecido miometrial. Sob sua influência, o potencial de membrana das células miometriais se eleva (GOT e CSAPO, 1958; GOTO e CSAPO, 1959; CASTELLS e KURIYAMA, 1965) e a excitabilidade uterina aumenta (MELTON Jr., 1956; CSAPO, 1961; MELTON Jr. e SALDIVAR Jr., 1965) de modo que o útero dominado por estrógenos não somente gera mas também propaga potenciais de ação (CSAPO, 1961).

Assim sendo, a ação direta dos estrógenos sobre o miométrio pode, por si só, ser responsável pelo padrão de atividade elétrica observado. Entretanto, os estrógenos

tem ainda outros efeitos sobre o útero os quais, por sua vez, também afetam a atividade elétrica. Assim, estes hormônios causam acúmulo de fluído intra-luminal (SHIH, KENNEDY e HUGGINS, 1940; RINCLER, 1961; MEGLIOLI, 1976) o qual distende o útero durante o proestro e o estro.

Além disso, causam aumento do conteúdo de água tecidual e do peso seco do miométrio, sendo que ambos voltam aos valores normais com o aparecimento das primeiras células corneificadas no esfregaço vaginal (ASTWOOD, 1939).

No proestro, o útero sofre hiperemia, também causada pelos estrógenos (HARVEY e OWEN, 1976).

Portanto, todas estas alterações poderiam criar condições para que o miométrio se tornasse eletricamente ativo após uma fase de "repouso" (diestro). Sua atividade elétrica começaria a se organizar no proestro para alcançar uma perfeita coordenação no estro e metaestro.

Nestas duas fases, como já mencionamos, a atividade é regular, sincrônica e se propaga em sentido ascendente. A excelente coordenação que as caracteriza funcionaria, provavelmente, para facilitar o processo de fecundação e nidação dos ovos possivelmente formados em cada ciclo.

Assim, no proestro a propagação da atividade em cada corno uterino ocorreu tanto no sentido ascendente como no descendente, mostrando que a atividade elétrica pode ser gerada por qualquer grupo de células miometriais e que, no tecido muscular liso do útero, o marca-passo não pode ser estabelecido como uma região anatomicamente definida.

Por outro lado, no estro e metaestro, os marca-passos localizam-se próximo à região cervical dos cornos uterinos da rata, causando contrações ascendentes, o que é compatível com o processo de fecundação que deve ocorrer nesta época do ciclo.

Entretanto pouco se sabe sobre os fatores que atuam sobre o útero determinando o estabelecimento de uma atividade elétrica coordenada e regular.

Segundo BROWN-GRANDT et alii (1970) a secreção de estrógenos pelos ovários da rata permanece máxima durante o estro. E, através do trabalho de HASHIMOTO et alii (1968), sabemos que ocorre um pico na secreção de progestins (progesterona e pregn-4-en-20 α -01-3-ona) pelos ovários da rata, no metaestro.

Entretanto, a ação da progesterona endógena ou exógena sobre o miométrio não está claramente definida para todas as espécies animais. Há evidências que a progesterona "in vivo", não inibe a atividade do músculo uterino da rata (SALDIVAR Jr. e MELTON Jr., 1966; PORTER e CHALLIS, 1974) e que a ação deste hormônio sobre o tecido miometrial desta espécie é diferente de seu efeito sobre o miométrio de outras espécies animais (SCHOFIELD, 1964; CSAPO e TAKEDA, 1965; PORTER, 1968).

Além disso, o fato de que a ação dos hormônios sexuais sobre o útero é diferente quando o experimento é realizado "in vitro" e "in vivo" (CSAPO, 1956; MARSHALL, 1959; MARSHALL e CSAPO, 1961; BARNAFI e CROXATTO, 1963; SALDIVAR Jr. e MELTON Jr., 1966), aumenta as dificuldades no estabelecimento de sua ação.

Nós podemos supor que esta diferença se deva ao fato da progesterona ("in vivo") interagir com outros hormônios (estrógenos, p. ex.), atuando sinérgica ou antagonicamente, o que não ocorre quando os experimentos são realizados "in vitro".

Ou ainda, a progesterona poderia atuar indiretamente sobre o útero, causando liberação de outras substâncias, tais como relaxina (SAWYER, FRIEDEN e MARTIN, 1953) ou prostaglandinas, as quais, por sua vez, atuariam sobre o

miotério, modificando as características de sua atividade elétrica.

Poderíamos sugerir também que os hormônios ovarianos atuam sobre o miotério causando modificações na morfologia microscópica do tecido. GARFIELD e DANIEL (1974) observaram que, no útero da rata, o número de contatos celulares aumenta na prenhez e após tratamento com estrógenos, e diminui após administração de progesterona. Estes pontos de contato formariam vias preferenciais de condução, de modo que um maior número deles facilitaria a condução dos potenciais de ação gerados nos marca-passos, a propagação da atividade ocorreria mais rapidamente, e o tecido apresentaria uma atividade regular e propagada como pudemos observar no estro e metaestro.

A diminuição do número de locais de acoplamento elétrico entre as células, dificultaria a propagação da atividade de modo que esta última seria do tipo local e irregular, como ocorre no diestro. Nesta fase, a influência estrogênica também seria mínima (BROWN-GRANDT et alii, 1970) contribuindo para a quase ausência de atividade elétrica espontânea.

Entretanto, todas essas hipóteses requerem confirmação. Pelo exposto acima, podemos concluir que a atividade elétrica do miotério da rata é cíclica. Em cada ciclo, que dura cerca de quatro dias, o útero sai de um período de quiescência elétrica, para um período de atividade altamente coordenada. Tal variação cíclica é determinada pelos vários fatores que atuam, direta ou indiretamente, sobre o útero da rata.

Assim sendo, o proestro representaria o início da atividade em cada ciclo, com uma atividade elétrica variável: local ou propagável, sincrônica ou não. Esta fase seria uma preparação para as fases seguintes.

O estro e metaestro, por outro lado caracterizam-se por uma atividade regular e perfeitamente coordenada; e o diestro representaria o período de repouso elétrico, completando o ciclo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSON, R.R. & McSHAN, W.H. (1966). Luteinizing hormone levels in pig, cow and rat blood plasma during the estrous cycle. Endocrinology 78: 976-982.
- ANDERSON, N.C. & RAMON, F. (1976). Interaction between pacemaker electrical behavior and action potential mechanism in uterine smooth muscle. In: Physiology of smooth muscle, Ed. Bulbring, M. & Shuba, M.F., pp. 53-85. New York: Raven Press.
- ARMSTRONG, D.T. (1968). Hormonal control of uterine lumen fluid retention in the rat. Am. J. Physiol. 214(4): 764-771.
- ASTWOOD, E.B. (1939). Changes in the weight and water content of the uterus of the normal adult rat. Am. J. Physiol. 126: 162-170.
- BARNAFI, L. & CROXATTO, H. (1963). The "in vitro" effects of progesterone and estrogens on the oxytocin response of rat uterus. Acta Physiol. Latinoam. 13: 26-29.
- BARRACLOUGH, C.A.; COLLU, R.; MASSA, R. & MARTINI, L. (1971) Temporal interrelationships between plasma LH, ovarian secretion rates and peripheral plasma progestin concentrations in the rat: effects of Nembutal and exogenous gonadotropins. Endocrinology 88: 1437-1447.
- BOLING, J.L.; BLANDAU, R.J.; SODERWALL, A.L. & YOUNG, W. C. (1941). Growth of the Graafian follicle and the time of ovulation in the albino rat. Anat. Record. 79: 313 - 331.

- BROWN-GRANDT, K.; EXLEY, D. & NAFTOLIN, F. (1970). Periphe -
ral plasma oestradiol and luteinizing hormone concentra -
tions during the oestrous cycle of the rat. J. Endocr.
48: 295-296.
- CALIGARIS, L.; ASTRADA, J.J. & TALEISNIK, S. (1962). Pitui -
tary FSH concentrations in the rat during the estrous cy -
cle. Endocrinology 81: 1261-1266.
- CASTEELS, R. & KURIYAMA, H. (1965). Membrane potential and
ionic content in pregnant and non-pregnant rat myometrium.
J. Physiol. (London) 177: 263-287.
- CLABAUT, M. (1972). Effect of bilateral ovariectomy upon
electric activity of the myometrium in pregnant rats. J.
Physiol. (Paris) 65: 219a-220.
- CLEMETSON, C.A.B.; VERMA, U.L. & CARLO, S.J. (1977). Secre -
tion and reabsorption of uterine luminal fluid in rats .
J. Reprod. Fert. 49: 183-187.
- CSAPO, A.I. (1956). The mechanism of effect of the ovarian
steroids. Rec. Progr. Horm. Res. 12: 405-431. Apud Sal -
divar & Melton, 1966.
- CSAPO, A.I. (1961). Effects of oxytocic substances on the
excitability of the uterus. In: Oxytocin. Ed. Caldeyro -
Barcia, R. & Heller, H., pp. 100-121. Oxford: Pergamon
Press.
- CSAPO, A.I. (1962). Smooth muscle as a contractile unit.
Physiol. Rev. 42(suppl. 5): 7-33.
- CSAPO, A.I. (1969). The luteoplacental shift the guardian
of pre-natal life. Postgrad. Med. J. 45: 57-64. Apud Pai -
va e Csapo, 1973
- CSAPO, A.I. & TAKEDA, H. (1965). Effect of progesterone on
the electric activity and intra-uterine pressure of preg -
nant and parturient rabbits. Am. J. Obstet. Gynecol. 91:
221-231.

- CSAPO, A.I. & WIEST, W.G. (1972). On the mechanism of the abortifacient action of prostaglandin F₂. Prostaglandins 1(2): 158-165.
- DROOGMANS, G. & CASTEELS, R. (1976). Membrane potential and ion transport in smooth muscle cells. In: Physiology of smooth muscle, Ed. Bulbring, E. & Shuba, M.F., pp. 11-18. New York: Raven Press.
- EVERETT, J.W. (1961). The mammalian female reproduction cycle and its controlling mechanisms. In: Sex and Internal Secretions, Ed. Young, C., vol. 1, pp. 497-555. Baltimore: Williams e Wilkins.
- FEIT, A.; FREUND, M. & VENTURA, W.P. (1968). Effect of stage of the estrous cycle on the motility in the guinea-pig "in vivo". Am. J. Obstet. Gynecol. 102: 202-211.
- GARFIELD, R.E. & DANIEL, E.E. (1974). The structural basis of electrical coupling (cell-to-cell contacts) in rat myometrium. Gynecol. Invest. 5: 284-300.
- GOLDMAN, B.D.; KAMGERI, I.A.; SIITERI, P.K. & PORTER, J. C. (1969). Temporal relationship of progestin secretion, LH release and ovulation in rats. Endocrinology 85: 1137-1143.
- GOTO, M. & CSAPO, A.I. (1958). The effect of the ovarian steroids on the membrane potential of the uterus. Biol. Bull. 114: 335-336.
- GOTO, M. & CSAPO, A.I. (1959). The effect of the ovarian steroids on the membrane potential of uterine muscle. J. Gen. Physiol. 43: 455-466.
- HARVEY, C.A. & OWEN, D.A.A. (1976). Changes in uterine and ovarian blood flow during the oestrous cycle in rats. J. Endocr. 71: 367-369.

- HASHIMOTO, I.; HENRICKS, D.M.; ANDERSON, L.L. & MELAMPY, R. M. (1968). Progesterone and Pregnen-4-in-20 α -d-3-one in ovarian venous blood flow during various reproductive states in the rat. Endocrinology 82: 333-341.
- KAO, C.Y. (1959). Long-term observations of spontaneous electrical activity of the uterine smooth muscle. Am. J. Physiol. 196(2): 343-350.
- KATZENSTEIN, F.C. (1938). Electrical excitability (chronaxie) of the rat's uterus, throughout the estrus cycle. Endocrinology 22: 579-582.
- KATZENSTEIN, F.C. & SOSKIN, S. (1939). Hormonal influences on the excitability of the muscular protoplasm of the rat's uterus. Endocrinology 24: 311-318.
- KURIYAMA, H. & SUZUKI, H. (1976). Changes in electrical properties of rat myometrium during gestation and following hormonal treatments. J. Physiol. (London) 260: 315 - 333.
- LEHRER, A.R.; FISCHLER, H.; SCHINDLER, H. & BROWN, M. (1974) Telemetry of uterine motility in the cycling ewe. J. An. Sci. 38(1): 89-94.
- LEHRER, A.R. & SCHINDLER, H. (1974). Uterine motility of the ewe during the estrous cycle. J. An. Sci. 38(1): 86-88.
- MALTIER, J.P. & CAVAILLÉ, F. (1978). Effects of ovariectomy, progesterone and oestrogen on uterine catecholamine concentrations in relation to parturition in rats. J. Endocr. 76: 93-100.
- MARSHALL, J.M. (1959). Effects of estrogen and progesterone on single uterine muscle fibers in the rat. Am. J. Physiol. 197: 935-942.

- MARSHALL, J.M. (1974). Vertebrate smooth muscle. In: Medical Physiology, pp. 121-134. Ed. Mountcastle, V.B., vol. 1, pp. 121-134, Saint Louis: The V.C. Mosby Company.
- MARSHALL, J.M. & CSAPO, A.I. (1961). Hormonal and ionic influences on the membrane activity of uterine smooth muscle cells. Endocrinology 68: 1026-1035.
- MEGLIOLI, G. (1976). Oestrogenic sensitivity of rat uterine secretion. J. Reprod. Fertil. 40: 395-399.
- MELTON Jr., C.E. (1956). Electrical activity in the uterus of the rat. Endocrinology 58(2): 139-149.
- MELTON Jr., C.E. & SALDIVAR Jr., J.T. (1965). Estrous cycle and electrical activity of rat myometrium. Life Sci. 4: 593-602.
- MOORE, N.W.; BARRET, S.; BROWN, J.B.; SCHINDLER, J., SMITH, M.A. & SMITH, B. (1969). Oestrogen and progesterone content of ovarian vein blood of the ewe during the oestrous cycle. J. Endocr. 44: 55-62.
- NAAKTGEBOREN, C.; WEYDEN, G.C. VANDER; KLOPPLER, P.J.; KROON, C.H.; SCHOOF, A.G. & TAVERNE, M.A.M. (1973). Electrophysiological observations of uterine motility during the oestrous cycle in sheep. J. Reprod. Fert. 35: 511-518.
- PAIVA, C.E.N. de & CSAPO, A.I. (1973). The effect of prostaglandin on the electric activity of the pregnant uterus. Prostaglandins 4(2): 177-187.
- PIACSEK, B.E.; SCHNEIDER, T.C. & GAY, V.L. (1971). Sequential study of luteinizing hormone (LH) and progestin secretion on the afternoon of proestrous in the rat. Endocrinology 89: 39-45.

- PORTER, D.G. (1968). The local effect of intra-uterine progesterone upon myometrial activity in the rabbit. J. Reprod. Fert. 15: 437- . Apud Porter & Challis, 1974.
- PORTER, D.G. & CHALLIS, J.R.G. (1974). Failure of high uterine concentrations of progesterone to inhibit myometrial activity "in vivo" in the post-partum rat. J. Reprod. Fert. 39: 157-162.
- PORTER, D.G. & DOWNING, S.J. (1968). Evidence that a humoral factor possessing relaxin-like activity is responsible for uterine quiescence in the late pregnant rat. J. Reprod. Fert. 52: 95-102.
- RAMIREZ, V.D. & McCANN, S.M. (1964). Flutuactions in plasma luteinizing hormone concentrations during the estrous cycle of the rat. Endocrinology 74: 814-816.
- RAO, A.J.; MOUDGAL, N.R.; RAJ, H.G.M.; LIPNER, H. & GREEP, R.O. (1974). The role of FSH and LH in the initiation of ovulation in rats and hamsters: a study using rabbit anti sera to ovine FSH and LH. J. Reprod. Fert. 37: 323-330.
- RINGLER, I. (1961). The composition of rat uterine luminal fluid. Endocrinology 68: 281-291.
- RUCKEBUSCH, Y. & BAYARD, F. (1975). Motility of the oviduct and uterus of the cow during the oestrous cycle. J. Reprod. Fert. 43: 23-32.
- SALDIVAR Jr., J.T. & MELTON Jr. C.E. (1966). Effects "in vivo" and "in vitro" of sex steroids on rat myometrium. Am. J. Physiol. 211: 835-843.
- SAWYER, N.H.; FRIEDEN, E.H. & MARTIN, A.C. (1953). "In vitro" inhibition of spontaneous contractions of the rat uterus by relaxin-containing extracts of sow ovaries. Am. J. Physiol. 172: 547-552.

- SHIH, H.E.; KENNEDY, J. & HUGGINS, C. (1940). Chemical composition of uterine secretions. Am. J. Physiol. 130: 287-291.
- SCHOFIELD, B.M. (1964). Myometrial activity in the pregnant guinea-pig. J. Endocr. 30: 347-354.
- SCHWARTZ, N.B. & BARTOSIK, D. (1962). Changes in pituitary LH content during the rat estrous cycle. Endocrinology 71: 756-762.
- SCHWARTZ, N.B. (1964). Acute effects of ovariectomy on pituitary LH, weight uterine, and vaginal cornification. Am. J. Physiol. 207: 1251-1259.
- TALO, A. & KARKI, A.E. (1976). Electric activity of the rat myometrium "in vivo" during the estrous cycle. Acta Physiol. Scand. 97: 495-500.
- YOSHINAGA, K.; HAWKINS, R.A. & STOCKER, I.F. (1969). Estrogen secretion by the rat ovary "in vivo" during the estrous cycle and pregnancy. Endocrinology 85: 103-112.