

BIOSUSCEPTOMETRIA DE CORRENTE ALTERNADA PARA AVALIAÇÃO DA CONTRATILIDADE UTERINA EM RATAS PRENHES

LUÍS GUSTAVO DE OLIVEIRA SIMÕES

Tese apresentada ao Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Botucatu para obtenção do título de Doutor em Farmacologia e Biotecnologia.

Botucatu

2019

LUÍS GUSTAVO DE OLIVEIRA SIMÕES

**BIOSUSCEPTOMETRIA DE CORRENTE ALTERNADA PARA
AVALIAÇÃO DA CONTRATILIDADE UTERINA EM RATAS
PRENHES**

Tese apresentada ao Instituto de
Biociências de Botucatu, Universidade
Estadual Paulista “Júlio de Mesquita
Filho”, Campus de Botucatu para
obtenção do título de Doutor em
Farmacologia e Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. José Ricardo de Arruda Miranda

Botucatu

2019

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Simões, Luís Gustavo de Oliveira.

Biosusceptometria de corrente alternada para avaliação da contratilidade uterina em ratas prenhes / Luís Gustavo de Oliveira Simões. - Botucatu, 2019

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: José Ricardo de Arruda Miranda
Capes: 20900007

1. Biosusceptometria de Corrente Alternada. 2. Contração uterina. 3. Ocitocina. 4. Prenhez. 5. Útero.

Palavras-chave: Biosusceptometria de Corrente Alternada; Contração Uterina; Ocitocina; Prenhez; Útero.

À minha mãe, meu pai e meu irmão...

Agradecimentos

À Deus, pois sem ele nada disso seria possível.

Aos meus pais, Sônia e Luís Otávio por toda educação, calma, paciência, tranquilidade amor e ensinamentos. Vocês me providenciaram uma base sólida, ensinaram os verdadeiros valores de uma pessoa e me acompanham e apoiam em tudo o que faço.

Ao meu irmão Leonardo por todas as risadas, diversões, cumplicidade, amizade e conversas construtivas e inúteis. Você sempre se mostrou pronto a me ouvir e agradeço por sempre estar disposto a me ajudar. Você sempre será meu melhor amigo.

Vocês três são meus pilares e devo tudo a vocês, agradeço a educação e dedicação sempre.

À minha namorada Priscila, que sempre me acompanhou nesta vida acadêmica, pela paciência, inspiração, força e amor. Você sempre está pronta para me ouvir, me aguentar e me abrir os olhos.

A toda minha família que está sempre de braços abertos a me receber, conversar e ajudar no que for preciso. Vocês tornam as festividades familiares extremamente animadas e alegres.

Aos meus amigos de Marília, por nunca se esquecerem de mim e por fazerem dos meus finais de semanas e churrascos serem momentos marcantes.

Aos meus companheiros de república, Diego, Edicarlos, Marcio, Vinícius, Thassio, Leonardo e Ângelo que participaram da minha bagunça em casa, que tiveram paciência com meus instrumentos musicais, com meus jogos na madrugada e fizeram meus dias sempre animados e engraçados.

Aos meus amigos de bandas, que sempre estão comigo nos eventos mais absurdos, garantindo diversão, profissionalismo e amizade.

Aos meus amigos de Laboratório, que sempre me explicam o que eu não sei e pelas risadas e piadas durante o dia no laboratório, bem como churrascos e bares para descontrair.

Aos meus amigos no meu local de trabalho, o Centro Universitário Eurípedes de Marília, pelos ensinamentos, cafés e conversas profissionais construtivas.

Ao meu orientador José Ricardo de Arruda Miranda, que me aceitou orientar desde quando ainda estava na graduação, por me proporcionar um crescimento profissional, pelos conselhos e conversas.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, ao instituto de Biociências, ao Departamento de Física e Biofísica e ao Laboratório de Biomagnetismo, pela infraestrutura, docentes, e formação acadêmica.

Aos apoios da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Resumo

A contração uterina é um processo fisiológico espontâneo com impacto direto no ciclo menstrual/estral e na gestação. Disfunções na atividade uterina estão relacionadas com infertilidade, abortos e partos prematuros, sendo este último a maior causa de mortalidade e morbidade infantil no mundo. Sendo assim, se faz necessário o desenvolvimento de metodologias *in vivo* para monitorar o processo mecânico uterino. O objetivo deste trabalho foi aplicar a técnica de Biosusceptometria de Corrente Alternada para avaliação *in vivo* da atividade mecânica uterina em ratas prenhes.

Foram utilizadas 40 ratas fêmeas Wistar prenhes com idade entre 10 e 15 semanas e com peso médio de 250 g. Através da Biosusceptometria de Corrente Alternada, 18 animais foram utilizados para avaliação da contratilidade uterina durante a prenhez e 8 foram usadas para avaliação da atividade uterina frente à ação da ocitocina. Na primeira etapa foi realizada uma cirurgia de fixação do marcador magnético em três posições da serosa uterina: próximo ao ovário; na região média entre o ovário e a cérvix; e próximo à cérvix. A atividade uterina foi monitorada nos dias 0, 7, 14, 20 e 21 de prenhez para cada posição do marcador. Na segunda etapa, foi realizado o implante do marcador magnético somente próximo à cérvix, e a atividade foi avaliada antes e depois da administração de ocitocina no dia 20 de prenhez.

Os resultados obtidos foram perfis de contração para cada situação proposta, os quais apresentaram contrações basais de alta e baixa frequência e contrações intensas. Durante a evolução da prenhez, foi observado uma atividade discreta e irregular no primeiro terço, quiescência no segundo terço, transição no dia 20 e atividade intensa regular pré-parto. A ocitocina provocou a excitação da atividade uterina por meio da indução de contrações intensas e regulares, revelando um perfil similar ao obtido no dia 21 de prenhez.

A análise dos resultados mostrou que o útero exibe perfis de contração distintos em cada etapa da prenhez, bem como uma evolução da atividade contrátil visando o desenvolvimento e expulsão do feto. Este trabalho fornece uma nova ferramenta para contribuir com novos estudos de patologias, hormônios e medicamentos que alterem a contratilidade normal uterina durante a gestação.

Palavras-chave: contração uterina; útero; prenhez; ocitocina; biosusceptometria de corrente alternada; ratas.

Abstract

Uterine contraction is a spontaneous physiologic process with direct impact on menstrual/estrous cycle and pregnancy. Uterine activity dysfunction are related with infertility, abortion and premature birth, in which the last is the major cause of childish mortality and morbidity in the world. Therefore, *in vivo* methods to assess the mechanical process of the uterus under real physiologic condition remains necessary to be developed. The aim of this study was to apply Alternate Current Biosusceptometry to assess *in vivo* mechanical uterine activity of pregnant rats.

Forty Wistar female pregnant rats with 10 to 15 weeks age and weighing 250 g were used. Through Alternate Current Biosusceptometry, 30 animals were used for uterine contraction analysis during pregnancy and 10 were used to evaluate uterine contractility due to oxytocin action. On the first part, an implant surgery was performed to fix the magnetic marker on uterus serous at three different position: near ovary; middle distance between ovary and cervix, and near cervix. Uterine peristalsis were measured at days 0, 7, 14, 20 and 21 of pregnancy. On the second part, magnetic marker was implanted only on near cervix and uterine activity was evaluated before and after the oxytocin administration on day 20 of pregnancy.

Contraction profiles were obtained as results to each proposed analysis, in which presented high frequency and low frequency basal contraction and intense contractions. During pregnancy evolution, was observed a discreet and irregular activity on the first third, quiescence on the second third, transition on day 20 and intense and regular activity right before parturition. The oxytocin provoked uterine activity excitation by regular and intense contractions induction, revealing a similar profile obtained on day 21 of pregnancy.

Results analysis demonstrated that uterus exhibits distinct contraction profile on each stage of pregnancy, as well as an evolution of contractile peristalsis aiming the development and fetus expelling. This work supply a new tool to contribute with new pathologies, hormones and drugs studies that modifies normal uterine contractility during gestation.

Key words: uterine contraction; uterus; pregnancy; oxytocin; alternate current biosusceptometry; rats.

Lista de Abreviatura

BAC – Biosusceptometria de Corrente Alternada

Ca-CAM – Complexo cálcio-calmodulina

CI – Contrações intensas

Cpm – Contrações por minuto

EHG – Eletrohisterografia

EMG – Eletromiografia

Fem – Força eletromotriz

FFT – Transformada rápida de Fourier (*Fast Fourier Transform*)

HSSG – Histerossalpingocintilografia (*Hysterosalpingo-radionoclide scintigraphy*)

ICC – Células intersticiais de Cajal (*Cajal interstitial cells*)

ICLC – Células semelhantes às células intersticiais de Cajal (*Interstitial Cajal-like cells*)

IUPC – Cateter de pressão intrauterino (*Intrauterine Pressure Catheter*)

MLC – Miosina quinase leve (*Myosine light chain*)

MMG – Magnetomiografia

MRI – Ressonância magnética (*Magnetic Ressonance Imaging*)

OB – Oscilações basais

OAF – Oscilações basais de alta frequência

OBF – Oscilações basais de baixa frequência

PA – Potenciais elétricos

RSA – *Running Spectrum Analysis*

SNA – Sistema Nervoso Autônomo

SNAP – Sistema Nervoso Autônomo Parassimpático

SNAS – Sistema Nervoso Autônomo Simpático

TOCO – Tocodinamometria

TVUS - Ultrassonografia transvaginal (*Transvaginal ultrasound*)

Lista de Figuras

Figura 1: Ilustração das camadas uterinas.....	14
Figura 2: Ilustração das camadas musculares do miométrio.....	15
Figura 3: Anatomia do útero de roedores e humano.	15
Figura 4: Ilustração do sistema BAC.	22
Figura 5: Características do marcador magnético. Diâmetro externo (D) de 4,20 mm e diâmetro interno (d) de 1,15 mm.....	25
Figura 6: Posição dos marcadores nos grupos experimentais.	25
Figura 7: Ilustração do lavado vaginal (A) e da visualização microscópica para identificação do cio (B). As setas em B indicam as células cornificadas que caracterizam a fase estro. Adaptado de Marcondes et al. (2002).....	26
Figura 8: Posicionamento do sensor durante a realização das medidas. O sensor era posicionado externamente sobre o marcador sem pressioná-lo contra o animal.....	27
Figura 9: Cronograma de medidas durante a prenhez. Cirurgia de implante do marcador magnético (CI); lavado vaginal para identificação do cio (LV1); lavado vaginal para confirmação do acasalamento (LV2); medidas com duração de 30 minutos (M1, M2, M3, M4 e M5).....	28
Figura 10: Cronograma de medidas com administração de ocitocina. Cirurgia de implante do marcador magnético (CI); lavado vaginal para identificação do cio (LV1); lavado vaginal para confirmação do acasalamento (LV2); medida com duração de 45 minutos (M).	28
Figura 11: Exemplo de sinal de atividade contrátil uterina. Fragmento de sinal (A) contendo oscilações basais (OB) e contrações intensas (CI). Exemplo de transformada rápida de Fourier (FFT) para eventos de alta frequência (B) e eventos de baixa frequência (C).....	31
Figura 12: Ilustração do formato das contrações intensas tipo aberta (A) e tipo <i>spike</i> (B). Δt – intervalo de tempo.	31

Figura 13: Ilustração do perfil de atividade uterina nos dias 0 (A), 7 (B), 14 (C), 20 (D) e 21 (E) de prenhez.....	33
Figura 14: Frequência oscilatória (A) e intensidade (B) das contrações basais em cada dia de prenhez. Todos os dias apresentaram diferença estatística significativa em comparação com o dia 21.	34
Figura 15: Frequência (A), intensidade (B) e duração (C) das contrações intensas em cada dia de prenhez.....	35
Figura 16: Ilustração do perfil de atividade uterina antes de depois da administração de ocitocina. A seta vermelha indica o instante exato em que a droga foi aplicada.	36
Figura 17: Frequência (A), intensidade (B) e duração (C) das contrações intensas dos grupos controles (dias 20 e 21) e pós ocitocina (ocitocina).	36

Sumário

Introdução.....	9
Objetivo	13
Fundamentos Teóricos.....	14
I. O Útero.....	14
II. A Contração Uterina	16
III. Ocitocina.....	18
IV. Monitoramento da contração uterina.....	19
V. Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC)	22
Metodologia.....	24
I. Modelo Experimental Animal.....	24
II. Implante Cirúrgico do Marcador Magnético	24
III. Grupos experimentais.....	25
IV. Indução e Identificação da Prenhez.....	26
V. Realização das Medidas.....	27
VI. Medidas da Contratilidade Uterina Durante a Prenhez	28
VII. Medidas das Contrações Uterinas Induzidas por Ocitocina.....	28
VIII. Análise dos Dados	29
IX. Análise estatística.....	29
Resultados.....	30
Discussão	37
Conclusão	41
Referências Bibliográficas.....	42
Apêndice A - Validação da Biosusceptometria de Corrente Alternada para análise da atividade mecânica uterina	54
Apêndice B – Características do sensor BAC e parâmetros da instrumentação	61

Introdução

A contração uterina é um processo fisiológico espontâneo que ocorre durante toda a vida uterina (NEWMAN, 2005). De modo geral, ela pode ser caracterizada como o movimento rítmico das paredes do útero resultante do processo da interação entre os filamentos de actina e miosina presentes nas células musculares do órgão (MYERS; ELAD, 2017). Assim, o útero fica sujeito à uma tensão física e, por consequência, à uma força que provoca sua alteração de forma e volume.

Apesar da motilidade uterina ocorrer durante toda a vida do órgão, ela tem funções características em cada estágio que o sistema reprodutor feminino se encontra. Em se tratando do ciclo menstrual, sua importância se resume à assistência do processo de fecundação (IJLAND et al., 1996; PETRONELLA et al., 2017), enquanto na gestação é responsável por criar o ambiente adequado para o desenvolvimento sadio do feto (BLANKS; SHMYGOL; THORNTON, 2007; RABOTTI, 2010). Para a realização destas tarefas, a atividade contrátil uterina se altera por diversas vezes durante destas etapas.

Em humanos, durante o ciclo ovulatório, as contrações seguem na direção do fundo para a cérvix até a metade da fase folicular, porém na fase final e pré ovulatória elas mudam de direção, seguindo da cérvix para o fundo (IJLAND et al., 1996, 1999). Esta rápida inversão é acompanhada de uma maior frequência de incidência (BULLETTI et al., 2000; CSAPO; PINTO-DANTAS, 1966; HENDRICKS, 1966; SHAFIK, 1997), e está relacionada com o auxílio no transporte rápido de espermatozoides em direção ao folículo dominante (IJLAND et al., 1996; KUNZ et al., 1996). Após a ovulação, contrações opostas ocorrem no fundo e na cérvix, visando a maturação do embrião (BULLETTI et al., 2000; IJLAND et al., 1996). Por fim, na fase lútea as contrações diminuem e o útero apresenta uma quiescência para a promover a nidada adequada (BULLETTI et al., 1997; FANCHIN et al., 1998).

Durante a gestação, o útero mantém esta quiescência durante os dois primeiros trimestres da gestação (DANFORTH, 1947; GILLESPIE, 1950; MYERS; ELAD, 2017; RABOTTI; MISCHI, 2015). Sua atividade mais expressiva se dá no terceiro trimestre, geralmente após a vigésima oitava semana. Estudos realizados com pacientes saudáveis mostraram um aumento da atividade uterina a partir da trigésima quarta semana (MOORE et al., 1994; REYNOLDS; HARRY; KAISER, 1954). Nesta etapa, as contrações demonstraram um aumento progressivo na frequência e na intensidade seguindo a direção

do fundo para a cérvix, formando um gradiente de pressão adequado para a expulsão do feto no momento do parto (MOORE et al., 1994; REYNOLDS; HARRY; KAISER, 1954).

Diversos fatores podem alterar a contratilidade espontânea natural do útero. Disfunções de hormônios sexuais, anomalias congênitas, idade materna avançada, contraceptivos internos e patologias podem provocar desordens no peristaltismo uterino. Os hormônios sexuais, por exemplo, são importantes reguladores da atividade uterina (PETRONELLA et al., 2017). Uma vez que seus níveis apresentam irregularidades, eles causam impacto direto no transporte de espermatozoide (BULLETTI et al., 2000) e na posterior quiescência na fase de implantação (BULLETTI; DE ZIEGLER, 2005; FANCHIN et al., 1998). Os contraceptivos contendo cobre, por sua vez, possuem influência sobre a atividade elétrica (SEER; MANNOR; ZAKUT, 1970) e sobre a coordenação das contrações (BEYER; BEHRMAN, 1970).

Patologias como endometriose acomete cerca de 176 milhões de mulheres todos os anos (DAVID ADAMSON; KENNEDY; HUMMELSHOJ, 2010; EISENBERG et al., 2018; JOHNSON; HUMMELSHOJ, 2013). Estudos mostraram que mulheres com endometriose possuem uma maior atividade contrátil e um maior tônus basal muscular comparado à mulheres saudáveis (BULLETTI et al., 1997). Isto reflete em hipercontratilidade e pode resultar em abortos e nascimentos prematuros (BULLETTI et al., 1997).

Bruns e colaboradores (1957), assim como outros pesquisadores, demonstraram que mulheres que possuem excesso de atividade uterina nos dois primeiros terços da gestação acabam tendo abortos e partos prematuros (AUBRY; PENNINGTON, 1973; BELL, 1983; BRUNS et al., 1957). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), o parto prematuro é aquele que ocorre antes da trigésima sétima semana de gestação e é considerado a principal causa de mortalidade e morbidade infantil (MARCH OF DIMES, PMNCH; WHO, 2012). Atualmente, em uma recente publicação da OMS, os principais casos ocorrem na África e sul da Ásia, onde a Índia ocupa o primeiro lugar (3.519.100 casos) seguida de China (1.172.300 casos) e Nigéria (773.600 casos). O Brasil ocupa a décima posição com 279.300 casos (BLENCOWE et al., 2012; LAWN; KINNEY, 2014).

.

Apesar dos esforços para prevenir o parto prematuro, ainda não é possível prever com exatidão a ocorrência deste fenômeno (GOLDENBERG et al., 2008; RABOTTI; MISCHI, 2015). Neste sentido, o monitoramento da atividade uterina é importante para uma maior compreensão dos processos de contração, suas possíveis disfunções, bem como as possíveis consequências do comportamento anormal do útero.

No homem, as técnicas empregando cateter de pressão intrauterina, ultrassonografia transvaginal e tocodinamometria aparecem entre as mais aplicadas na investigação do processo mecânico de contração. Todavia, estas apresentam desvantagens como risco gestacional e invasividade; subjetividade e baixa sensibilidade; além de imprecisão e desconforto (EULIANO et al., 2013; PETRONELLA et al., 2017).

Em animais, as técnicas *ex vivo* são as mais utilizadas, destacando o banho de órgãos associado à transdutores de força e eletromiografia (CHKEIR et al., 2013; HURD et al., 1998; WONG; O; TANG, 2013). Estes estudos já contribuíram muito para a compreensão da farmacologia e fisiologia das contrações, porém promovem uma análise fora do ambiente fisiológico real. Diante disto, o desenvolvimento de metodologias eficientes é necessário, e a busca por monitoramentos *in vivo* de baixa invasividade se mostra ser um campo promissor a ser explorado tanto para humanos quanto para animais.

A Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC), é uma técnica biomagnética de análise de sistemas biológicos. Aprimorada por Miranda e colaboradores, a BAC foi inicialmente aplicada a estudos *in vivo* do trato gastrointestinal (TGI), buscando a compreensão de parâmetros como esvaziamento gástrico, trânsito orocecal e contração gástrica em roedores (AGOSTINHO et al., 2010; QUINI et al., 2012), cães (AMÉRICO et al., 2010; MORAES et al., 2003) e humanos (BAFFA et al., 1995; MIRANDA et al., 1992, 1997). Também, a BAC já foi aplicada em estudos de processos farmacêuticos *in vitro* (CORÁ et al., 2005a, 2008) e humanos (CORÁ et al., 2003, 2005b, 2006), e mais recentemente, em estudos de biodistribuição de nanopartículas magnéticas (PRÓSPERO et al., 2017).

Por meio da interação entre um campo magnético externo e um marcador magnético acoplado ao órgão, a BAC monitora a movimentação do marcador magnético, e conseqüentemente, a atividade mecânica produzida pelo órgão de interesse (AMÉRICO et al., 2009; MIRANDA et al., 1992).

Dentre os diversos modelos experimentais existentes, o modelo animal proporciona a realização de experimentos em uma espécie visando a comparação e a compreensão dos fenômenos em outra espécie (ANDREATINI, 2002). Neste sentido, a fácil obtenção de um espaço amostral eficiente e a possibilidade de se controlar as variáveis indesejáveis em experimentos específicos torna este método extremamente vantajoso para estudos do corpo humano.

Com a finalidade de se contribuir com a escassez de metodologias *in vivo* de experimentação animal e resgatar estudos acerca da atividade espontânea uterina, esta pesquisa apresenta uma alternativa capaz de detalhar o processo mecânico da contratilidade uterina durante a prenhez de roedores. Por conseguinte, este trabalho investigou a capacidade, sensibilidade e efetividade da BAC para análise das contrações do útero durante este período.

Objetivo

O objetivo deste trabalho é aplicar a técnica de Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC) para avaliação *in vivo* do processo mecânico de contração uterina em ratas prenhes.

Especificamente, almeja-se:

- Obter perfis de contração em diferentes regiões do útero e em diferentes etapas da prenhez;
- Quantificar frequência, intensidade e duração das contrações em cada etapa analisada;
- Estimular a atividade de contração através da administração de ocitocina no vigésimo dia de prenhez e compará-la com o perfil de contração normal no mesmo dia de prenhez;
- Verificar a possibilidade de uma nova técnica biomagnética em realizar análises *in vivo* da atividade mecânica uterina durante a prenhez.

Fundamentos Teóricos

I. O Útero

O útero é um órgão muscular do sistema genital feminino o qual oferece proteção mecânica, sustentação nutricional e remoção de resíduos do embrião e feto. Além dessas funções, a contração muscular da parede uterina tem um papel importante na expulsão do feto no momento do nascimento.

Subdividido em três camadas, o útero comporta a camada interna denominada endométrio; a camada intermediária denominada miométrio; e camada externa denominada perimétrio (figura 1). As camadas internas e externas são responsáveis pelo revestimento, o endométrio é composto por tecido epitelial altamente vascularizado, ao passo que o perimétrio é composto por tecido conjuntivo.

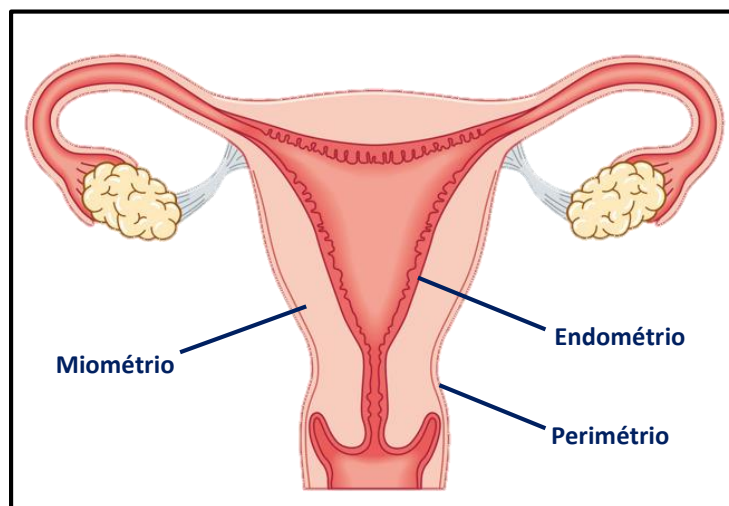


Figura 1: Ilustração das camadas uterinas. Adaptado de https://pt.pngtree.com/freepng/female-genital-organs_3110405.html

O miométrio, por sua vez, é dividido em outras três subcamadas: *stratum subvasculare* (interna), *stratum vasculare* (intermediária) e *stratum supravasculare* (externa). Cada uma delas possui fibras musculares com organização específica, sendo circular na camada interna, plexiforme na camada intermediária e longitudinal na camada externa, conforme ilustrado na figura 2 (PETRONELLA et al., 2017).

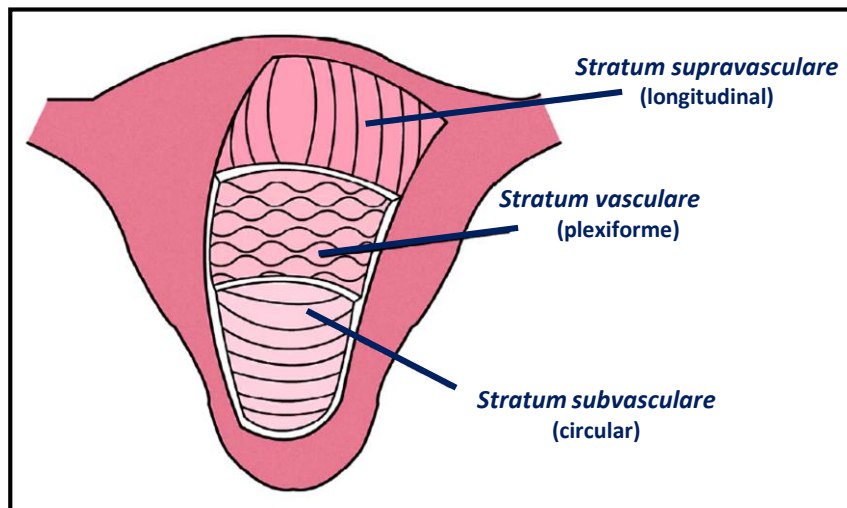


Figura 2: Ilustração das camadas musculares do miométrio. Adaptado de Petronella et al. 2017.

Apesar de serem anatomicamente diferentes, o útero humano e o útero das ratas usadas em laboratórios, *Rattus Norvegicus*, possuem semelhanças quanto às camadas, inervação e função, permitindo um estudo comparativo entre as duas espécies (DEVEDEUX et al., 1993). A principal diferença entre eles está no fato do útero humano ser constituído apenas por um canal cervical, enquanto nas ratas existem dois canais cervicais partindo de uma vagina simples (figura 3) (MARTINS et al., 2011; SOWASH, 2009).

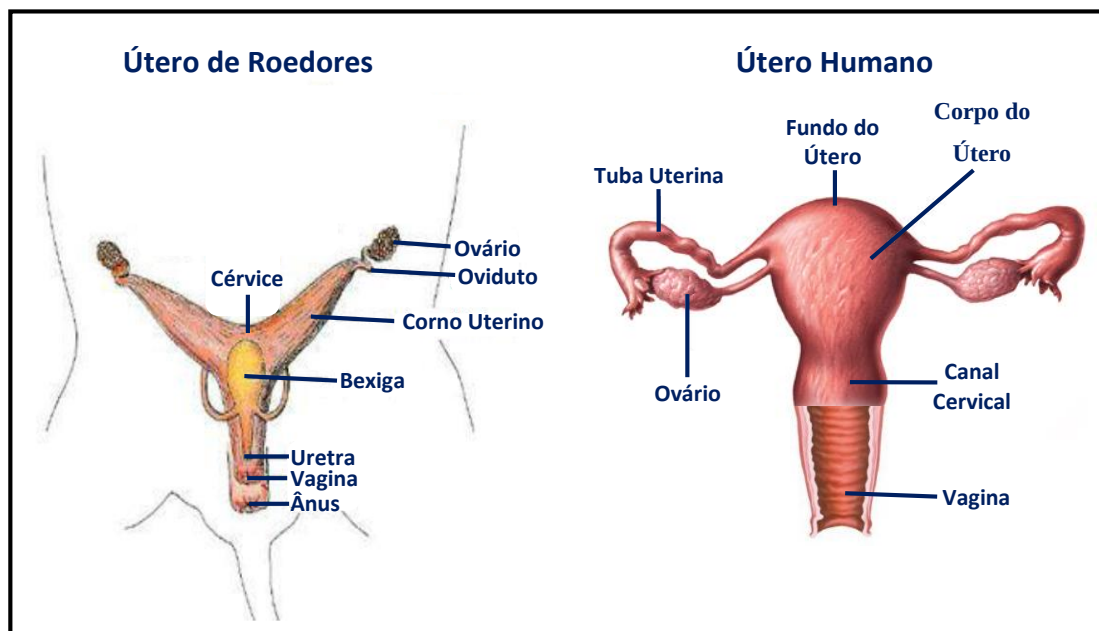


Figura 3: Anatomia do útero de roedores e humano. Adaptado de Sowash (2009) e <https://holadoctor.com/es/enfermedades-y- condiciones/anatom%C3%ADa-uterina>.

II. A Contração Uterina

O controle da contratilidade uterina é realizado por dois mecanismos: o sistema nervoso autônomo (SNA) e as células de marca-passo presentes no miométrio. O SNA compreende o sistema nervoso parassimpático (SNAP), cuja origem é na raiz sacral de 2 à 4 e entra no útero através da cérvix; e o sistema nervoso simpático (SNAS), o qual se origina da torácica 10 à lombar 2 e entra lateralmente no fundo do útero (PETRONELLA et al., 2017). No caso do sistema parassimpático, a resposta uterina depende do neurotransmissor liberado, acetilcolina promove excitação enquanto óxido nítrico promove relaxamento, por exemplo. Já no sistema simpático, a resposta depende da ligação da noradrenalina à receptores alfa-adrenérgicos ou beta-adrenérgicos para causar excitação ou relaxamento, respectivamente (PETRONELLA et al., 2017).

As células de marca-passo uterinas desempenham papel central no controle da atividade contrátil devido à capacidade do útero de se contrair sem a necessidade de estímulo nervoso ou hormonal (LAMMERS, 2013; MARSHALL; M.J, 1959; MATTHEW; SHMYGOL; WRAY, 2004; RABOTTI; MISCHI, 2015). Diversos estudos já foram realizados com a finalidade de se elucidar o mecanismo e a posição destas células especiais (BLANKS; SHMYGOL; THORNTON, 2007; DEVEDEUX et al., 1993; LAMMERS et al., 1994, 2015), porém, até o presente momento, não houve conclusão definitiva sobre elas no útero. Nos estudos, os avanços mais conclusivos apontam uma maior probabilidade de incidência de células de marca-passo nas bordas ovarianas e no ligamento mesentérico de ratas prenhes (FUCHS, 1969; LAMMERS et al., 1994, 2015). Contudo, existem autores que afirmam que aparentemente qualquer célula pode se comportar como marca-passo (GARFIELD; MANER, 2007; KLEINHAUS; KAO, 1969).

No trato gastrintestinal, bexiga e próstata, células específicas promovem o controle da atividade contrátil, sendo denominadas células intersticiais de Cajal (ICC) (AL-SHBOUL, 2013; FEENEY; ROSENBLUM, 2014; SANDERS, 2000; SERGEANT et al., 2000). Estas células são responsáveis pela criação de oscilações rítmicas nos potenciais de membranas das células musculares lisas, fazendo com que potenciais de ações sejam propagados através do órgão. No útero humano foram evidenciadas células semelhantes às ICC, chamadas de *interstitial Cajal-like cells* (ICLC), com receptores para estrógeno e progesterona e próximas a neurônios motores e capilares vasculares

(CIONTEA et al., 2005; CRETOIU, 2006; DUQUETTE et al., 2005). Entretanto, seus mecanismos de ação permanecem obscuros e ainda não foram reportados dados conclusivos.

Para que ocorra a contração muscular uterina é necessário a propagação de potenciais de ação (PA) pelas células de marca-passo para as demais células musculares. Esta propagação é feita através das junções tipo *gap* (BUHIMSCHI et al., 1998; GARFIELD; MANER, 2007), as quais são junções intercelulares de baixa resistência elétrica que permitem uma comunicação rápida entre células musculares vizinhas (ESWARAN et al., 2002; RABOTTI et al., 2008). Segundo Devedeux e colaboradores (1993), o número de junções tipo *gap* aumentam com o desenvolvimento da gestação, de modo a possuírem papel fundamental na coordenação e propagação de estímulos durante a atividade de parto (DEMIANCZUK; TOWELL; GARFIELD, 1984; GARFIELD; BLENNERHASSETT; MILLER, 1988).

Ao passo que o PA é transmitido, ocorre uma alteração na permeabilidade da membrana celular das células musculares. Deste modo, ocorre o influxo de íons cálcio que no interior da célula se ligam à calmodulina, formando o complexo cálcio-calmodulina (Ca-CAM). O complexo Ca-CAM, por sua vez, ativa a miosina quinase de cadeia leve (MLCK) que fosforila a miosina quinase leve (MLC), expondo o sítio de ligação da miosina. O complexo Ca-CAM, no filamento de actina, provoca a mudança de conformação da tropomiosina, expondo o sítio de ligação da actina. Com os sítios de ligação expostos, o filamento de actina e miosina se ligam, formando as pontes cruzadas. Por fim, a cabeça da miosina promove o deslizamento do filamento de actina, caracterizando a contração total do útero (MATTHEW; SHMYGOL; WRAY, 2004).

Hormônios como estrógeno e progesterona possuem a capacidade de alterar os PA (HOLGER MAUL et al., 2003), e por isso, exibem papéis reguladores na atividade contrátil uterina. Segundo alguns registros, o estrógeno aumenta os potenciais de modo a viabilizar *burst* (“trens”) que culminam na contração muscular, enquanto a progesterona aumenta o potencial de membrana, evitando a contração (MARSHALL; M.J, 1959).

As prostaglandinas também mostraram ser importantes mediadores das contrações (CARSTEN, 1974; SMITH; TEMPLE, 2006; VANE; WILLIAMS, 1973). Durante o ciclo menstrual, as prostaglandinas apresentam picos elevados, podendo estar relacionadas com o transporte rápido de espermatozoides para as tubas uterinas

(BYGDEMAN et al., 1979; BYGDEMAN; ENEROTH, 1978; O'BRIEN; W.F., 1995). Contudo, sua principal atuação ocorre durante o trabalho de parto como potentes estimulantes uterinos (BLANKS; SHMYGOL; THORNTON, 2007; MASLOW; LYONS, 2004). Assim como as prostaglandinas, ocitocina também atua na regulação da atividade contrátil durante o ciclo menstrual e durante a expulsão do feto (AMICO; SEIF; ROBINSON, 1981a; BLAICHER et al., 1999; LAMMERS et al., 1999).

III. Ocitocina

A ocitocina é um hormônio natural produzido nos núcleos paraventriculares e supra-ópticos do hipotálamo e armazenado e liberado pelo lóbulo posterior da glândula pituitária (SHYKEN; PETRIE, 2006). Sua liberação é feita de maneira pulsátil em resposta direta aos estímulos provenientes da mama e do trato genital inferior via neurônios ligados aos núcleos paraventriculares do hipotálamo (SHYKEN; PETRIE, 2006). Seu mecanismo de ação depende de receptores específicos de ocitocina, que após uma complexa cascata fisiológica, causam a liberação de cálcio pelo retículo sarcoplasmático (BLANKS; SHMYGOL; THORNTON, 2007). Estes receptores estão presentes em órgãos como cérebro, ovário e principalmente no útero e glândulas mamárias (KIMURA et al., 1994).

A ocitocina está presente tanto no ciclo menstrual quanto na fase final da gestação. Durante o ciclo menstrual, a ocitocina apresenta níveis elevados na fase folicular (AMICO; SEIF; ROBINSON, 1981b), o que indica uma possível relação com o transporte de espermatozoides (BLAICHER et al., 1999). No último terço da gestação ocorre um aumento dos receptores de ocitocina (SHYKEN; PETRIE, 2006), fato que contribui com a ação deste hormônio para sincronização das contrações de diferentes regiões (CARSTEN, 1974; CLARK et al., 2009; FUCHS; POBLETE, 1970; LAMMERS et al., 1999) e no aumento da frequência, intensidade e duração destas contrações (BLANKS; SHMYGOL; THORNTON, 2007), caracterizando as contrações efetivas de parto. Além disto, a ocitocina está relacionada com a estimulação das glândulas mamárias para a liberação do leite materno (SHYKEN; PETRIE, 2006).

Na prática obstétrica, a ocitocina é amplamente utilizada para estimular a atividade uterina quando o trabalho de parto não apresenta progresso e o parto normal pode não ocorrer (CLARK et al., 2009). O método de utilização segue protocolos de baixa

e alta doses de administração. Apesar das altas doses estarem relacionadas com a diminuição dos partos cesarianos, aumento do parto normal espontâneo e trabalho de parto mais curto, ela apresenta o risco de causar hiperestimulação (WEI et al., 2010). Neste contexto, ainda não existe consenso a respeito da dose ótima de administração deste estimulante uterino (SMITH; MERRILL, 2006; WEI et al., 2010).

Fuchs e Poblete (1970) mostraram que a ocitocina obteve sucesso na indução de partos em roedores. Segundo seus estudos, as contrações iniciadas pela ação da ocitocina foram semelhantes às aquelas geradas naturalmente no momento de expulsão do feto (FUCHS; POBLETE, 1970). Este efeito excitatório é observado a nível elétrico, pois a ocitocina provocou alteração da quiescência uterina, aumento na frequência de *bursts*, quantidade de *spikes* (picos) de potenciais de ação dentro dos *bursts* e da amplitude e duração dos *spikes* singulares nos úteros de coelhos e roedores (KLEINHAUS; KAO, 1969; KURIYAMA, 1961; NAKAO et al., 1997).

IV. Monitoramento da contração uterina

O monitoramento da contração uterina pode ser realizado tanto em humanos quanto em animais. Ainda, este monitoramento pode ser feito *in vivo*, com o órgão em ambiente fisiológico real, ou *ex vivo*, com o órgão exteriorizado e isolado. Independentemente de qual seja a metodologia empregada, o grande objetivo é analisar os principais parâmetros da contração uterina: frequência, número de contrações em um intervalo de tempo; intensidade, força de uma contração; e duração, tempo médio entre o início e o final de uma contração.

No homem, as técnicas mais utilizadas são: cateter de pressão intrauterina, ultrassonografia transvaginal, tocodinamometria e eletrohisterografia. Além destas, são citadas como técnicas viáveis a ressonância magnética, a histerossalpingocintilografia e a magnetomiografia (COHEN, 2017; EULIANO et al., 2013; PETRONELLA et al., 2017).

O método considerado padrão para análise da contração uterina é o cateter de pressão intrauterina (IUPC). Ele consiste na inserção de um ou mais cateteres de pressão no interior do útero fixados no endométrio. Através da manometria, esta técnica é capaz de medir o aumento ou diminuição da pressão interna do útero, e assim quantificar

frequência, intensidade, duração e direção das contrações uterinas. Contudo, esta técnica apresenta riscos para a saúde gestacional, pois a fixação dos cateteres pode causar sangramentos e infecções. Ainda, a invasividade da técnica causa desconforto e irritações, o que impossibilita sua aplicação na rotina clínica (BAKKER; ZIKKENHEIMER; VAN GEIJN, 2008; BUHIMSCHI et al., 1998; EULIANO et al., 2013; HADAR et al., 2015). Salienta-se que esse tipo de medida em ambiente oclusivo, apresenta falhas na medida da variação de pressão.

Uma alternativa viável e semi-invasiva para a rotina clínica é a ultrassonografia transvaginal (TVUS). Esta técnica consiste na inserção da *probe* de ultrassonografia no interior da vagina para visualização das contrações no plano sagital. Após a aplicação da técnica, as gravações são assistidas várias vezes em velocidade normal e acelerada para quantificação de frequência e direção de contração. Apesar de permitir a visualização da contração por vídeo, a TVUS causa desconforto em sua utilização e não é capaz de quantificar intensidade e duração, além de ser altamente subjetiva por sua dependência do operador da *probe* e da experiência dos visualizadores das gravações (FINBERG, 2004; IJLAND et al., 1996; SOLOMON et al., 1994).

Com a vantagem de ser um método não invasivo, a tocodinamometria (TOCO) é uma técnica cuja aplicação é feita na superfície abdominal com um cinto posicionado na direção do fundo do útero. O dispositivo preso ao cinto, através da extensometria, é capaz de quantificar a frequência e a duração, mas não promove análise da intensidade das contrações. Em estudos comparativos, a TOCO apresentou dificuldades de aplicação em pacientes obesos devido à sensibilidade, problemas com calibração e imprecisão durante as medidas (EULIANO et al., 2013; HADAR et al., 2015; VLEMMINX et al., 2017).

A eletrohisterografia (EHG) é uma técnica amplamente utilizada para aferir as contrações uterinas de maneira não invasiva. A técnica consiste na utilização de eletrodos fixados na superfície abdominal que captam os sinais elétricos (pulsos) das fibras musculares ao se despolarizarem. Com a capacidade de quantificação de frequência, intensidade, duração e direção, a EHG é um dos métodos mais precisos juntamente com o IUPC. Entretanto, esta técnica apresenta uma medida indireta da atividade mecânica e é altamente dependente de técnicas computacionais para uma visualização clara da atividade uterina (COHEN, 2017; LANGE et al., 2014; MIKKELSEN et al., 2013; RABOTTI et al., 2010; VANNER; GARDOSI, 1996).

A ressonância magnética (MRI) mostrou ser uma técnica útil para análise de imagens detalhadas da parede uterina em diferentes camadas e frequência de contração, porém não é capaz de quantificar intensidade e duração (KIDO et al., 2008; NAKAI et al., 2013; WATANABE et al., 2015). As outras desvantagens são o custo do exame e o tempo de execução da técnica.

A histerossalpingocintilografia (HSSG) é uma técnica baseada na inserção de uma suspensão com traçadores radioativos na cavidade uterina. A medida é realizada através do deslocamento da suspensão e é considerada a melhor técnica para análise de duração de contração. Contudo, ela não é capaz de medir frequência e intensidade, e por se tratar de uma técnica que se utiliza de radiação, possui um alto custo e não é utilizada na rotina clínica (BULLETTI; DE ZIEGLER, 2005; KUNZ et al., 1996).

Através da detecção de campos magnéticos gerados pela atividade elétrica contrátil, a magnetomiografia (MMG) é capaz de obter imagens do órgão e quantificar frequência e parâmetros da atividade elétrica uterina. Não obstante, o equipamento possui altíssimo custo de implementação, além de apresentar uma análise indireta do processo mecânico (ESWARAN et al., 2009; GOVINDAN et al., 2015).

Em experimentações que envolvem modelo animal, o modelo *ex vivo* de estudo mostra ser um dos mais aplicados na literatura (OHASHI; SUMIKURA; TATEDA, 2007; PHELPS; PEULER, 2010; WONG; O; TANG, 2013). As vantagens nestes tipos de estudos são a possibilidade analisar a atividade uterina isoladamente e o baixo custo de implementação, embora promove uma análise fora do ambiente fisiológico real. Para animais, as técnicas mais utilizadas são baseadas em transdutores de força e eletromiografia.

De modo geral, uma pequena amostra de tecido muscular uterino é colocada em uma solução fisiológica (banho de órgãos), ligada à um transdutor de força e submetida à uma tensão basal. Desta forma, o transdutor de força é capaz de quantificar frequência, intensidade e duração das contrações através da força realizada pela amostra (CHKEIR et al., 2013; HURD et al., 1998; NIKOLAJSEN et al., 2011; ZHOU et al., 2013). Muitas vezes, esta metodologia é realizada juntamente com a eletromiografia com a finalidade de se analisar os processos mecânico e elétrico da contração.

A eletromiografia (EMG) é uma técnica cujo princípio físico é semelhante ao descrito para a EHG. A diferença entre elas está no fato dos eletrodos estarem fixados

diretamente no musculo no caso da EMG. Sendo assim, a EMG fornece informações sobre frequência, intensidade, duração e direção, mas semelhante à EHG, apresenta uma análise apenas do processo elétrico (BUHIMSCHI et al., 1998; KOTHARI et al., 2008; LAMMERS et al., 2015).

V. Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC)

O sensor BAC é constituído por um par de transformadores com núcleo de ar, no qual as bobinas primárias (externas) são responsáveis pela geração do campo magnético (excitadoras) e as bobinas secundárias (internas) são responsáveis pela detecção do campo magnético (detectoras), conforme ilustra a figura 4. Os pares excitação/detecção estão separados por uma linha de base com as bobinas secundárias organizadas em configuração gradiométrica de primeira ordem. Deste modo, o próprio sistema promove uma subtração entre os fluxos magnéticos detectados pelo par de medição e o par de referência com a finalidade de se diminuir o ruído ambiental e aumentar a sensibilidade da medida (BAFFA et al., 1995; MIRANDA et al., 1992).

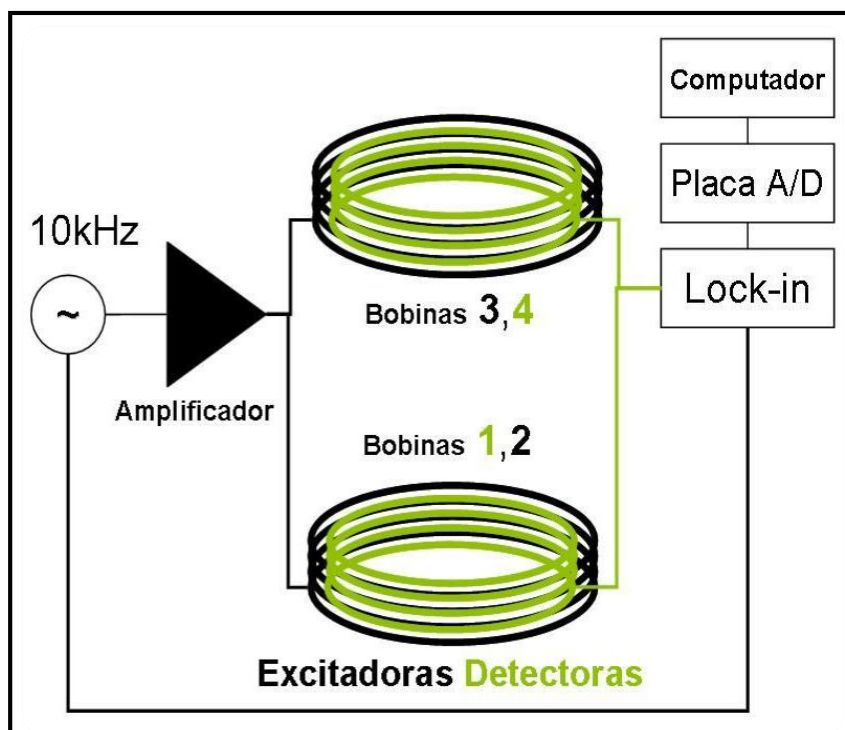


Figura 4: Ilustração do sistema BAC. Bobinas de detecção (1 e 4) e bobinas de excitação (2 e 3).

Na ausência de qualquer material magnético o sensor permanece balanceado e o sinal obtido é mínimo, tido como basal. Conquanto, com a aproximação de um material magnético do par de bobinas de medida, ocorre um desbalanceamento desse fluxo basal, de modo a gerar uma força eletromotriz (*fem*) de saída proporcional à distância entre o material e o sensor. Utilizando-se de um amplificador sensível à fase, uma placa analógico/digital e um computador, esta *fem* pode ser registrada e expressada em curvas tempo-dependentes. Como o sinal é dependente da distância entre sensor e material magnético, pequenas modificações na posição do marcador proporcionadas pela contração/relaxamento, são detectadas. Sendo assim, com a prévia fixação de um material magnético ao meio biológico de interesse, é possível registrar o deslocamento do marcador e consequentemente a movimentação do meio biológico (AMÉRICO et al., 2010; MIRANDA et al., 1992). O sensor utilizado neste trabalho apresenta características específicas para utilização em animais de pequeno porte. Suas especificações estão detalhadas na seção V da metodologia.

Metodologia

Este estudo foi desenvolvido no laboratório de Biomagnetismo, situado no Departamento de Física e Biofísica do Instituto de Biociências de Botucatu (IBB – UNESP).

I. Modelo Experimental Animal

Todos os procedimentos foram realizados sob a supervisão do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA – IBB) sob o protocolo número 754 – CEUA. Todos os animais foram obtidos do Laboratório ANILAB e mantidos no biotério do departamento de Fisiologia do Instituto de Biociências de Botucatu.

Foram utilizadas 40 ratas fêmeas da linhagem Wistar com idade entre 10 e 15 semanas e com peso entre 200 e 300 g. Os animais foram mantidos em ambiente controlado com temperatura de 24 ± 2 °C, umidade de 50 ± 10 %, ciclo claro/escuro de 12 horas e alimentação (ração e água) *ad libitum*.

II. Implante Cirúrgico do Marcador Magnético

Através de uma laparotomia medial, o marcador magnético foi implantado utilizando a combinação ketamina/xilazina (0,1 mg/kg IM, contendo 7,5 ml de ketamina e 2,5 ml de xilazina) como anestésico. O marcador, um núcleo de ferrita (MnFe_2O_4), foi fixado na serosa do corno uterino direito de todos os animais utilizados neste estudo. A figura 5 ilustra as características do marcador magnético. Após a cirurgia foi respeitado o tempo de 1 semana de recuperação para prosseguir com o experimento.

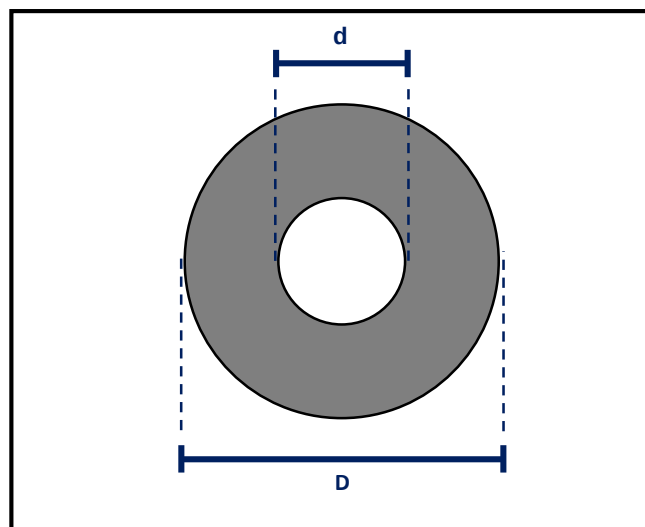


Figura 5: Características do marcador magnético. Diâmetro externo (D) de 4,20 mm, diâmetro interno (d) de 1,15 mm e espessura de 1,00 mm.

III. Grupos experimentais

Foram montados 4 grupos experimentais para a realização deste estudo:

- Grupo A: 6 animais com marcação na borda ovariana do corno uterino;
- Grupo B: 6 animais com marcação na região medial do corno uterino;
- Grupo C: 6 animais com marcação na borda cervical do corno uterino;
- Grupo D: 8 animais com marcação na borda cervical do corno uterino direito para medidas com ocitocina.

A figura 6 ilustra a posição exata do marcador no útero do animal para cada grupo experimental.

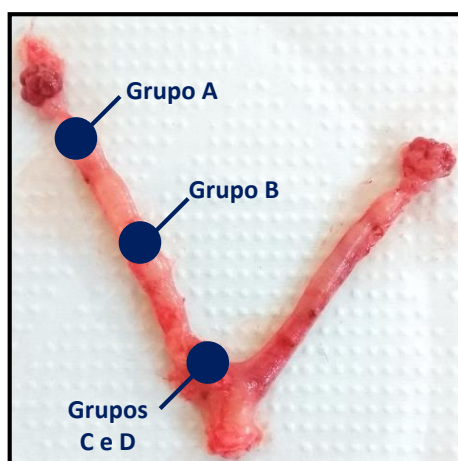


Figura 6: Posição dos marcadores nos grupos experimentais.

IV. Indução e Identificação da Prenhez

O ciclo estral dos roedores tem duração média de 4 dias é dividido em quatro fases: estro, metaestro, diestro e proestro. A fase em que a fêmea está apta a receber o macho (cio) é a fase estro, caracterizada pelo pico de progesterona (JUNIORR et al., 2009; MARCONDES; BIANCHI; TANNO, 2002). Para identificação desta fase foi utilizado o protocolo de lavado vaginal (figura 7 – A) descrito por Marcondes *et al.* (2002).

Utilizando uma pipeta, o lavado vaginal é feito com a introdução de 50 µl soro fisiológico (0,9 %, NaCl) na vagina do animal. O líquido, por sua vez, é coletado e analisado em microscópio para visualização da presença de células cornificadas (figura 7 – B) que caracterizam a fase estro. Uma vez identificado o cio, a rata foi colocada juntamente com o macho para acasalamento no final do dia.

No dia seguinte, para confirmação do acasalamento, o lavado vaginal foi realizado novamente em busca da visualização de espermatozoides em microscópio. Constatado os espermatozoides, o animal era separado para a realização das medidas, sendo este dia considerado o dia zero de prenhez.

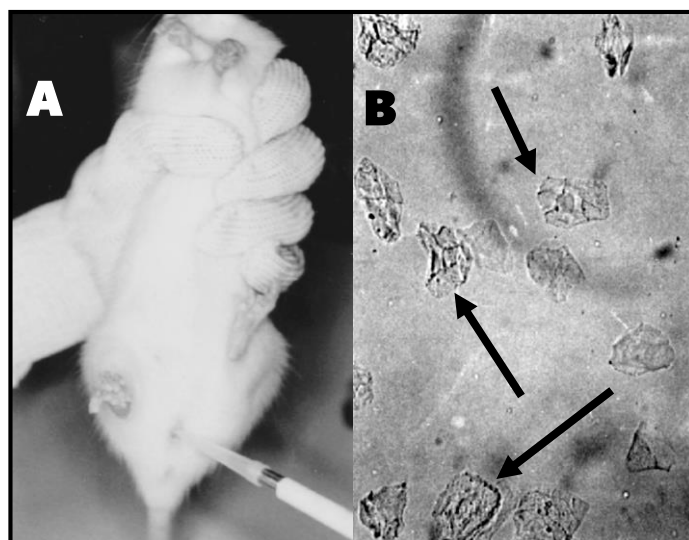


Figura 7: Ilustração do lavado vaginal (A) e da visualização microscópica para identificação do cio (B). As setas em B indicam as células cornificadas que caracterizam a fase estro. Adaptado de Marcondes et al. (2002).

V. Realização das Medidas

Antes de se realizar as medidas propostas neste trabalho, foi feita a validação da BAC através da técnica de extensometria utilizando o *Strain-Gauge*. A metodologia e os resultados obtidos estão brevemente descritos no Apêndice A.

As medidas foram realizadas utilizando o anestésico inalatório isoflurano (100%, Isoforine, Cristália®) com 5% em dose para indução do estado anestesiado. Segundo Lazlo e colaboradores (1992), os anestésicos inalatórios são conhecidos por diminuir a atividade uterina miometrial. Contudo, estudos mais recentes mostraram que o isoflurano é o anestésico que menos provoca efeito depressivo na contratilidade uterina, sendo próximo a zero quando administrado em baixas doses (LASZLO et al., 1992; YOO et al., 2006). Com a finalidade de não interferir na contratilidade uterina, foi utilizada uma dose de 0,8% em máscara para manutenção do estado anestesiado dos animais.

Os animais foram posicionados em decúbito ventral para medidas do grupo A e em decúbito dorsal para medidas dos demais grupos experimentais. O sensor BAC foi posicionado externamente sobre o marcador (figura 8), ligado ao *Lock-in* (*Stanford Research System*, modelo SR830 DSP) e ao amplificador (Techvox, modelo TIP800 Ω 2 AB “*Second Generation*”). As características do sensor utilizado e os parâmetros de ajuste da instrumentação estão demonstrados no Apêndice B.



Figura 8: Posicionamento do sensor durante a realização das medidas. O sensor era posicionado externamente sobre o marcador sem pressioná-lo contra o animal.

VI. Medidas da Contratilidade Uterina Durante a Prenhez

A gestação dos roedores tem duração de 21 dias, os quais foram monitorados os dias 0, 7, 14, 20 e 21 de prenhez dos animais dos grupos A, B e C. As medidas tiveram duração de 30 minutos e eram realizadas no período vespertino. No dia 21 de prenhez os experimentos foram realizados com a rata já em trabalho de parto para que o peristaltismo uterino captado fosse aquele referente à expulsão do feto. Para a confirmação da prenhez saudável, esperava-se o nascimento dos filhotes após a medida do dia 21. A figura 9 demonstra o cronograma experimental realizado para cada animal.

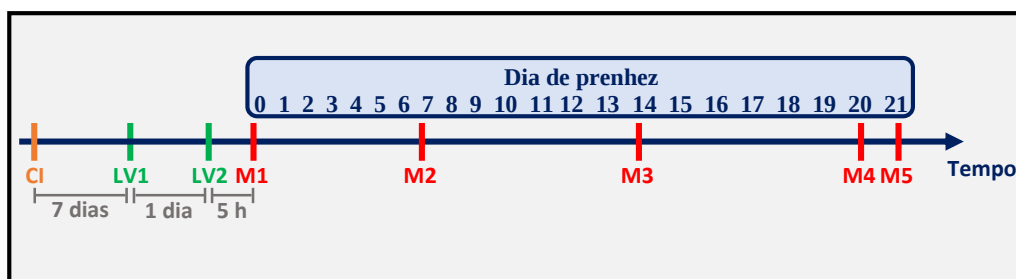


Figura 9: Cronograma de medidas durante a prenhez. Cirurgia de implante do marcador magnético (CI); lavado vaginal para identificação do cio (LV1); lavado vaginal para confirmação do acasalamento (LV2); medidas com duração de 30 minutos (M1, M2, M3, M4 e M5).

VII. Medidas das Contrações Uterinas Induzidas por Ocitocina

As medidas com ocitocina foram realizadas apenas no dia 20 de prenhez com os animais do grupo D. Após 15 minutos de medida controle (sem drogas), foi administrado 0,2 ml de ocitocina (100%, Ocitovet, Ceva®) sem interrupção, pela veia caudal. Após a injeção da droga, foram registrados mais 30 minutos, totalizando 45 minutos de medida. A figura 10 apresenta o cronograma para estas medidas.

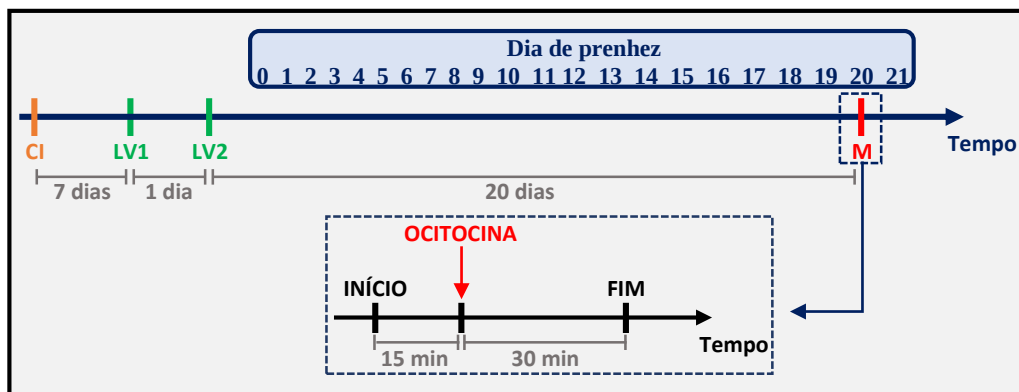


Figura 10: Cronograma de medidas com administração de ocitocina. Cirurgia de implante do marcador magnético (CI); lavado vaginal para identificação do cio (LV1); lavado vaginal para confirmação do acasalamento (LV2); medida com duração de 45 minutos (M).

VIII. Análise dos Dados

Todos os dados foram coletados através do software Acknowledge 4.0.1®, salvos em formato ASCII e processados em ambiente Matlab®. Os resultados foram analisados por inspeção morfológica qualitativa do perfil de curva para cada experimento realizado. A intensidade e a duração das contrações foram quantificadas através da inspeção visual, na qual a intensidade foi medida de pico a pico e a duração pela abertura da base de um evento contrátil. As frequências das contrações foram quantificadas através da transformada rápida de Fourier (FFT) e da *Running Spectrum Analysis* (RSA).

A FFT e a RSA são formas alternativas de interpretação de sinal, as quais convertem o sinal em uma representação no domínio da frequência. Como resultado, a FFT exibe uma curva que identifica as frequências presentes no sinal, ao passo que a RSA exibe uma análise temporal das frequências (SEMMLOW, 2009; STOREY, 2002). Com isso, obtêm-se informações acerca do instante de tempo exato que determinada frequência se manifesta no sinal.

IX. Análise estatística

Foram realizadas comparações entre todos os dias de prenhez; entre as três posições marcadas; e entre as atividades dos dias 20 e 21 da prenhez controle (normal) e a atividade induzida por ocitocina no dia 20 de prenhez. As frequências das contrações foram quantificadas em contrações por minuto (cpm), a intensidade em Volts (V) e a duração em segundos (s).

Os resultados foram expressos em termos de média $\pm$ desvio-padrão e a análise estatística foi realizada através teste *t*-Student não pareado para amostras com distribuição normal e teste de Mann-Whitney para amostras com distribuição não normal para todas as comparações realizadas. O software utilizado foi o OriginPro 8® e valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

Resultados

Como resultados, foram obtidos 18 registros de atividade uterina para cada dia de prenhez analisado; 6 registros em cada posição do marcador; e 8 registros de atividade uterina induzida por ocitocina.

Os sinais da contratilidade uterina apresentaram eventos que foram classificados como oscilações basais (OB) e contrações intensas (CI). O primeiro foi definido como sendo a movimentação discreta e periódica do órgão e representa as contrações basais de baixa intensidade. Estas oscilações foram divididas em oscilações de baixa frequência (OBF), menos de 3 oscilações por minuto; e oscilações de alta frequência (OAF), 3 ou mais oscilações por minuto. As contrações intensas representam a atividade aguda e intensa do órgão, as quais possuem alta intensidade e acarretam em uma diminuição considerável de sua forma e volume. Tanto as OB quanto as CI foram classificadas em irregular e regular. Na figura 11, um fragmento de sinal ilustra estes eventos juntamente com as FFT observadas para cada uma das contrações.

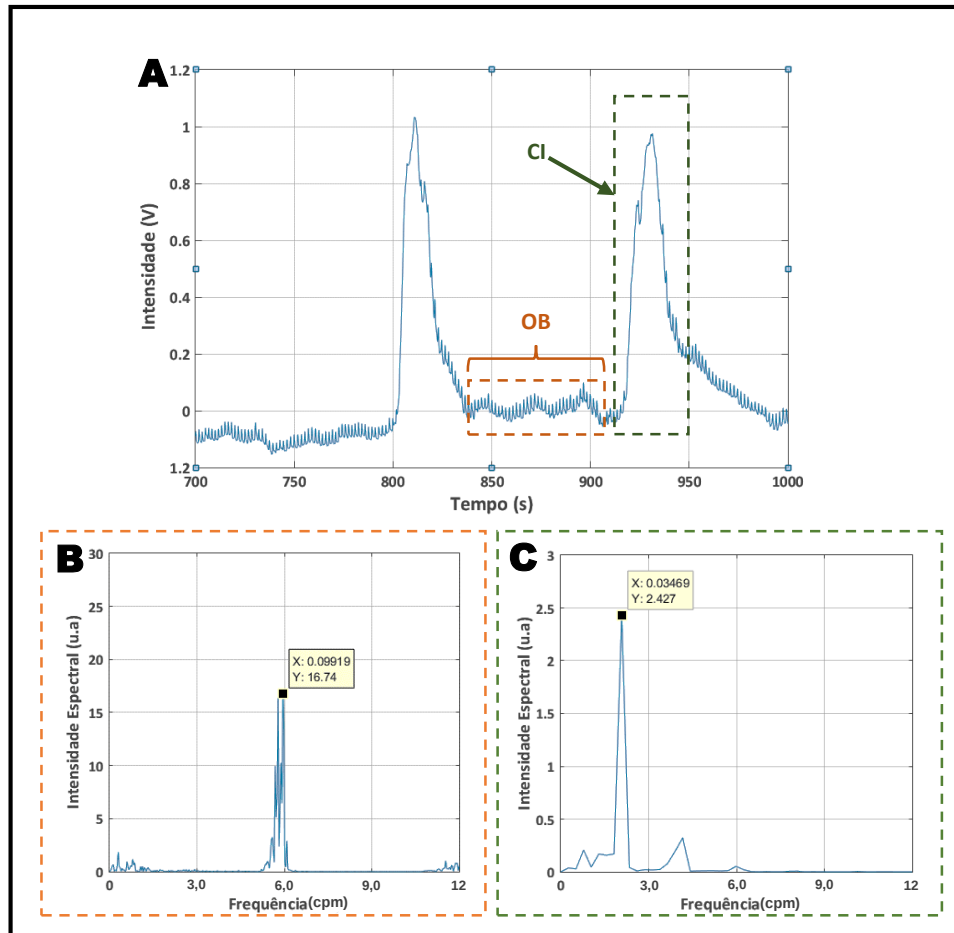


Figura 11: Exemplo de sinal de atividade contrátil uterina. Fragmento de sinal (A) contendo oscilações basais (OB) e contrações intensas (CI). Exemplo de transformada rápida de Fourier (FFT) para eventos de alta frequência (B) e eventos de baixa frequência (C).

Quanto à morfologia das contrações, a única diferença encontrada ocorreu na forma das CI, as quais apresentaram dois formatos distintos. O primeiro formato apresentou picos com base larga indicando contrações mais alongadas e definidas como CI do tipo aberta (figura 12 – A). O segundo formato apresentou picos com base curta, sinalizando contrações rápidas e foram definidas como CI do tipo *spike* (figura 12 – B).

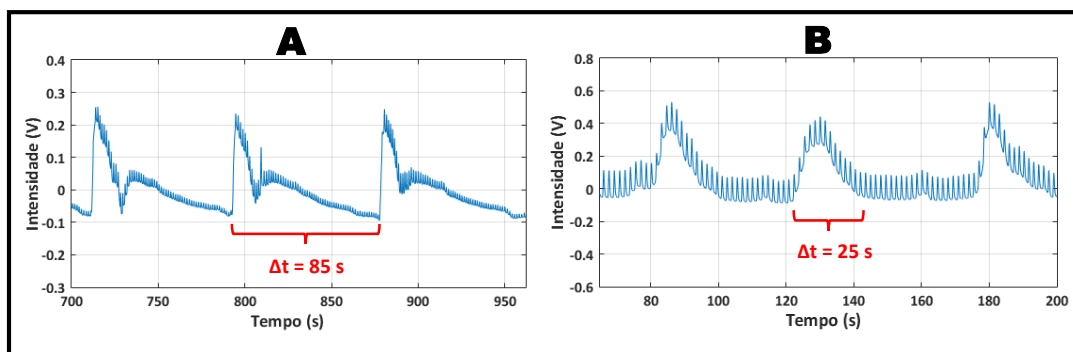


Figura 12: Ilustração do formato das contrações intensas tipo aberta (A) e tipo *spike* (B). Δt – intervalo de tempo.

Os sinais referentes aos dias de prenhez estão representados na figura 13. O perfil obtido no dia 0 (figura 13 – A) apresentou uma incidência de ambos eventos (100% de OB e 77% de CI) com característica irregular e com picos de CI em meio as OB. Nos dias 7 e 14 (figura 13 – B e C) os perfis se mostraram semelhantes, exibindo baixa incidência de CI irregulares (47%) e predomínio de OB regulares (70%). Apesar de semelhantes, o dia 14 apresentou OB mais intensas em comparação ao dia 7 de prenhez.

O dia 20 mostrou um perfil característico de transformação (figura 13 – D). Nele foi possível ver o predomínio de incidências de CI regulares de baixa intensidade (92%) juntamente com OB (89%). O dia 21 exibiu um perfil completamente diferente dos outros dias (figura 13 – E). Nele foi possível visualizar apenas a incidência de CI regulares e subsequentes (70%). Duas horas após os registros apresentados, os filhotes nasceram.

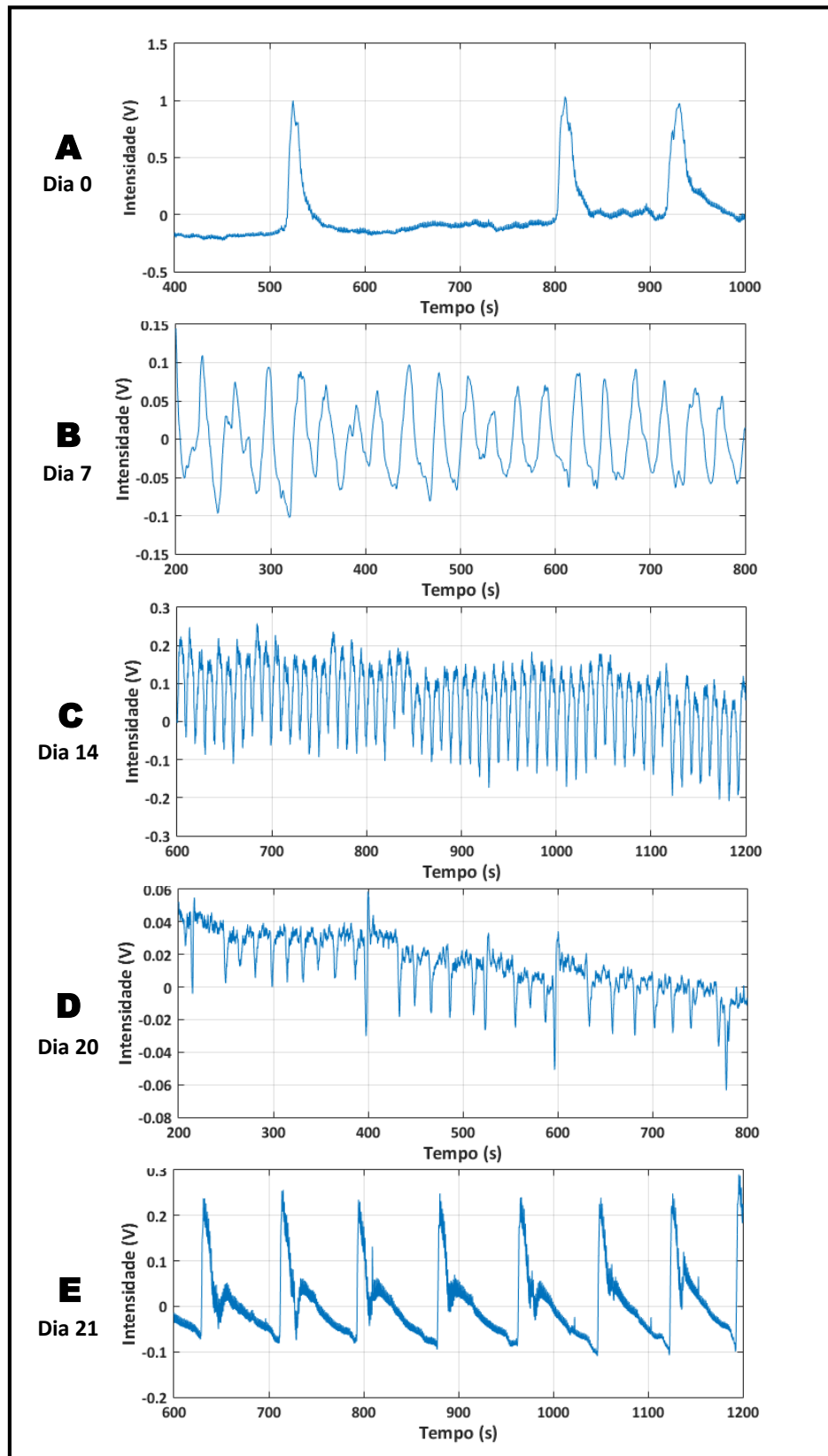


Figura 13: Ilustração do perfil de atividade uterina nos dias 0 (A), 7 (B), 14 (C), 20 (D) e 21 (E) de prenhez.

As OB, quando presente nos sinais, apresentou predominância de OAF em todos os dias: 88% no dia 0; 56% no dia 7; 100% no dia 14; e 59 % no dia 20. Ainda, foi observado a existência de ambos os tipos de oscilações concomitantes em alguns sinais (ocorrência de 18% no dia 0 e de 6% no dia 14). Neste caso, foi verificado que as OBF e OAF não ocorreram de forma simultânea e mostraram um perfil tipo “sanfona”, ao qual OBF se transformava em OAF e vice-versa.

A intensidade das OB apresentou variações ao longo da prenhez. As OB se mostraram mais intensas no dia 14, seguido por uma queda até atingir seu valor mais baixo no dia 20. A frequência das OB apresentou diferença estatística significativa apenas entre os dias 14 e 20 ($p = 0,003$). A figura 14 ilustra os valores médios da frequência oscilatória e intensidade em cada dia de prenhez para as OB.

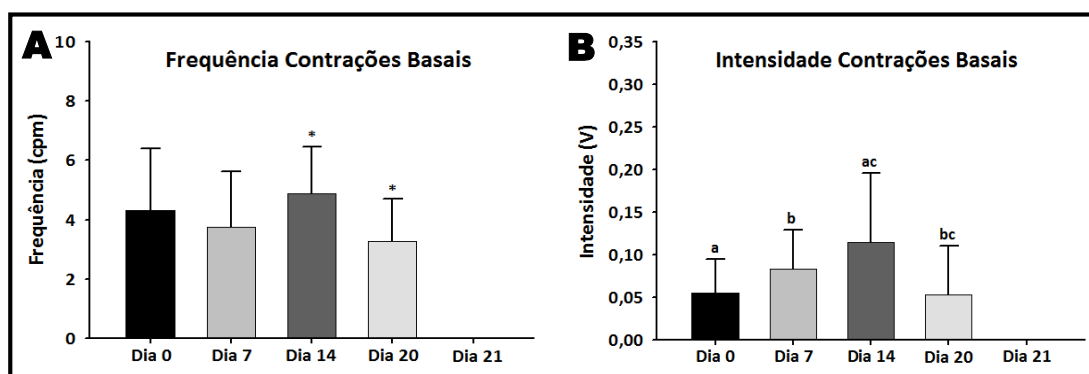


Figura 14: Frequência oscilatória (A) e intensidade (B) das contrações basais em cada dia de prenhez. Todos os dias apresentaram diferença estatística significativa em comparação com o dia 21. ^{*abc} $p < 0,05$ para teste *t*-Student (índices iguais indicam diferença estatística significativa).

As CI, quando presentes nos sinais, apresentaram menores frequências nos dias 0, 7 e 14 em comparação aos dias 20 e 21. A intensidade das CI não apresentou grandes diferenças entre os dias, exceto no dia 20, a qual apresentou seu valor mais baixo. A duração das CI foi menor nos dias 0 e 20, apresentou uma semelhança entre os dias 7 e 14, e atingiu seu maior valor no dia 21. A figura 15 ilustra os valores médios de frequência, intensidade e duração em cada dia de prenhez para as CI.

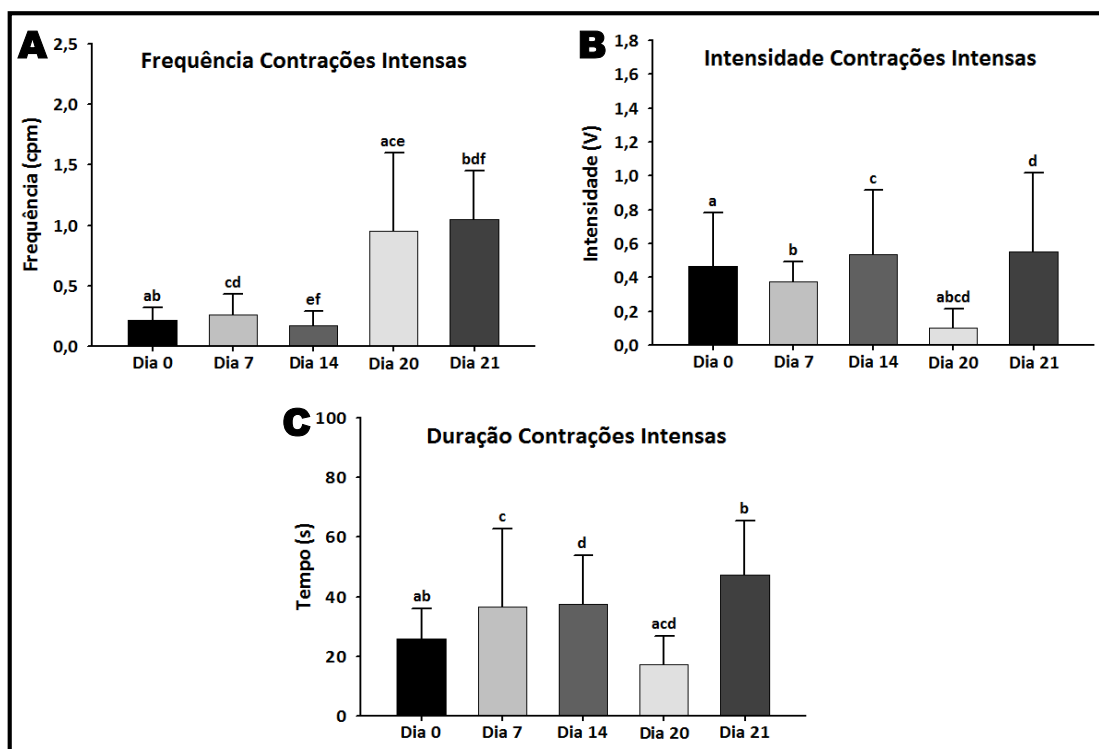


Figura 15: Frequência (A), intensidade (B) e duração (C) das contrações intensas em cada dia de prenhez. ^{abcdef} $p < 0,05$ para teste *t*-Student (índices iguais indicam diferença estatística significativa).

Não foi observado diferença entre os perfis de atividade uterina nas posições analisadas. Dentre os parâmetros de contração, apenas as durações de CI apresentou diferença ($p = 0,027$) entre a porção ovariana e a porção medial (grupos A e B). Em relação à morfologia das contrações, foi observado uma maior incidência de CI do tipo aberta no grupo A (75%) e uma equivalência de ambos os tipos no grupo C (50%). No grupo B, foi observado a prevalência de CI do tipo *spike* (78%). Contudo, observou-se uma tendência de manifestação de CI do tipo aberta no dia do parto em todos os grupos.

Nas medidas de contrações induzidas por ocitocina, a droga provocou uma alteração do perfil da atividade uterina. Foi visualizado um perfil quiescente com manifestação predominante de OB antes e, após a administração da droga, a manifestação de CI (86%). Foi observado uma transição de OB em CI nos primeiros 5 minutos após a administração. As CI pós ocitocina exibiram comportamentos regulares, revelando um perfil semelhante ao dia 21 de prenhez. Na grande maioria dos sinais (70%) foi observado uma queda na intensidade das CI após 10 minutos de efeito do fármaco. Houve uma queda no patamar basal do sinal logo após a administração de ocitocina em todos os animais. A figura 16 mostra um exemplo do perfil da atividade uterina com a administração de ocitocina.

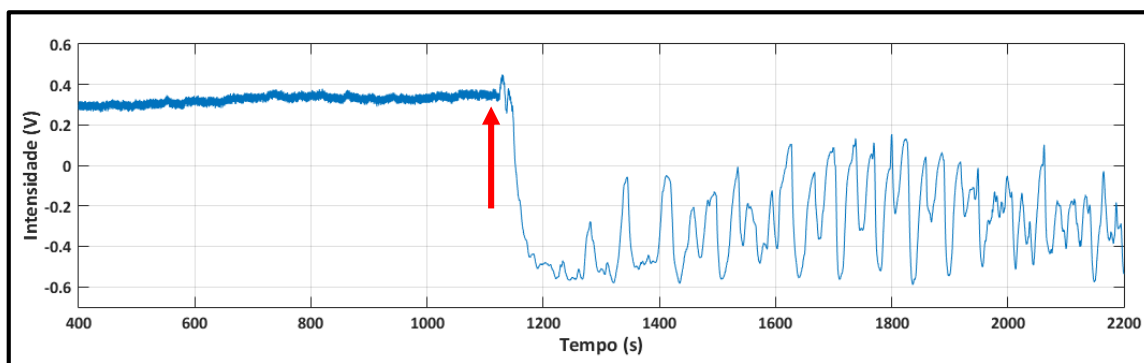


Figura 16: Ilustração do perfil de atividade uterina antes e depois da administração de ocitocina. A seta vermelha indica o instante exato em que a droga foi aplicada.

A frequência de CI pós-ocitocina apresentou valores maiores em comparação aos dias controles 20 e 21 (sem ocitocina), porém apresentou diferença estatística significativa apenas em relação ao dia 21 ($p = 0,026$). A intensidade das CI exibiu valor superior ao dia 20-controle e apontou semelhança com a intensidade no dia 21-controle. A duração das CI foi menor em relação ao dia 21-controle, porém muito superior ao dia 20-controle. A frequência, intensidade e duração das CI após a administração de ocitocina estão representadas na figura 17 juntamente com a comparação com os grupos controles.

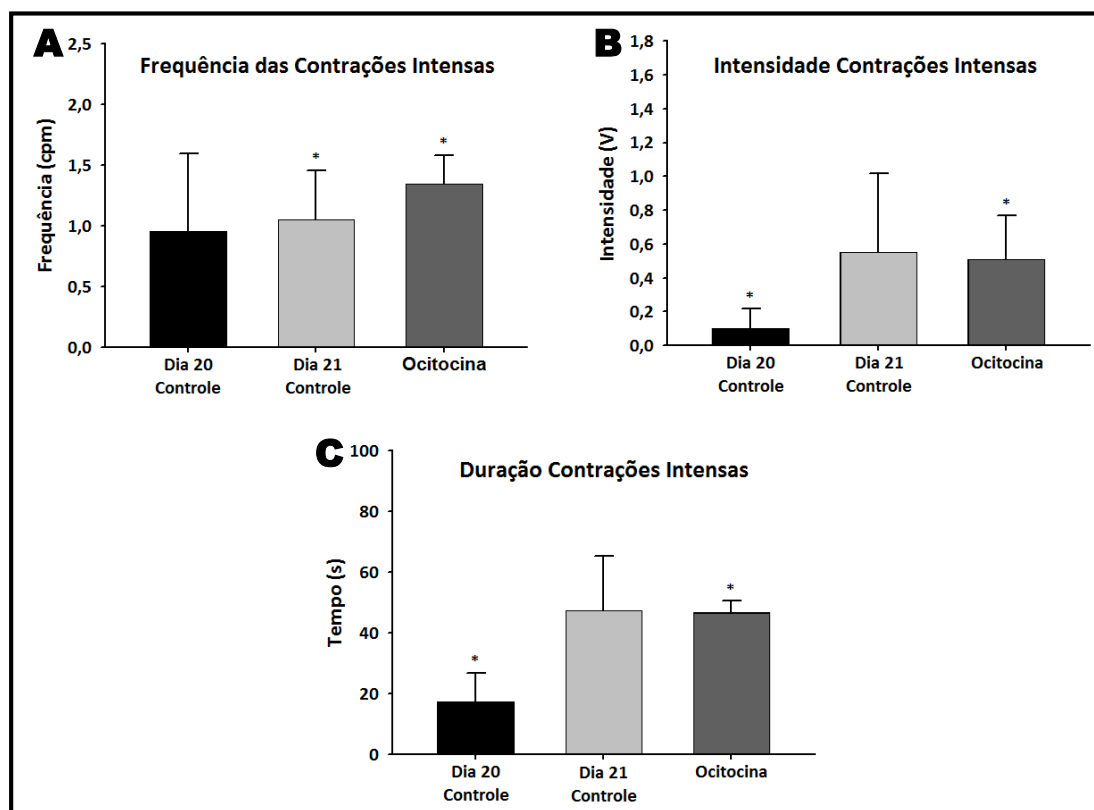


Figura 17: Frequência (A), intensidade (B) e duração (C) das contrações intensas dos grupos controles (dias 20 e 21) e pós ocitocina (ocitocina). * $p < 0,05$ para teste t -Student (índices iguais indicam diferença estatística significativa).

Discussão

Os resultados revelaram que a BAC é uma alternativa eficiente para monitorar a atividade mecânica uterina ao longo da prenhez, bem como possíveis alterações. Foram obtidos perfis de atividade para cada dia de prenhez proposto, além de possibilitar a quantificação dos principais parâmetros (frequência, intensidade e duração) de contração.

Em humanos, Caldeyro-Barcia e Alvarez descreveram dois tipos de contrações presentes no útero durante a gestação, as “ondas de Alvarez” e “Braxton-Hicks” (DEVEDEUX et al., 1993; NEWMAN, 2005). A primeira representa a atividade local dessincronizada que se manifesta em alta frequência e baixa intensidade, enquanto a segunda representa contrações efetivas que se manifestam em baixa frequência e alta intensidade (DEVEDEUX et al., 1993; NEWMAN, 2005). As OB, similares às “ondas de Alvarez”, apresentaram alta frequência e baixa intensidade ($4,11 \pm 1,84$ cpm e $0,07 \pm 0,06$ V), enquanto as CI, similares às ondas de Braxton-Hicks, apresentaram baixa frequência e alta intensidade ($0,59 \pm 0,54$ cpm e $0,39 \pm 0,35$ V). Isto sugere que a atividade uterina dos roedores possui semelhanças com a atividade uterina humana, guardadas as devidas proporções.

As OB apresentaram diferenças expressivas durante a prenhez. Em termos de frequência, as OB apresentaram até o dia 14 uma alta frequência, enquanto a partir do dia 20 apresentam uma queda em sua frequência de oscilação até não se manifestarem no dia 21 (figura 14 – A). Em termos de intensidade, apresentam valores crescentes até o dia 14, dia de maior intensidade basal. Após este dia, as OB apresentam uma decrescente até não se manifestarem no dia 21 (figura 14 – B). Em contrapartida, as CI se manifestam, quando houve incidência, com baixa frequência e com intensidade e duração pouco variáveis até o dia 14 (figura 15). No dia 20, as CI aumentaram sua frequência abruptamente (figura 15 – A) e diminuíram sua intensidade e duração (figura 15 – B e C). No dia do parto, as CI exibem o maior valor de frequência e duração e um ligeiro aumento da intensidade. Caldeyro-Barcia e Alvarez também descreveram este comportamento para as contrações de baixa e alta intensidade em humanos. Segundo eles, as ondas de Braxton-Hicks aumentam sua frequência de incidência e gradualmente substituem as ondas de Alvarez à medida que o parto se aproxima (DEVEDEUX et al., 1993; NEWMAN, 2005).

Os perfis apresentaram atividade irregular nos dias 0, 7 e 14. Durante a prenhez e em ratas não prenhes, alterações espontâneas causam propagação de potenciais de ação

não homogêneos (LAMMERS, 1997; MILLER; GARFIELD; DANIEL, 1989). Isto pode explicar a falta de regularidade tanto das CI quanto das OB. Lammers e colaboradores (1977) afirmam que a irregularidade uterina durante a gestação pode desenvolver um papel fundamental para evitar contrações efetivas de parto fora do momento apropriado para a expulsão do feto.

Após a fecundação, o útero permanece quiescente para o processo de nidadação devido à ação da progesterona (BULLETTI; DE ZIEGLER, 2005; FANCHIN et al., 1998; KUNZ et al., 2006), porém a atividade uterina no dia 0 apresentou um perfil composto por OB e CI irregulares (figura 13 – A), indicando uma atividade discreta. Isto pode ser reflexo da motilidade uterina remanescente da fase de fecundação, visto que as medidas neste dia foram realizadas 5 horas após a confirmação do acasalamento.

A baixa manifestação de CI e alta atividade basal uterina nos dias 7 e 14 (figura 13 – B e C) se assemelha à quiescência uterina descrita em diversos estudos para animais e humanos (KLEINHAUS; KAO, 1969; MYERS; ELAD, 2017; SMITH et al., 2015; VEDERNIKOV et al., 2003). Rabotti *et al.* (2015) e outros autores afirmam que este estado é fundamental para o desenvolvimento sadio do feto. Nesta etapa, a progesterona exerce o papel majoritário de controle da atividade quiescente (BUHIMSCHI et al., 1998; SCHLEMBACH et al., 2009). A quantificação desse hormônio poderia fornecer maiores informações a respeito da atividade nestes dias.

As comparações realizadas entre os dias de prenhez (figuras 14 e 15), deixa evidente que o dia 20 é um momento determinante para a mudança completa no comportamento uterino. A partir desse momento, o útero apresenta um estado de preparação para o trabalho de parto. O perfil exibe o retorno da incidência de CI juntamente com uma queda nas OB (figura 13 – D). Contudo, neste dia as CI apresentaram um padrão regular, sugerindo uma sincronização da atividade contrátil. Outro aspecto importante é a baixa intensidade das CI, o que pode provocar confusão com OB. Provavelmente, esta baixa intensidade tem a finalidade de impedir a ocorrência do parto prematuro neste dia. Fuchs (1969) descreveu este mesmo perfil em seus experimentos com ratas prenhez entre dias 18 e 20. Ademais, Garfield e colaboradores (1998) afirmaram que o trabalho de parto possui dois estágios: uma fase longa de preparação e condicionamento e uma fase de expulsão. Nesse caso, o perfil obtido pode ser a manifestação do estágio de preparação descrito por esse grupo.

No dia do parto (dia 21), os resultados revelaram um perfil característico e único, o qual apresentou CI regulares, coordenadas, duradouras e subsequentes (figura 13 – E). Este perfil representa a atividade uterina de expulsão do feto, e as CI podem ser classificadas como contrações efetivas para parto. Na comparação com os outros dias, foi observado um aumento na frequência e duração das contrações, porém a intensidade se manteve semelhante (exceto comparada ao dia 20). Estes dados corroboram com a ideia de que contrações intensas não caracterizam trabalho de parto, porém a sincronização e coordenação dos três parâmetros sim (HOLGER MAUL et al., 2003; MILLER; GARFIELD; DANIEL, 1989).

Nossos resultados estão de acordo com aqueles obtidos por Fuchs (1969), o qual demonstrou uma atividade contrátil de 1,5 cpm durante o trabalho de parto de ratas no dia 21 (FUCHS, 1969). Diversos estudos demonstraram que no dia do parto as células miométriais apresentaram um aumento considerável no número de junções de *gap* (DEMIANCZUK; TOWELL; GARFIELD, 1984; GARFIELD; BLENNERHASSETT; MILLER, 1988; HOLGER MAUL et al., 2003; MILLER; GARFIELD; DANIEL, 1989), de receptores de ocitocina e prostaglandinas (LYE, SJ; MITCHELL, J; NASHMAN, 2001). Estas alterações são imprescindíveis para a coordenação e regularização das CI no momento do parto (HOLGER MAUL et al., 2003; LYE, SJ; MITCHELL, J; NASHMAN, 2001). Novos estudos a nível celular podem contribuir para elucidar esta correlação.

É amplamente conhecido o efeito excitatório da ocitocina sobre o útero (CARSTEN, 1974; O'BRIEN; W.F., 1995; OSA; TAGA, 1973; SHYKEN; PETRIE, 2006; SMITH; MERRILL, 2006). Em nosso estudo, a ocitocina induziu CI regulares, com alta intensidade e do tipo aberta (figura 16). A intensidade (figura 17 – B) e a duração (figura 17 – C) das CI induzidas por ocitocina apresentaram diferenças em relação as contrações no dia 20 de prenhez, apontando uma maior semelhança com a atividade uterina do dia 21. Contudo, a frequência (figura 17 – A) das CI induzidas apresentou um maior valor em relação as CI no dia 21. Isto mostra que a ocitocina possui efeito excitatório sobre a frequência das contrações efetivas de parto. O efeito observado no registro (figura 16) e quantificado (figura 17) está de acordo com outros estudos (CLARK et al., 2009; KLEINHAUS; KAO, 1969; SMITH; MERRILL, 2006), uma vez que houve o aumento na intensidade, frequência e duração das contrações.

Fuchs e Poblete (1970) afirmaram que a administração de ocitocina entre os dias 18 e 21 de prenhez é capaz de induzir CI em um útero quiescente e aumentar a intensidade

em um útero em atividade. Nossos resultados vão de encontro a este estudo, uma vez que eles apresentaram similaridade na indução de CI regulares em uma atividade previamente quiescente. Contudo, este efeito foi observado durante aproximadamente 10 minutos após a indução. Este mesmo tempo foi obtido na literatura para infusão intravenosa em suínos (MOTA-ROJAS et al., 2006).

Todos os sinais exibiram uma queda no patamar basal do sinal logo após a administração da droga. Isto remete à um afastamento do marcador magnético em relação à superfície do sensor, revelando uma contração extremamente intensa que provoca um aumento do tônus basal. Esta propriedade da ocitocina é muito usada na rotina clínica com a finalidade de diminuir a incidência de atonia uterina e hemorragia pós-parto (NORDSTRÖM et al., 1997; PRENDIVILLE; ELBOURNE; CHALMERS, 1988; YAMAGUCHI; LUIS; TORRES, 2007).

Este trabalho fornece subsídios para outras aplicações da BAC na exploração da motilidade uterina. Uma possibilidade seria a análise simultânea em diferentes regiões do órgão para se obter informações acerca da direção de propagação das contrações por meio da utilização de um multi-sensor BAC (ANDREIS et al., 2007; CORÁ et al., 2005b). Esta técnica também pode ser utilizada concomitante a outras, como por exemplo EMG (AMÉRICO et al., 2010; MORAES et al., 2003). Estudos similares para a atividade uterina providenciarão maiores esclarecimentos em relação ao acoplamento eletromecânico do útero. Contudo, a BAC apresenta limitações relacionadas a inviabilidade de implementação em humanos devido à sua invasividade, estando restrita apenas a modelo experimental animal. Neste contexto, esta metodologia possui possibilidade de aplicações na reprodução animal, como em tratamentos de fertilidade e monitoramento da atividade uterina em processos de fertilização in vitro.

Conclusão

Este trabalho teve como objetivo principal aplicar a BAC para avaliação da atividade mecânica uterina em ratas prenhes. Neste sentido, os resultados mostraram que a técnica foi capaz de monitorar a atividade uterina ao longo da prenhez, bem como monitorar alterações da atividade frente à ação da ocitocina.

Os perfis de contração uterina, bem como os parâmetros de contração, mostraram que a contratilidade uterina apresenta um longo período de quiescência e intensa atividade pré-parto. A ocitocina, por sua vez, promoveu a alteração do perfil normal de atividade uterina por meio da indução e coordenação de CI, revelando sua ação excitatória sobre o útero e sua eficácia em preparar o órgão para a condição de parto.

Este estudo fornece uma nova metodologia para o estudo *in vivo* da atividade mecânica uterina durante a prenhez. Em comparação com as outras técnicas possui as vantagens de ser menos invasiva, versátil, ter baixo custo de implementação e permitir a análise da prenhez completa em um mesmo animal. Este trabalho é pioneiro na análise da motilidade uterina durante a prenhez de ratas e apresenta perfis de atividade mecânica em vários estágios da prenhez, que por sua vez, poderão servir como base para novos estudos do comportamento uterino durante a gestação frente a alterações patológicas, hormonais e medicamentosas.

Referências Bibliográficas

AGOSTINHO, M. et al. AC biosusceptometry as a method for measuring gastric contraction. **2010 Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, EMBC'10**, p. 5740–5743, 2010.

AL-SHBOUL, O. The importance of interstitial cells of cajal in the gastrointestinal tract. **Saudi Journal of Gastroenterology**, v. 19, n. 1, p. 3, 2013.

AMÉRICO, M. F. et al. Electrical and mechanical effects of hyoscine butylbromide on the human stomach: a non-invasive approach. **Physiological measurement**, v. 30, n. 4, p. 363–370, 2009.

AMÉRICO, M. F. et al. The ACB technique: a biomagnetic tool for monitoring gastrointestinal contraction directly from smooth muscle in dogs. **Physiological measurement**, v. 31, n. 2, p. 159–69, 2010.

AMICO, J. A.; SEIF, S. M.; ROBINSON, A. G. Oxytocin in Human Plasma: Correlation with Neurophysin and Stimulation with Estrogen. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 52, n. 5, p. 988–993, 1981a.

AMICO, J. A.; SEIF, S. M.; ROBINSON, A. G. Elevation of Oxytocin and the Oxytocin-Associated. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 53, n. 6, p. 53–56, 1981b.

ANDREATINI, R. A importância dos modelos animais em psiquiatria. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 24, n. 4, p. 164, 2002.

ANDREIS, U. et al. Effect of erythromycin on motility and gastric emptying in dogs, by AC Biosusceptometry. **International Congress Series**, v. 1300, p. 307–310, 2007.

AUBRY, R. H.; PENNINGTON, J. C. **Identification and Evaluation of High-Risk Pregnancy: The Perinatal Concept**, 1973.

BAFFA, O. et al. Analysis and development of AC biosusceptometer for oro-caecal transit time measurements. **Medical and Biological Engineering and Computing**, v. 33, n. 3, p. 353–357, 1995.

- BAKKER, P. C. A. M.; ZIKKENHEIMER, M.; VAN GEIJN, H. P. The quality of intrapartum uterine activity monitoring. **Journal of Perinatal Medicine**, v. 36, n. 3, p. 197–201, 2008.
- BELL, R. The Prediction of Preterm Labour by Recording Spontaneous Antenatal Uterine Activity. **British Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v. 90, n. October, p. 884–887, 1983.
- BEYER, G.; BEHRMAN, S. J. Myometrial activity and the IUCD. III. Effect of contraceptive pills. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 106, n. 1, p. 87–92, 1970.
- BLAICHER, W. et al. The role of oxytocin in relation to female sexual arousal. **Gynecologic and Obstetric Investigation**, v. 47, n. 2, p. 125–126, 1999.
- BLANKS, A. M.; SHMYGOL, A.; THORNTON, S. Myometrial function in prematurity. **Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology**, v. 21, n. 5, p. 807–819, 2007.
- BLENCOWE, H. et al. National, regional, and worldwide estimates of preterm birth rates in the year 2010 with time trends since 1990 for selected countries: A systematic analysis and implications. **The Lancet**, v. 379, n. 9832, p. 2162–2172, 2012.
- BRUNS, P. D. et al. **Uterine COntractility, Circulation and Urinary Steroids in Premature Delivery**, 1957.
- BUHIMSCHI, C. et al. Uterine activity during pregnancy and labor assessed by simultaneous recordings from the myometrium and abdominal surface in the rat. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 178, n. 4, p. 811–822, 1998.
- BULLETTI, C. et al. Anormal Uterine Contractility in Nonpregnant Women. **Korean Journal of Dermatology**, v. 53, n. 9, p. 733–734, 1997.
- BULLETTI, C. et al. Uterine contractility during the menstrual cycle. **Human Reproduction**, v. 15, n. SUPPL. 1, p. 81–89, 2000.
- BULLETTI, C.; DE ZIEGLER, D. Uterine Contractility and Embryo Implantation. **Current Opinion in Obstetrics and Gynecology**, v. 18, n. 4, p. 473–484, 2005.

BYGDEMAN, M. et al. Effects of the prostaglandins on the uterus. Prostaglandins and uterine contractility. **Acta Obstet Gynecol Scand Suppl**, v. 87, p. 33–38, 1979.

BYGDEMAN, M.; ENEROTH, P. THE INFLUENCE OF LOCALLY ADMINISTERED PROSTAGLANDIN Ez AND. **Acta Obstet Gynecol Scand Suppl**, v. 57, p. 141–147, 1978.

CARSTEN, M. E. Prostaglandins and oxytocin: Their effects on uterine smooth muscle. **Prostaglandins**, v. 5, n. 1, p. 33–40, 1974.

CHKEIR, A. et al. Patterns of electrical activity synchronization in the pregnant rat uterus. **BioMedicine (Netherlands)**, v. 3, n. 3, p. 140–144, 2013.

CIONTEA, S. M. et al. C-kit immunopositive interstitial cells (Cajal-type) in human myometrium. **Journal of cellular and molecular medicine**, v. 9, n. 2, p. 407–20, 2005.

CLARK, S. L. et al. Oxytocin: new perspectives on an old drug. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 200, n. 1, p. 35.e1-35.e6, 2009.

COHEN, W. R. Clinical Assessment of Uterine Contractions. **ARPN Journal of Engineering and Applied Sciences**, v. 12, n. 10, p. 3218–3221, 2017.

CORÁ, L. A. et al. Disintegration of magnetic tablets in human stomach evaluated by alternate current Biosusceptometry. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 56, n. 3, p. 413–420, 2003.

CORÁ, L. A. et al. AC biosusceptometry in the study of drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 57, n. 8, p. 1223–1241, 2005a.

CORÁ, L. A. et al. Magnetic images of the disintegration process of tablets in the human stomach by ac biosusceptometry. **Physics in Medicine and Biology**, v. 50, n. 23, p. 5523–5534, 2005b.

CORÁ, L. A. et al. Enteric coated magnetic HPMC capsules evaluated in human gastrointestinal tract by AC biosusceptometry. **Pharmaceutical Research**, v. 23, n. 8, p. 1809–1816, 2006.

CORÁ, L. A. et al. Influence of compression forces on tablets disintegration by AC Biosusceptometry. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 69, n. 1, p. 372–379, 2008.

CRETOIU, D. Interstitial Cajal-like cells (ICLC) as steroid hormone sensors in human myometrium: immunocytochemical approach. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 10, n. 3, p. 789–795, 2006.

CSAPO, A. I.; PINTO-DANTAS, C. R. The Cyclic Activity of the Nonpregnant Human Uterus. **Fertility and Sterility**, v. 17, n. 1, p. 34–38, 1966.

DANFORTH, D. N. The fibrous nature of the human cervix, and its relation to the isthmus segment in gravid and nongravid uteri. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 53, n. 4, p. 541–560, 1947.

DAVID ADAMSON, G.; KENNEDY, S.; HUMMELSHOJ, L. Creating solutions in endometriosis: Global collaboration through the World Endometriosis Research Foundation. **Journal of Endometriosis**, v. 2, n. 1, p. 3–6, 2010.

DEMIANCZUK, N.; TOWELL, M. E.; GARFIELD, R. E. Myometrial electrophysiologic activity and gap junctions in the pregnant rabbit. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 149, n. 5, p. 485–491, 1984.

DEVEDEUX, D. et al. Uterine electromyography: A critical review. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 169, n. 6, p. 1636–1653, 1993.

DUQUETTE, R. A. et al. Vimentin-Positive , c-KIT-Negative Interstitial Cells in Human and Rat Uterus : A Role in Pacemaking ? 1. **Biology of Reproduction**, v. 283, n. September 2004, p. 276–283, 2005.

EISENBERG, V. H. et al. Epidemiology of endometriosis: a large population-based database study from a healthcare provider with 2 million members. **BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v. 125, n. 1, p. 55–62, 2018.

ESWARAN, H. et al. Application of wavelet transform to uterine electromyographic signals recorded using abdominal surface electrodes. **Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine**, v. 11, n. 3, p. 158–166, 2002.

ESWARAN, H. et al. Extraction, quantification and characterization of uterine magnetomyographic activity- A proof of concept case study. **European Journal of Obstetrics Gynecology and Reproductive Biology**, v. 144, n. SUPPL 1, p. 96–100, 2009.

EULIANO, T. Y. et al. Monitoring uterine activity during labor: A comparison of 3 methods. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 208, n. 1, p. 66.e1-66.e6, 2013.

FANCHIN, R. et al. Uterine contractions at the time of embryo transfer alter pregnancy rates after in-vitro fertilization. **Human Reproduction**, v. 13, n. 7, p. 1968–1974, 1998.

FEENEY, M. M.; ROSENBLUM, N. D. Urinary tract pacemaker cells: Current knowledge and insights from nonrenal pacemaker cells provide a basis for future discovery. **Pediatric Nephrology**, v. 29, n. 4, p. 629–635, 2014.

FINBERG, H. J. Whither (Wither?) the ultrasound specialist? **Journal of Ultrasound in Medicine**, v. 23, n. 12, p. 1543–1547, 2004.

FUCHS, A. R. Uterine activity in late pregnancy and during parturition in the rat. **Biology of Reproduction**, v. 1, n. 4, p. 344–353, 1969.

FUCHS, A. R.; POBLETE, V. F. Oxytocin and Uterine Function Rats in Pregnant Parturient. **Biol Reprod**, v. 400, p. 387–400, 1970.

GARFIELD, R. E.; BLENNERHASSETT, M. G.; MILLER, S. M. Control of myometrial contractility: role and regulation of gap junctions. **Oxford reviews of reproductive biology**, v. 10, n. December 2015, p. 436–90, 1988.

GARFIELD, R. E.; MANER, W. L. Physiology and electrical activity of uterine contractions. **Seminars in Cell and Developmental Biology**, v. 18, n. 3, p. 289–295, 2007.

GILLESPIE, E. C. Principles of uterine growth in pregnancy. **American journal of obstetrics and gynecology**, v. 59, n. 5, p. 949–959, 1950.

GOLDENBERG, R. L. et al. Epidemiology and causes of preterm birth. **The Lancet**, v. 371, n. 9606, p. 75–84, 2008.

GOVINDAN, R. B. et al. Tracking the Changes in Synchrony of the Electrophysiological Activity as the Uterus Approaches Labor Using Magnetomyographic Technique. **Reproductive Sciences**, v. 22, n. 5, p. 595–601, 2015.

HADAR, E. et al. A comparison between electrical uterine monitor, tocodynamometer and intra uterine pressure catheter for uterine activity in labor. **Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine**, v. 28, n. 12, p. 1367–1374, 2015.

HENDRICKS, C. H. Inherent motility patterns and response characteristics of the nonpregnant human uterus. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 96, n. 6, p. 824–841, 1966.

HOLGER MAUL, M. et al. The physiology of uterine contractions. **Clinics in Perinatology**, v. 30, p. 665–676, 2003.

HURD, W. W. et al. Cocaine augments contractility of the pregnant human uterus by both adrenergic and nonadrenergic mechanisms. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 178, n. 5, p. 1077–1081, 1998.

IJLAND, M. M. et al. Subendometrial contractions in the nonpregnant uterus: An ultrasound study. **European Journal of Obstetrics Gynecology and Reproductive Biology**, v. 70, n. 1, p. 23–24, 1996.

IJLAND, M. M. et al. Endometrial wave direction switch and the outcome of in vitro fertilization. **Fertility and Sterility**, v. 71, n. 3, p. 476–481, 1999.

JOHNSON, N. P.; HUMMELSHOJ, L. Consensus on current management of endometriosis. **Human Reproduction**, v. 28, n. 6, p. 1552–1568, 2013.

JUNIORR, A. G. et al. The effects of diazepam on the elevated T-maze are dependent on the estrous cycle of rats. **Psychology & Neuroscience**, v. 2, n. 2, p. 227–233, 2009.

KIDO, A. et al. Intrauterine devices and uterine peristalsis: evaluation with MRI. **Magnetic Resonance Imaging**, v. 26, n. 1, p. 54–58, 2008.

KIMURA, T. et al. Molecular characterization of a cloned human oxytocin receptor. **European Journal of Endocrinology**, v. 131, n. 4, p. 385–390, 1994.

KLEINHAUS, A L.; KAO, C. Y. Electrophysiological actions of oxytocin on the rabbit myometrium. **The Journal of general physiology**, v. 53, n. 6, p. 758–80, 1969.

KOTHARI, T. H. et al. Inhibitory effects of electrical stimulation on delivery in pregnant rats. **European Journal of Obstetrics Gynecology and Reproductive Biology**, v. 141, n. 1, p. 18–22, 2008.

- KUNZ, G. et al. The dynamics of rapid sperm transport through the female genital tract: Evidence from vaginal sonography of uterine peristalsis and hysterosalpingoscintigraphy. **Human Reproduction**, v. 11, n. 3, p. 627–632, 1996.
- KUNZ, G. et al. Control and function of uterine peristalsis during the human luteal phase. **Reproductive BioMedicine Online**, v. 13, n. 4, p. 528–540, 2006.
- KURIYAMA, B. Y. H. The effect of progesterone and oxytocin on the mouse myometrium. **Journal of Physiology**, v. 159, p. 26–39, 1961.
- LAMMERS, W. J. E. P. et al. Spatial and temporal variations in local spike propagation in the myometrium of the 17-day pregnant rat. **Am.J.Physiol.**, v. 267, n. 5 part 1, 1994.
- LAMMERS, W. J. E. P. Circulating excitations and re-entry in the pregnant uterus. **Pflugers Archiv European Journal of Physiology**, v. 433, n. 3, p. 287–293, 1997.
- LAMMERS, W. J. E. P. et al. The effects of oxytocin on the pattern of electrical propagation in the isolated pregnant uterus of the rat. **Pflugers Archiv European Journal of Physiology**, v. 437, n. 3, p. 363–370, 1999.
- LAMMERS, W. J. E. P. The electrical activities of the uterus during pregnancy. **Reproductive sciences (Thousand Oaks, Calif.)**, v. 20, n. 2, p. 182–9, 2013.
- LAMMERS, W. J. E. P. et al. The location of pacemakers in the uteri of pregnant guinea pigs and rats. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 309, n. 11, p. R1439–R1446, 2015.
- LANGE, L. et al. Velocity and Directionality of the Electrohysterographic Signal Propagation. **PloS one**, v. 9, n. 1, p. 6, 2014.
- LASZLO, A. et al. Interactive effects of volatile anesthetics, verapamil, and ryanodine on contractility and calcium homeostasis of isolated pregnant rat myometrium. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 167, n. 3, p. 804–810, 1992.
- LAWN, J. E.; KINNEY, M. Preterm birth: Now the leading cause of child death worldwide. **Science Translational Medicine**, v. 6, n. 263, p. 19–22, 2014.
- LYE, SJ; MITCHELL, J; NASHMAN, N. ET AL. Role of mechanical signals in the onset of term and preterm labor. **Front Horm Res**, v. 27, p. 165–178, 2001.

MARCH OF DIMES, PMNCH, S. THE C.; WHO. Born too soon. The Global Action Report on Preterm Birth. **CP Howson, MV Kinney, JE Lawn Eds. World Health Organization Publ. Geneva**, n. 5, p. 1–126, 2012.

MARCONDES, F. K.; BIANCHI, F. J.; TANNO, A. P. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful consideration. **Brazilian Journal of Byology**, v. 62, p. 1–6, 2002.

MARSHALL; M.J. Effects of estrogen and progesterone on single uterine muscle fibers in the rat. **Am. J. Physiol.**, v. 197, n. 2, p. 935–942, 1959.

MARTINS, L. L. et al. Morfologia do útero de cutias nulíparas e não nulíparas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia**, v. 63, n. 2, p. 326–332, 2011.

MASLOW, K. D.; LYONS, E. A. Effect of prostaglandin and antiprostaglandin on midcycle myometrial contractions. **Fertility and Sterility**, v. 82, n. 2, p. 511–513, 2004.

MATTHEW, A.; SHMYGOL, A.; WRAY, S. Ca²⁺ entry, efflux and release in smooth muscle. **Biological Research**, v. 37, n. 4, p. 617–624, 2004.

MIKKELSEN, E. et al. Electrohysterography of labor contractions: Propagation velocity and direction. **Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica**, v. 92, n. 9, p. 1070–1078, 2013.

MILLER, S. M.; GARFIELD, R. E.; DANIEL, E. E. Improved propagation in myometrium associated with gap junctions during parturition. **Am J Physiol**, v. 256, n. 1 Pt 1, p. C130-41, 1989.

MIRANDA, J. R. et al. **An AC biosusceptometer to study gastric emptying. Medical physics**, 1992.

MIRANDA, J. R. et al. A novel biomagnetic method to study gastric antral contractions. **Physics in medicine and biology**, v. 42, n. 9, p. 1791–1799, 1997.

MOORE, T. R. et al. Diurnal And Gestational Patterns of Uterine Activity in Normal Human Pregnancy. **Obstetrics and Gynecology**, v. 83, n. 4, p. 517–523, 1994.

MORAES, R. et al. Measurement of gastric contraction activity in dogs by means of AC biosusceptometry. **Physiological measurement**, v. 24, n. 2, p. 337–45, 2003.

MOTA-ROJAS, D. et al. Comparative routes of oxytocin administration in crated farrowing sows and its effects on fetal and postnatal asphyxia. **Animal Reproduction Science**, v. 92, n. 1–2, p. 123–143, 2006.

MYERS, K. M.; ELAD, D. Biomechanics of the human uterus. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine**, v. 9, p. 1–20, 2017.

NAKAI, A. et al. Optimizing cine MRI for uterine peristalsis: A comparison of three different single shot fast spin echo techniques. **Journal of Magnetic Resonance Imaging**, v. 38, n. 1, p. 161–167, 2013.

NAKAO, K. et al. Oxytocin enhances action potentials in pregnant human myometrium - A study with microelectrodes. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 177, n. 1, p. 222–228, 1997.

NEWMAN, R. B. Uterine Contraction Assessment. **Obstetrics and Gynecology Clinics of North America**, v. 32, p. 341–367, 2005.

NIKOLAISEN, T. et al. Uterine contraction induced by Tanzanian plants used to induce abortion. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 137, n. 1, p. 921–925, 2011.

NORDSTRÖM, L. et al. Routine oxytocin in the third stage of labour: A placebo controlled randomised trial. **BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v. 104, n. 7, p. 781–786, 1997.

O'BRIEN, W. F.; W.F., O. The role of prostaglandins in labor and delivery. **Clinics in Perinatology**, v. 22, n. 4, p. 973–984, 1995.

OHASHI, Y.; SUMIKURA, H.; TATEDA, T. Inhibitory effect of alprostadil against sevoflurane-induced myometrial relaxation in rats. **Journal of Anesthesia**, v. 21, n. 3 PG-361-6, p. 361–366, 2007.

OSA, T.; TAGA, F. Electrophysiological Comparison of the Action of Oxytocin and Carbachol on Pregnant Mouse Myometrium. **Japan Journal of Physiology**, v. 23, p. 81–96, 1973.

PETRONELLA, N. et al. Uterine peristalsis and fertility : current knowledge and future perspectives : a review and meta-analysis. **Reproductive BioMedicine Online**, v. 35, n. 1, p. 50–71, 2017.

PHELPS, L. E.; PEULER, J. D. Evidence of direct smooth muscle relaxant effects of the fibrate gemfibrozil. **Journal of smooth muscle research = Nihon Heikatsukin Gakkai kikanishi**, v. 46, n. 3, p. 125–42, 2010.

PRENDIVILLE, W.; ELBOURNE, D.; CHALMERS, I. The effects of routine oxytocic administration in the management of the third stage of labour: an overview of the evidence from controlled trials. **British Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v. 95, p. 3–16, 1988.

PRÓSPERO, A. G. et al. Real-time in vivo monitoring of magnetic nanoparticles in the bloodstream by AC biosusceptometry. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 15, n. 1, p. 1–12, 2017.

QUINI, C. C. et al. Employment of a noninvasive magnetic method for evaluation of gastrointestinal transit in rats. **Journal of Biological Engineering**, v. 6, n. 1, p. 6, 2012.

RABOTTI, C. et al. Estimation of internal uterine pressure by joint amplitude and frequency analysis of electrohysterographic signals. **Physiological measurement**, v. 29, n. 7, p. 829–41, 2008.

RABOTTI, C. **Characterization of uterine activity by electrohysterography**. [s.l.: s.n.].

RABOTTI, C. et al. Noninvasive estimation of the electrohysterographic action-potential conduction velocity. **IEEE Transactions on Biomedical Engineering**, v. 57, n. 9, p. 2178–2187, 2010.

RABOTTI, C.; MISCHI, M. Propagation of electrical activity in uterine muscle during pregnancy: A review. **Acta Physiologica**, v. 213, n. 2, p. 406–416, 2015.

REYNOLDS, S. R. M.; HARRY, J. S.; KAISER, I. H. **Clinical Measurement of Uterine Forces in Pregnancy and Labor**, 1954.

SANDERS, K. M. Postjunctional electrical mechanisms of enteric neurotransmission. Postjunctional electrical mechanisms of enteric neurotransmission. **Gut**, v. 47 Suppl 4, n. October 2009, p. 23–25, 2000.

SCHLEMBACH, D. et al. Monitoring the progress of pregnancy and labor using electromyography. **European Journal of Obstetrics Gynecology and Reproductive Biology**, v. 144, n. SUPPL 1, p. 2–8, 2009.

SEER, D. M. ; MANNOR, S. M.; ZAKUT, H. **Electrical Activity of the Human Uterus in the Presence of Intrauterine Contraceptive Device**, 1970.

SEMMLOW, J. L. **Biosignal and medical image processing**. 2^a ed. [s.l.: s.n.].

SERGEANT, G. P. et al. Specialised pacemaking cells in the rabbit urethra. **Journal of Physiology**, v. 526, n. 2, p. 359–366, 2000.

SHAFIK, A. Electrohysterogram: Study of the electromechanical activity of the uterus in humans. **European Journal of Obstetrics Gynecology and Reproductive Biology**, v. 73, n. 1, p. 85–89, 1997.

SHYKEN, J. M.; PETRIE, R. H. Oxytocin to Induce Labor. **Clinical Obstetrics and**, v. 38, n. 2, p. 232–245, 2006.

SMITH, I. D.; TEMPLE, D. M. The influence of analgesic drugs on the actions of prostalhandin F2a on the human uterus in vivo and human and rabbit myometrial strips in vitro. **Prostaglandins**, v. 4, n. 4, p. 469–477, 2006.

SMITH, J. G.; MERRILL, D. C. Oxytocin for induction of labor. **Clinical Obstetrics and Gynecology**, v. 49, n. 3, p. 594–608, 2006.

SMITH, R. et al. Why the heart is like an orchestra and the uterus is like a soccer crowd. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 213, n. 2, p. 181–185, 2015.

SOLOMON, M. J. et al. Reliability and validity studies of endoluminal ultrasonography for anorectal disorders. **Diseases of the Colon & Rectum**, v. 37, n. 6, p. 546–551, 1994.

SOWASH, J. R. **Dissection of the Rat**, 2009.

STOREY, B. Computing Fourier series and power spectrum with Matlab. **TEX Paper**, p. 1–15, 2002.

VANE, J. R.; WILLIAMS, K. I. The contribution of prostaglandin production to contractions of the isolated uterus of the rat. **British journal of pharmacology**, v. 48, p. 629–639, 1973.

VANNER, T.; GARDOSI, J. Intrapartum assessment of uterine activity. **Bailliere's Clinical Obstetrics and Gynaecology**, v. 10, n. 2, p. 243–257, 1996.

VEDERNIKOV, Y. P. et al. Sex hormone effects in non-pregnant rat and human myometrium. **European Journal of Obstetrics Gynecology and Reproductive Biology**, v. 108, n. 1, p. 59–66, 2003.

VLEMMINX, M. W. C. et al. Electrohysterography for uterine monitoring during term labour compared to external tocodynamometry and intra-uterine pressure catheter. **European Journal of Obstetrics Gynecology and Reproductive Biology**, v. 215, p. 197–205, 2017.

WATANABE, K. et al. Automated detection and measurement of uterine peristalsis in cine MR images. **Journal of Magnetic Resonance Imaging**, v. 42, n. 3, p. 644–650, 2015.

WEI, S. Q. et al. High-dose vs low-dose oxytocin for labor augmentation: A systematic review. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 203, n. 4, p. 296–304, 2010.

WONG, C.-W.; O, W.-S.; TANG, F. Intermedin in rat uterus: changes in gene expression and peptide levels across the estrous cycle and its effects on uterine contraction. **Reproductive biology and endocrinology : RB&E**, v. 11, n. 1, p. 13, 2013.

YAMAGUCHI, E. T.; LUIS, M.; TORRES, A. Oxytocin in Cesarean Sections. What is the Best Way to Use it? **Rev Bras Anesthesiol**, v. 57, n. 3, p. 324–330, 2007.

YOO, K. Y. et al. The effects of volatile anesthetics on spontaneous contractility of isolated human pregnant uterine muscle: A comparison among sevoflurane, desflurane, isoflurane, and halothane. **Anesthesia and Analgesia**, v. 103, n. 2, p. 443–447, 2006.

ZHOU, P. et al. Effect of thienorphine on the isolated uterine strips from pregnant rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 703, n. 1–3, p. 83–90, 2013.

Apêndice A - Validação da Biosusceptometria de Corrente Alternada para análise da atividade mecânica uterina

O objetivo desta etapa foi validar a BAC para análise da atividade mecânica uterina através da comparação com a técnica de extensometria.

Foram utilizadas 40 ratas fêmeas Wistar com idade entre 10 e 15 semanas e com peso entre 200 e 300 g. Os animais foram separados igualmente em dois grupos experimentais (1 e 2). Foram realizadas cirurgias de implante de marcador magnético (núcleo de ferrita com 1,15 mm de diâmetro interno e 4,2 mm de diâmetro externo) e dispositivo *Strain-Gauge* (SG) (Excel Sensors Ltda, Embú, Brasil, com resistência de 350 ohms, 3,2 mm de comprimento e 1,5 mm de espessura) na serosa do corno uterino direito, próximo ao ovário. O anestésico utilizado foi a mistura ketamina/xilazina (0,1 mg/kg IM).

Após respeitar 1 semana de recuperação da cirurgia de implante, os animais foram separados para medida. Para a realização das medidas, os animais foram pesados e anestesiados com Pentobarbital Sódico (40 mg/kg, Hypnol®, Syntec) via intraperitoneal. Os animais foram posicionados em decúbito ventral com o sensor BAC foi posicionado sobre o marcador magnético. O sensor BAC e o dispositivo SG foram ligados ao BIOPAC®.

As medidas tiveram duração total de 60 minutos, sendo que após 30 minutos administrou-se 0,5 ml de butilbrometo de escopolamina (10 mg/ml, Buscopan®, Boehringer Ingelheim) nos animais do grupo 1 e 0,5 ml de ocitocina (10 UI/ml, Placentex®, Egener União) nos animais do grupo 2. O cronograma experimental está ilustrado na figura 1.

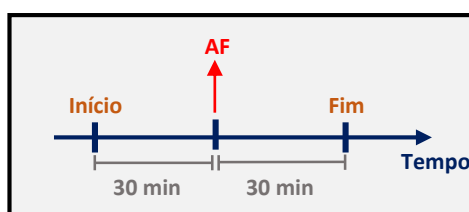


Figura 1: Cronograma de medidas para validação da BAC. Administração do fármaco AF.

Os dados referentes à esta etapa foram processados em ambiente Matlab® e analisados através de inspeção morfológica qualitativa de cada perfil, quantificação de frequência de contração através da Transformada Rápida de Fourier (FFT) e *Running Spectrum Analysis* (RSA), e quantificação da Relação Sinal-Ruído (SNR) de cada técnica.

As figuras 2 e 3 apresentam um exemplo dos perfis de contração mecânica antes e depois da administração de butilbrometo de escopolamina obtidos pela BAC e pelo SG, respectivamente.

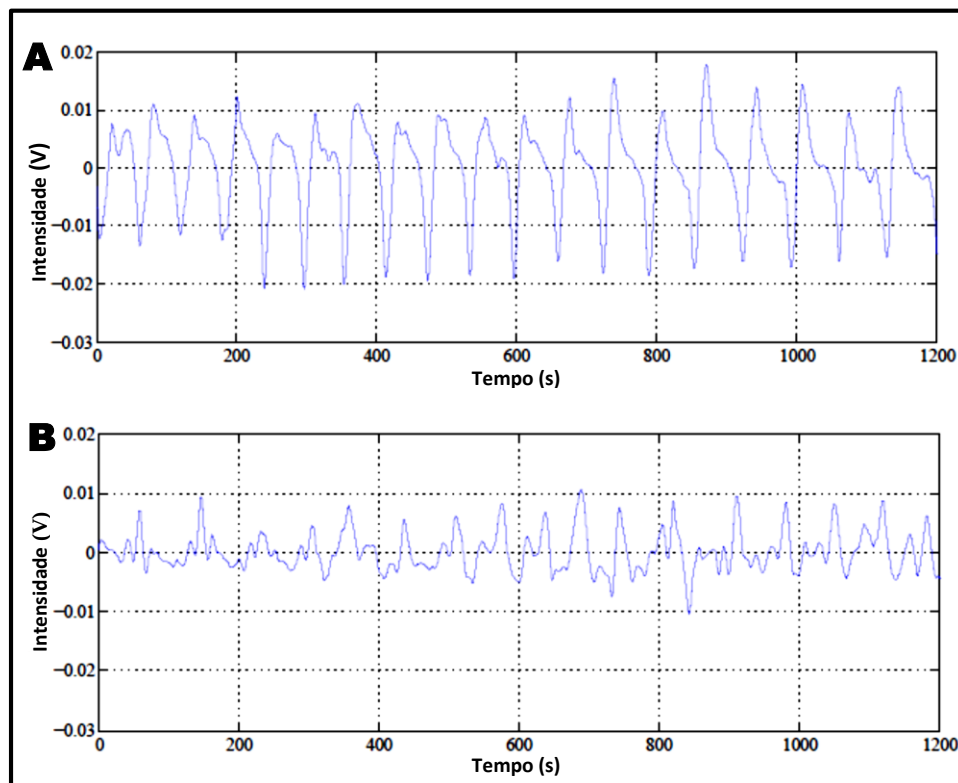


Figura 2: Ilustração do perfil de contração obtido pela BAC com administração de butilbrometo de escopolamina. Antes da droga (A); depois da droga (B).

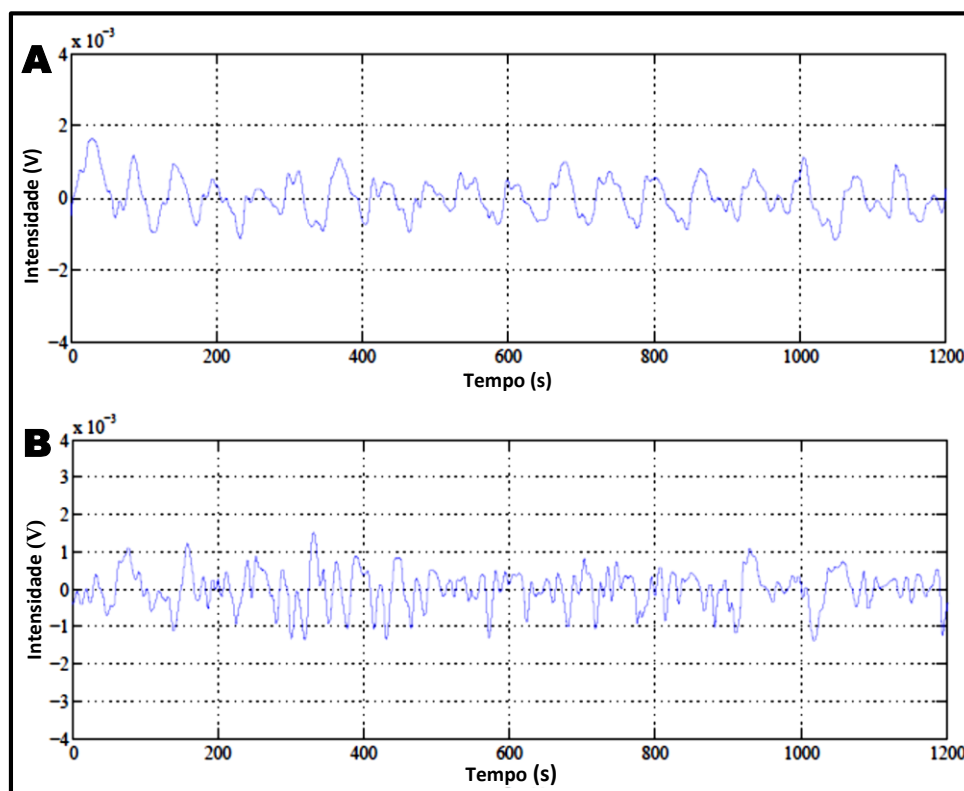


Figura 3: Ilustração do perfil de contração obtido pelo dispositivo SG com administração de butilbrometo de escopolamina. Antes da droga (A); depois da droga (B).

As figuras 4 e 5 apresentam um exemplo dos perfis de contração mecânica antes e depois da administração de ocitocina obtidos pela BAC e pelo SG, respectivamente.

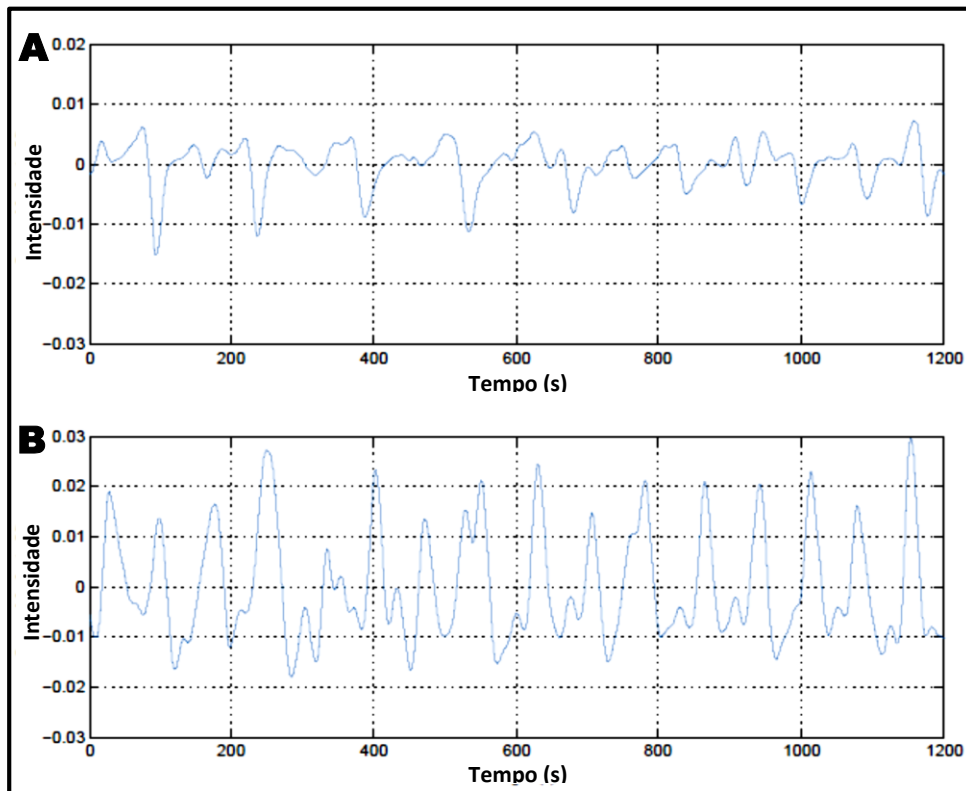


Figura 4: Ilustração do perfil de contração obtido pela BAC com administração de ocitocina. Antes da droga (A); depois da droga (B).

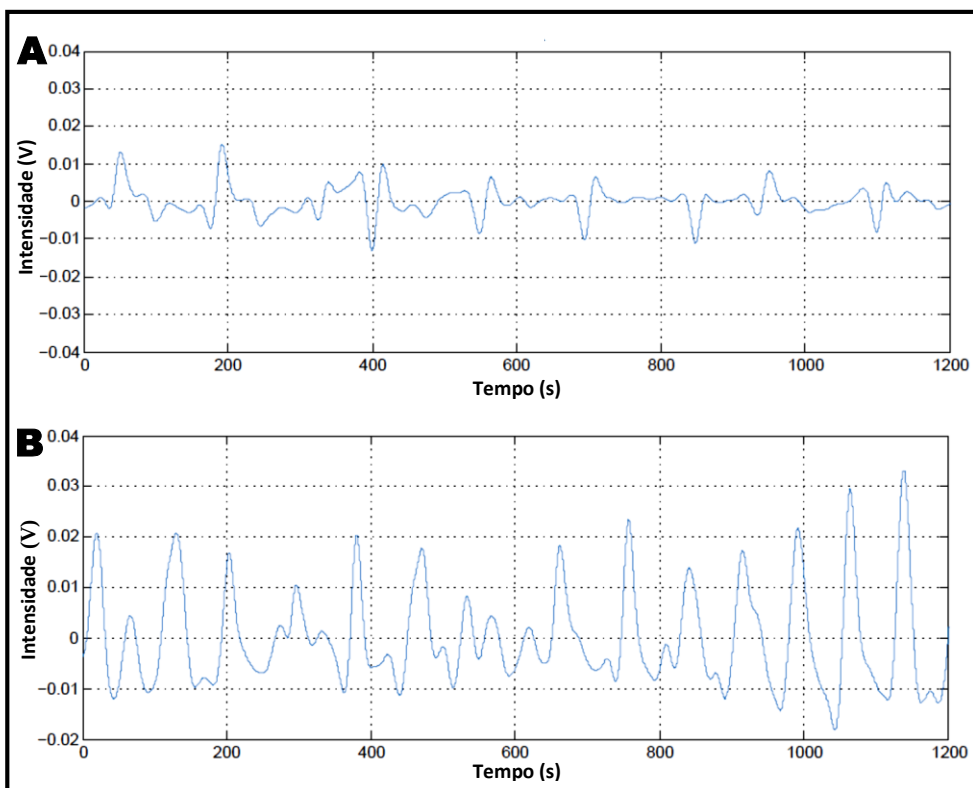


Figura 5: Ilustração do perfil de contração obtido pelo dispositivo SG com administração de ocitocina. Antes da droga (A); depois da droga (B).

A tabela 1 apresenta as frequências de contração mecânica antes e depois da administração das drogas para ambas as técnicas.

Tabela 1: Frequências de contração antes (A) e depois (D) da administração das drogas obtidas pela BAC e pelo dispositivo SG.

	Frequência de Contração (cpm)			
	BAC – A	SG – A	BAC – D	SG – D
Butilbrometo de Escopolamina	0,95 ± 0,13 ^a	0,91 ± 0,17 ^b	0,85 ± 0,12 ^a	0,83 ± 0,13 ^b
Ocitocina	0,96 ± 0,15 ^c	1,00 ± 0,22 ^d	0,88 ± 0,09 ^c	0,91 ± 0,09 ^d

^{abcd} $p > 0,05$ – Sem diferença estatística significativa. Test *t*-Student (índices iguais indicam os grupos que foram comparados).

Comparando os perfis de contração antes da administração das drogas, em ambos os casos, as técnicas registraram as mesmas contrações em relação ao tempo. A diferença entre os valores de intensidade é devido ao princípio operacional de cada técnica, a qual a BAC registra o deslocamento do marcador magnético e o dispositivo SG registra o estresse mecânico do próprio dispositivo. Ainda a respeito da morfologia do sinal, a BAC exibiu uma melhor definição das contrações que o dispositivo SG, que por sua vez apresentou mais ruídos.

De acordo com a tabela 1, as frequências de contração antes e depois não tiveram diferença estatística significativa quando comparadas entre si. Antes da administração de butilbrometo de escopolamina, a frequência era de 0,95 ± 0,13 cpm para a BAC, e depois da droga, se manteve em um valor próximo, 0,85 ± 0,12 cpm. Para o dispositivo SG, o mesmo efeito foi observado, sendo 0,91 ± 0,17 cpm antes da droga e 0,83 ± 0,13 cpm depois. Na administração de ocitocina, a BAC apresentou frequência de 0,96 ± 0,15 cpm antes e 0,88 ± 0,09 cpm depois da administração. Já para o dispositivo SG, antes o valor de frequência foi de 1,00 ± 0,22 com enquanto após a administração foi de 0,91 ± 0,09 cpm. Contudo foi verificado efeitos sobre a intensidade das contrações, na qual o butilbrometo de escopolamina causou a diminuição das contrações ao passo que a ocitocina causou o aumento da intensidade. Ambos efeitos estão de acordo com o descrito na literatura (RIPAMONTI et al., 2000; SHI et al., 2012; ŞİMŞEK et al., 2014; WILDIERS et al., 2009).

A tabela 2 apresenta as relações sinal/ruído (SNR) antes e depois da administração das drogas para ambas as técnicas.

Tabela 2: Comparação entre as SNRs antes (A) e depois (D) da administração das drogas para a Biosusceptometria AC e o SG.

	Relação Sinal/Ruído			
	BAC – A	SG – A	BAC – D	SG – D
Butilbrometo de Escopolamina	2,44 ± 0,22 ^{ab}	2,36 ± 0,11 ^{bc}	1,97 ± 0,13 ^{ad}	1,92 ± 0,17 ^{cd}
Ocitocina	2,37 ± 0,16 ^{ef}	2,41 ± 0,18 ^{fg}	2,83 ± 0,20 ^{eh}	2,64 ± 0,12 ^{gh}

^{abcdegh} $p < 0,05$ - Diferença estatística significativa. Test *t*-Student (índices iguais indicam os grupos que foram comparados).

Em trabalhos anteriores, nosso grupo correlacionou *in vitro* a BAC com a extensometria por SG e obteve uma forte correlação linear entre as técnicas (AMÉRICO *et al.*, 2010). Considerando isto, os valores a tabela 2 mostram que a BAC (SNR = 2,54 ± 0,22) possui uma melhor resolução que o dispositivo SG (SNR = 1,94 ± 0,11), confirmando a capacidade da BAC em realizar uma análise mecânica *in vivo* da contração uterina. Após a administração de butilbrometo de escopolamina, ambas as SNRs tiveram uma queda, porém, mesmo assim, a BAC obteve uma melhor resolução (SNR = 1,97 ± 0,13) que o dispositivo SG (SNR = 1,92 ± 0,17).

A análise dos resultados mostrou a correlação entre a BAC e a extensometria por SG. Ambas as técnicas registraram o mesmo evento nas duas situações propostas, porém a BAC propiciou uma melhor visualização dos eventos contráteis. Em se tratando dos efeitos dos fármacos, ambas as técnicas foram capazes de registrar a alteração desejada, contudo o SG se mostrou mais ruidoso. Na comparação direta entre as SNRs, a BAC exibiu valor mais alto, revelando a superioridade da técnica para discriminar o evento sobre o ruído de fundo. Por fim, a correlação feita por Américo *et al.* (2010) mostrou que ambas as técnicas se correlacionam linearmente, e somados a estes resultados, deixa claro que BAC possui capacidade, autonomia e eficácia para análise da atividade mecânica uterina.

Referências Bibliográficas

AMÉRICO, M. F. et al. Validation of ACB in vitro and in vivo as a biomagnetic method for measuring stomach contraction. **Neurogastroenterology and Motility**, v. 22, n. 12, p. 1340–1345, 2010.

RIPAMONTI, C. et al. Role of octreotide, scopolamine butylbromide, and hydration in symptom control of patients with inoperable bowel obstruction and nasogastric tubes: A prospective randomized trial. **Journal of Pain and Symptom Management**, v. 19, n. 1, p. 23–34, 2000.

SHI, Y. et al. Analgesic and uterine relaxant effects of isoliquiritigenin, a flavone from glycyrrhiza glabra. **Phytotherapy Research**, v. 26, n. 9, p. 1410–1417, 2012.

ŞİMŞEK, Y. et al. Dual effects of melatonin on uterine myoelectrical activity of non-pregnant rats. **Journal of the Turkish German Gynecology Association**, v. 15, n. 2, p. 86–91, 2014.

WILDIERS, H. et al. Atropine, Hyoscine Butylbromide, or Scopolamine Are Equally Effective for the Treatment of Death Rattle in Terminal Care. **Journal of Pain and Symptom Management**, v. 38, n. 1, p. 124–133, 2009.

Apêndice B – Características do sensor BAC e parâmetros da instrumentação

As características do sensor BAC utilizado neste trabalho e os parâmetros de ajuste da instrumentação estão especificados nas tabelas 1 e 2, respectivamente.

Tabela 1: Características do sensor BAC utilizado nas medidas.

Linha de base [cm]	15
Diâmetro da superfície de detecção [cm]	4
Área de detecção [cm ²]	50,3
Nº de voltas da bobina excitadora	150
Fio da bobina excitadora	AWG 24
Resistência do fio da bobina excitadora [Ω]	4,3
Nº de voltas da bobina detectora	450
Fio da bobina detectora	AWG 36

Tabela 2: Parâmetros de ajustes do *Lock-in*, amplificador e software de aquisição.

Frequência do <i>Lock-in</i> [kHz]	10,00
Fase do sinal <i>Lock-in</i> [Graus]	-23,56
Amplitude do <i>Lock-in</i> [V]	0,700
Sensibilidade do <i>Lock-in</i> [mV]	50,00
Amplificação do sinal [dB]	-3,00
Frequência de Amostragem [Hz]	20,00