

Guido Menegatto

INATIVAÇÃO DA OCITOCINA SINTÉTICA PELAS FRAÇÕES PROTEICAS
E PELO PLASMA TOTAL DE GESTANTES A TERMO

Tese Apresentada à Universidade Estadual
de Campinas para Obtenção do Título de
Doutor em Ciências Departamento de
Fisiologia e Biofísica.

Prof. Dr. C. E. Negreiros de Paiva

— CAMPINAS —

1.976

GUIDO MENEGATTO

49

INATIVAÇÃO DA OCITOCINA SINTÉTICA PELAS FRAÇÕES PROTEICAS E
PELO PLASMA TOTAL DE GESTANTES A TERMO.



1150002602



FCM

T/UNICAMP M524i

Tese apresentada à Universidade Esta-
dual de Campinas para obtenção do tí-
tulo de Doutor em Ciências.

Departamento de Fisiologia e Biofísi-
ca.

Prof. Dr. C. E. Negreiros de Paiva.

- CAMPINAS -

1976

BIBLIOTECA FCM

UNICAMP

UNICAMP

BIBLIOTECA CENTRAL

Em memória de meu pai;

À minha esposa e filho;

À minha mãe e irmão;

pelos seus estímulos.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Carlos Eduardo Negreiros de Paiva, chefe do Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Biologia da UNICAMP, que ao convidar-nos para integrar neste Departamento, honrou-nos com sua confiança e amizade, e pelo apoio que nos deu durante os anos de orientação segura, para a confecção deste trabalho.

Aos docentes deste Departamento, Drs. Ernesto José Dottaviano, Armando Freitas da Rocha, Antonio Celso Ramalho, Rui Errerias Maciel, Antonio Carlos Boschero e Antonio Ari Gonçalves, pelo incentivo, estímulo, colaboração e sugestões apresentadas durante a parte experimental e escrituração desta tese.

Ao Dr. Modesto Antonio Lemos Carvalhinho, do Posto de Puericultura do Cambuí (Unidade de Saúde Materno-Infantil), que nos concedeu a permissão da colheita do material.

À Sra. Irma Salles, enfermeira chefe do Posto de Puericultura do Cambuí, pela sua colaboração na colheita do material.

Ao Laboratório de Análises Clínicas "Adolfo Lutz" de Campinas.

Às Srtas. Maria Elidia dos Santos, Ivete de Jesus Roque, Sra. Eliane Maria M. da Costa Amorim, pelos serviços datilográficos e Sra. Ivanira Martins Bertin, pelo serviço de ilustração.

Ao Sr. Pedro Jimenez, pelos serviços fotográficos.

À Diretoria de Serviços Gerais da UNICAMP

pelo serviço de impressão deste trabalho.

Aos funcionários deste Departamento de Fisiologia e Biofísica.

E a todos aqueles que de algum modo, colaboraram para a realização deste trabalho.

Meu muito Obrigado.

ÍNDICE

INTRODUÇÃO	01
MATERIAL E MÉTODOS	26
RESULTADOS	34
DISCUSSÃO	54
RESUMO E CONCLUSÕES	66
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68

INTRODUÇÃO

Desde a metade do século passado, uma série de investigadores se preocupou em estudar as funções da neurohipófise. Assim, OLIVER e SCHÄFER (1895) observaram pela primeira vez, uma atividade pressora em seus extratos. Mais tarde, (DALE, 1906) evidenciou nesses extratos, uma atividade útero-estimulante e KONSCHIEGG e SCHUSTER (1915) uma atividade anti-diurética; em 1928, KAMM et alii, separaram duas frações ativas da neurohipófise: ocitocina e vasopressina e HAUSMANN (1956) identificou um polipeptídeo que chamou de protormônio, do qual, pela cromatografia em papel e eletroforese, separou dois peptídeos; um com ação ocitócica e outro com ação vasopressora.

Com o auxílio da técnica de Gomori, observou-se a presença de grânulos de secreção na neurohipófise (BARGMANN, 1949), e com essa mesma técnica, foi possível demonstrar a presença desses grânulos, tanto no núcleo supraóptico quanto no paraventricular, inclusive nos tratos supraóptico e paraventricular hipofisário, bem como a sua liberação nas terminações axônicas da neurohipófise (SCHARER e SCHARRER, 1954).

Vários autores sugeriram que o núcleo supraóptico, está relacionado com a secreção de vasopressina e o paraventricular com a de ocitocina (FISHER, INGRAM e RANSON, 1938; DUKE, PICKFORD e WATT, 1950; OLIVECRONA, 1954 e 1957; DUGGAN e REED, 1958 e NIBBELINK, 1961). De fato, foi observado um aumento do nível de ocitocina sanguínea após estímulo elétrico do núcleo paraventricular (HAWKER et alii, 1959). MENA, ANGUIANO e BEYER (1961) estimulando a região mamilar e supramamilar do hipotálamo, próximo aos pedúnculos mamilares em gatas, observaram contrações uterinas, sugerindo a liberação de ocitocina nessas regiões, enquanto que o aumento de vasopressina foi observado em gatas após a estimulação do núcleo supraóptico ou do

trato supraóptico-hipofisário com pequena ou nenhuma alteração da ocitocinemia (BISSET, HILTON e POISNER, 1963 e 1967).

Outros autores, entretanto, acreditam que esses dois hormônios sejam secretados por ambos os núcleos (ANDERSSON, 1951a e ANDERSSON e McCANN, 1955) e, em vários estudos, não se evidenciou a liberação em separado de ocitocina e vasopressina (HATERIUS e FERGUSON, 1938; HATERIUS, 1940; FERGUSON, 1941; HARRIS, 1947 e 1948; PEETERS e COUSSENS, 1950; CROSS, 1951; KALLIALA e KARVONEN, 1951; ANDERSSON, 1951b; KALLIALA, KARVONEN e LEPPÄNEN, 1952 e ABRAHAMS e PICKFORD, 1954).

Conclui-se ainda, que a neurohipófise, não forma a ocitocina, mas apenas a acumula, sendo a via final dos neurônios oriundos tanto do núcleo supraóptico quanto do paraventricular (LEBLOVÁ e RYCHLÍK, 1960). Entretanto, verificou-se que após a destruição dos núcleos paraventriculares em ratas com diabetes insípido, aparece neurosecreção na neurohipófise, demonstrando-se que a ocitocina não é produzida apenas nos núcleos paraventriculares (SOKOL, 1970).

FRANKLAND et alii (1966) extraíram da hipófise posterior de boi, uma neurofisina, que submetida à cromatografia em coluna deu duas frações: ocitocina e vasopressina, e, WATKINS (1971) afirmou que as atividades pressora e ocitócica estão ligadas a essa neurofisina, existindo provavelmente quatro delas. Foi observado ainda que a liberação de arginina-vasopressina está associada com a de neurofisina, e que na circulação periférica, tal associação não ocorre (BIRO et alii, 1972). Outros autores, consideram a neurofisina como um transportador da ocitocina e arginina-vasopressina, e que a liberação da arginina-vasopressina parece estar ligada a liberação da neurofisina II (Mc NEILLY, LEGROS e FORSLING, 1972). A liberação de ocitocina durante o parto na cabra, é acompanhada da liberação de neurofisina, sem aumento do nível de vasopressina. Essa neurofisina, portanto, apenas representar um vasto produto de neurosecreção (Mc NEILLY et alii 1972). ZIMMERMAN et alii (1974) ob

servaram que existe uma relação entre a ocitocina e neurofisi_n I e vasopressina e neurofisi_n II no hipotálamo de boi e que o núcleo supraóptico contém uma concentração maior de neurofisi_n II e vasopressina que o paraventricular.

FERGUSON (1941) demonstrou que a distensão do colo uterino em gatas e coelhas, causa liberação reflexa de ocitocina pela neurohipófise, e que na mulher, a dilatação do colo uterino, levaria reflexamente a progressiva liberação de ocitocina, explicando o crescente aumento da atividade uterina a medida que o parto progride. Com a expulsão do feto e da placenta, cessaria a distensão cervical, diminuindo a liberação de ocitocina, o que explicaria a diminuição da atividade do útero que ocorre após o parto.

CALDEYRO-BARCIA et alii (1955) verificaram - que a atividade uterina induzida pela infusão de ocitocina a uma velocidade de 0,04 gamas/min., é exatamente igual , em todos os seus caracteres, a que ocorre no parto normal espontâneo, e quando se reduz ou se suspende a infusão de ocitocina, ocorre uma diminuição da atividade uterina, muito semelhante a que se observa após a expulsão do feto e da placenta no parto espontâneo. POSEIRO e NORIEGA-GUERRA (1961), encontraram os mesmos resultados, infundindo doses de 1 a 16 mU/minuto.

Estudando a sensibilidade do útero à ocitocina no decorrer da gestação, verificou-se que no início da mesma, a sua ação é muito maior que em não gestantes, sendo que esta reatividade aumenta e atinge o máximo entre a 32a. e 36a. semana, não ocorrendo alteração significativa quando se faz infusão de ocitocina nas últimas 4 a 8 semanas, e que, tal ação, é semelhante em seres humanos, vacas, coibas e gatas (CALDEYRO-BARCIA e POSE, 1958 e CALDEYRO-BARCIA e SERENO, 1961). VAN DYKE (1961) mostrou em sua revisão de literatura que a ação da ocitocina, "in vitro", ou "in vivo" varia nas diferentes espécies animais, estágio do ciclo sexual, estágio da gestação e outros fatores.

MOIR (1944) e SCHILD, FITZPATRICK e NIXON (

(1951) observaram que a sensibilidade do útero à ocitocina e vasopressina é menor durante os dois primeiros trimestres da gestação. NIXON e SMITH (1957) observaram que o útero contrai sob a ação da ocitocina, e que a sensibilidade do miométrio humano à termo, à ocitocina e vasopressina varia consideravelmente.

No início da gestação, a ocitocina e vasopressina tem ação idêntica, mas no decorrer da mesma, a da ocitocina torna-se mais evidente (EMBREY, 1959 e MÜLLER, 1961). THEOBALD (1959) entretanto, mostrou que a sensibilidade do miométrio humano aumenta no decorrer da gestação, tanto à ocitocina quanto ao hormônio antidiurético, sendo este, também eficiente em promover o trabalho de parto.

Já, COBO et alii (1966) observaram um aumento de ocitocina durante o trabalho de parto, que atinge o máximo no período expulsivo, sendo a sua ação mais importante que a do hormônio anti-diurético.

Na coelha, foi demonstrado que a ocitocina pode não ser essencial para o trabalho de parto, mas a dilatação do canal de parto durante a expulsão do feto atua como um estímulo reflexo para a liberação de ocitocina pela neurohipófise, sendo esta, liberada independentemente da vasopressina (HALDAR, 1970). A neurohipófise de fetos de cobaias parece ser muito ativa no tempo do nascimento (BURTON e FORSLING, 1972) e, o alto nível de ocitocina no sangue do cordão arterial, sugere que a mesma é produzida pela neurohipófise da criança no trabalho de parto, podendo ser este, outro mecanismo pelo qual o feto contribui para a sua própria expulsão (CHARD, BOYD e HUDSON, 1972). Em outro trabalho, GIBBENS, BOYD e CHARD (1972) não observaram relação entre a contração uterina e o aparecimento de ocitocina em nível detectável, sugerindo seus resultados, que a ocitocina é liberada em maior quantidade apenas durante o primeiro e segundo estágios do trabalho de parto.

A ocitocina circulante desaparece de forma exponencial em consequência do equilíbrio extravascular e da

sua destruição e eliminação ao nível de vários órgãos.

MÜLLER (1961) refere que AUGSBERGER faz o seguinte comentário: "Como no caso de muitas outras substâncias exógenas ou endógenas, pode-se afirmar que o grau de eliminação da ocitocina, é proporcional à quantidade da substância presente. Trabalhando nesse campo, THEORELL (1953) foi o primeiro a calcular a alteração do nível de ocitocina com o tempo, quando o hormônio foi administrado à uma razão constante por uma infusão endovenosa. O cálculo pode ser aplicado mais genericamente: se D unidades/minuto de uma substância ativa é administrada por infusão endovenosa e o organismo remove (por excreção ou destruição), uma fração $(1 - p)$ por minuto da quantidade de substância w_t avaliada no tempo t , a concentração t minutos após o início da infusão é:

$$w_t = \frac{D \cdot (1 - p^t)}{(-\log_e p)} \quad \text{unidades de substância ativa.}$$

Com infusão contínua, um equilíbrio é estabelecido entre o suprimento e a eliminação da substância ativa ao tempo $t = \infty$ e a concentração atinge o máximo.

$$w_{\max} = \frac{D}{(-\log_e p)} \quad \text{unidades de substância ativa.}$$

Quando a infusão é descontínua, a concentração diminui dentro de 1 minuto de w_0 para $w_0 p$ de acordo com o coeficiente de persistência p ; e dentro de t minutos, a concentração cai para $w_t = w_0 - p^t \times$ unidades de substância ativa. Similarmente a concentração cai pela metade durante a vida média da substância

$$h = \log_e 0,5 / \log_e p.$$

Se a vida média é h minutos, o coeficiente de persistência

é

$$p = \sqrt{h} \quad 0,5/\text{minutos}$$

Por exemplo, dada uma vida média de 1 minuto, $p = 0,5/\text{minutos}$; para uma vida média de 2 minutos, $p = 0,707/\text{minutos}$, e assim por diante".

A vida média da ocitocina, varia de animal para animal, e de sua depuração ao nível de vários órgãos esplanchnicos, como mostram diversos autores.

Segundo IMANAGA, KONDO e MORI (1957), os rins e o fígado são provavelmente os principais órgãos envolvidos na depuração e excreção da ocitocina.

SAWYER (1954) observou que além do fígado e rins, a musculatura uterina de ratas no último terço da gestação, metaboliza a ocitocina com bastante eficácia.

GINSBURG e SMITH (1958 e 1959), observaram - uma vida média de $1,73 \pm 0,1$ minutos para rata em estro, $1,65 \pm 0,13$ minutos para o rato macho, $1,19 \pm 0,06$ minutos para ratas em lactação, $2,01 \pm 0,08$ minutos para ratas no final da gestação e 8,5 minutos para gatas, e, fazendo a ligadura das artérias celíaca e mesentérica superior e veia porta em ratas, a vida média da ocitocina passa para $2,12 \pm 0,2$ minutos, e com a ligadura dos vasos renais apenas, passa para $2,95 \pm 0,2$ minutos, sendo que a ligadura de ambos, faz com que a vida média da ocitocina se eleve para 6 a 8 minutos.

AROSKAR et alii (1964) verificaram que quando se injeta (^3H) ocitocina em ratas, 35% da radioatividade é eliminada pelos rins, além de se distribuir no fígado, adrenais e hipófise, concluindo que os principais órgãos envolvidos na depuração da ocitocina são os rins e o fígado.

do.

Segundo SJÖHOLM e RYDÉN (1967), a vida média da ocitocina em ratas não grávidas é de aproximadamente 97 segundos, nas grávidas 79 segundos, nas lactantes 89 segundos, nas ooforectomizadas 73 segundos e nas ooforectomizadas tratadas com estrógenos 90 segundos.

Em 1969, injetando ocitocina marcada em ratas, eles observaram que a sua degradação ocorre no útero, músculo esquelético e principalmente nos rins e fígado.

Para RODERICH e SHLANK (1971), o rim de ratos machos é o principal órgão que inativa a ocitocina "in vivo".

Foi observado, em coelhas, que a vida média da ocitocina aumenta de 3,3 minutos para 5,5 minutos, quando se faz a ligadura dos vasos hepáticos, para 7,9 minutos quando se liga os vasos renais, e, para 9,7 quando se liga ambos os vasos (CHAUDHURY e WALKER, 1957 e 1959).

Em ovelhas não grávidas, FITZPATRICK (1961) observou uma vida média da ocitocina de 45 a 50 segundos.

A ocitocina é fixada e metabolizada rapidamente nos rins e fígado de vacas (MANUNTA, 1960) e de cabras (MANUNTA e MARONGIU, 1961).

Em vacas, a vida média da ocitocina é de 1,15 a 1,35 minutos (WALMSLEY, 1963) e, em cabras, 1,14 minutos (KNAGGS, 1964).

PARKASH e ANDERSON (1972) observaram, que a vida média da ocitocina no sangue jugular de vacas, após a injeção de 50 UI é de $1,013 \pm 0,1$ minutos.

GONZÁLEZ-PANIZZA, SICA-BLANCO e MÉNDEZ-BAUER (1961), mostraram em mulheres grávidas, que quando a infu-

são de ocitocina é descontínua, a sua concentração sanguínea cai rapidamente, e a sua vida média é de 2,7 minutos.

Já, MÜLLER (1961) observou que a vida média da ocitocina na mulher grávida, varia de 1 a 3 minutos considerando que a ocitocina é excretada pelos rins, ou inativada no sangue, ou transferida para outros tecidos.

FABIAN et alii (1969) observaram que a vida média da ocitocina na mulher grávida a termo é de 3,2 minutos após a injeção de 2 U e que a infusão de 500 mU/minuto aumenta a vida média para 4,8 minutos.

Injetando ocitocina marcada em mulheres, observou-se que a vida média varia com a fase do ciclo sexual; assim, na fase proliferativa é de 272 segundos, na fase secretória 221 segundos, em mulheres tratadas com anticoncepcionais, 199 segundos, em gestantes no 1º trimestre, 178 segundos, entre o 14a. e 17a. semanas de gestação, 295 segundos e entre a 18a. e 20a. semanas, 282 segundos, e que, nas 3 primeiras horas após a sua infusão em gestantes, 25 a 50% da radioatividade é recolhida na urina. O estrógeno faz com que a ocitocina permaneça maior tempo na circulação, enquanto que a progesterona, menor tempo (RYDÉN e SJÖHOLM, 1969).

Muitos pesquisadores observaram que a ocitocina armazenada na neurohipófise, além de ser depurada pelo organismo, é degradada por substâncias enzimáticas. KÜSTNER (1927) foi o primeiro a verificar que o soro de parturientes anulava a ação da "hipofisina" e que o soro de não gestantes não apresentava tal ação. FEKETE (1930, 1932), afirma que o soro de mulheres grávidas modifica a estrutura química da ocitocina, perdendo a sua ação sobre o útero e que esse processo ocorre mais rapidamente "in vivo" que "in vitro", sendo acentuada nos dois últimos meses da gravidez.

Confirmando os achados de KÜSTNER e de FEKETE, vários autores utilizando métodos biológico ou químico,

observaram que a atividade enzimica do soro ou plasma de gestantes, aumenta com o decorrer da gestação a partir do 2º ou 3º mês, atingindo o máximo durante o parto, diminuindo a seguir (WERLE e EFFKEMANN, 1941; WERLE, HEVELKE e BUTHMANN, 1941; WOODBURY et alii, 1946; WERLE, SEMM e ENZENBACH, 1950; KANAZAWA, 1954; WERLE e SEMM, 1951 e 1955; SEMM, 1955, 1957 e 1958; MÉNDEZ-BAUER e CALDEYRO-BARCIA, 1957; GONZÁLEZ PANIZZA e SICA-BLANCO, 1957; MÉNDEZ-BAUER e CARBALLO, 1957a, b; TUPPY e NESVADBA, 1957; CARBALLO e MÉNDEZ-BAUER, 1957a, b; BELLER e GÖBELSMANN, 1958 e 1959; CARBALLO, MÉNDEZ-BAUER e GONZÁLEZ-PANIZZA, 1959; CALDEYRO-BARCIA e POSEIRO, 1959; SEMM, 1959a, b; DICKER e WHYLEY, 1959; MÜLLER-HARTBURG, NESVADBA e TUPPY, 1959; TITUS et alii, 1960; CENTARO, PERITI e LAURENTIIS, 1961; KLIMEK e PIETRZYCKA, 1961; CENTARO, LAURENTIIS e PERITI, 1961; PAGE et alii, 1961; MELANDER, 1961; HASHIMOTO, 1961; PERITI, CENTARO e LAURENTIIS, 1961a, b; MÉNDEZ-BAUER et alii, 1961; BOLOGNA, MUZZOLINI e PEZZALI, 1962; NICCOLI e CIMELLARO, 1962; RIAD, 1962; SEMM e BERNHARD, 1963; BONOW, CAROL e WACHTEL, 1963; BERNHARD e SEMM, 1964; KLIMEK, 1964; MILLER et alii, 1964; GOEBELSMANN e BELLER, 1965; ICHALLOTIS e LAMBRINOPOULOS, 1965; MELANDER, 1965; BABUNA, ERÖZDEN e YENEN, 1965; BERNHARD, 1967; JOSEPHIDES, 1967; BRANDA et alii, 1968; FERRIER et alii, 1968; KLIMEK, DREWNIAK e BIENIASZ, 1969; MOLNÁR e ISTVÁN, 1969; HENSLEIGH e KRANTZ, 1970; POLACEK, HORNYCHOVA e KORCAKOVA, 1970; RYDÉN, 1971; WATKINS e SMALL, 1972b; CHRISTENSEN, FROYSHOW e FYLLING, 1974 e JAYARAMAN et alii, 1975.

Os primeiros autores a denominarem de "ocitocinase" a enzima existente no soro humano que inativa a ocitocina foram WERLE et alii, (1941).

Usando um método polarográfico específico para a determinação da ocitocinase, sem a interferência de outras aminopeptidases, e a pituitrina como substrato, BARTIK e MICHNOVÁ (1966), determinaram a presença da ocitocinase no 5º mês de gestação.

HURRY et alii (1972), observaram que o maior

nível de CAP (cistina aminopeptidase), em gestantes normais, ocorre na 39a. semana de gestação e que antes e no final do parto, o seu aumento é maior.

Observou-se que o nível de CAP sérica aumenta progressivamente a partir da 18a. semana de gestação, até a 40a., para depois diminuir (CURZEN e VARMA, 1973).

A ocitocinase do soro retroplacentário é uma aminopeptidase que degrada além da ocitocina, a lisina-vasopressina (DICKER e TYLER, 1956; STOKLASKA e WINTERSBERGER, 1959; SJÖHOLM e YMAN, 1967; RIAD, 1967; MELANDER, 1968; BRANDA et alii, 1968 e FERRIER et alii, 1968), enquanto que o plasma de homens e não gestantes, não possui tal ação (WERLE e KALVELAGE, 1941; DIECKMANN et alii, 1950; CROXATTO, VERA e BARNAFI, 1953; DICKER et al., 1956 e HAWKER, 1957).

Outros autores, observaram que o soro de gestantes tem alta atividade leucina-aminopeptidásica, que aumenta com o decorrer da gestação e diminui após o parto (WERLE et al., 1941; GREEN et alii, 1955; GOLDBARG e RUTENBURG, 1958; SIEGEL, 1959; BRESSLER e FORSYTH, 1959; ARST, MANNING e DELP, 1959; SCIARRA e BURREN, 1960; KLEINER e GRAFF, 1961; SCIARRA, 1962; SCHÖN, RÄSSLER e WEYERGRAF, 1963; MILLER et alii, 1964; ZSOLNAI et alii, 1964; COEBELSMANN et al., 1965; SMITH e RUTENBURG, 1966; POJEROVÁ e TOVÁREK, 1967 e JONEK et alii, 1967) enquanto que PAGE et alii (1961), não observaram aumento da LAP com o decorrer da gestação.

Sugeriu-se que a determinação da LAP e CAP, durante a gestação, serviria para se avaliar a função normal da placenta (FLOYD, MARGULIS e WOODS, 1973).

Segundo DICKER et al (1956) e FRANCESCHELLI

e LEONE (1964), a inativação da ocitocina diminui com o de correr da gestação.

Observou-se que a inativação da vasopressina diminui lentamente após a gestação (WERLE et alii, 1941 ; SIEGEL, 1959; ZSOLNAI et alii, 1964 e POJEROVÁ et al , 1967), enquanto que outros autores acharam que diminui rapidamente (DIECKMANN et alii, 1950; CROXATTO et alii , 1953; SCIARRA et al., 1960; SCIARRA, 1962 e RIMBACH e SCHREINER, 1967).

A determinação da LAP, não serve como diagnóstico da gravidez (ARST, et alii, 1959; SCIARRA et al. , 1960 e SCIARRA, 1962), já PAGE (1947), SIEGEL (1959), BRESSLER et al (1959) e SMITH e RUTENBURG (1963), concluíram que serve.

Vários autores concluíram que a atividade - LAP é de origem placentária, uma vez que na placenta existe alta atividade dessa enzima (SCIARRA et al., 1960; BASTIDE et alii, 1961; SCIARRA, 1962; ZSOLNAI et alii, 1964 ; MACCHI, 1966 e RIMBACH et al., 1967); por outro lado , BECKMAN, BJORLING e CHRISTODOULOU (1966) afirmam não ser a LAP de origem placentária.

Estudando histoquimicamente a LAP placentária, observou-se que a medida que a gestação vai se aproximando de seu final, a reação torna-se mais negativa e não há relação entre ocitocinase, CAP e LAP (ABAD-MARTINEZ , 1968).

Foi observado que a LAP migra na eletroforese junto a globulina alfa 1, no soro de gestantes, no início da gestação (SMITH, PINEDA e RUTENBURG, 1962 e SMITH et al. 1963), enquanto que no 3º trimestre, alta atividade é encontrada na globulina alfa 2 (SMITH et alii, 1962).

Extratos de placenta eletroforizados, também mostram que a LAP migra junto a globulina alfa 2 (SMITH et

al., 1963).

Foi observado ainda em eletroforese, 3 componentes que hidrolizam a 1-cistina-di-beta-naftilamida: - dois que migram lentamente CAP₁ e CAP₂ e são característicos da gravidez e destroem a ocitocina e vasopressina, e um 3º (LAP) que aparece também em não gestantes e aumenta muito pouco durante a gestação (GLENDENING et alii, 1965 e TARLI, 1969).

Separou-se a LAP e CAP (ocitocinase), observando-se que a CAP aparece somente na gestação, e a LAP, em homens, não gestantes e gestantes clivando a 1-leucina-beta-naftilamida, mais fortemente que a 1-cistina-di-beta-naftilamida (GOEBELSMANN et al., 1965).

Observou-se também, que a ocitocinase parece estar estabilizada no último trimestre da gestação e em alguns casos, parece haver uma diminuição da mesma, o que poderia ser explicado pelo envelhecimento da placenta, e ao iniciar o parto, a própria atividade uterina ao reduzir a irrigação da placenta poderia contribuir para diminuir mais ainda a produção de ocitocinase (CALDEYRO-BARCIA, 1957) pois no início do trabalho de parto ocorre uma queda da ocitocinase (ANCES, 1972).

Estranhando o fato da ocitocinase existir em maior quantidade no parto, quando deveria ser a ocitocina, conclui-se que este hormônio, mesmo em pequena concentração, é capaz de excitar o útero, que se encontra muito sensível no momento do parto (WERLE et al., 1941), e que a ocitocina é efetiva mesmo em presença da ocitocinase (REYNOLDS e MACKIE, 1961).

Estudando o nível da ocitocinase em gestantes, a duas semanas do parto, observou-se uma diminuição dessa enzima quando do início das contrações uterinas (HILTON e JOHNSON, 1959).

Foi observado que o estado da placenta é im-

portante no equilíbrio ocitocina-ocitocinase, e que o trabalho de parto ocorre apenas quando o nível de ocitocina é maior (KLIMEK, 1963 e BABUNA et alii, 1965).

A administração de gestagenos, promove um aumento do nível de ocitocinase, concluindo-se que eles estimulam o metabolismo da placenta (SEMM e BERNHARD, 1964), e que, no trabalho de parto induzido, o nível de estriol aumenta, o que sugere serem os estrogênios mais importantes - que a ocitocinase (FYLLING, 1964a). Já, MESSINA e CISTERMINO (1968) observaram que no final da gestação, a administração de estrogênios promove uma queda da ocitocinase sérica, potenciando dessa forma a ação da ocitocina, mostrando que o miométrio torna-se mais sensível em presença de estrogênios, uma vez que estes inativariam a ocitocinase.

Demonstrou-se que na 1a. semana de gestação, o plasma não inativa a ocitocina, e que sua depuração ocorre principalmente por via renal, ocorrendo o inverso no final da gravidez (SICA-BLANCO e GONZÁLEZ-PANIZZA, 1957).

A ocitocinase desaparece na 3a. ou 4a. semana após o parto (WERLE et al. 1941; WERLE, et alii, 1941; PAGE, 1946 e HASHIMOTO, 1961). Outros autores, já encontraram que o seu desaparecimento ocorre no 10º ou 14º dia após o parto (WERLE et al. 1951 e 1955; DICKER et al., 1956; SEMM, 1955, 1957 e 1958 e WATKINS et al., 1972b).

Vários autores encontraram lenta diminuição da ocitocinase após o parto (DICKER et al., 1959; SEMM, 1959a, b; FERRIER et alii, 1968; BRANDA et alii, 1968; MOLNÁR et al., 1969 e RYDÉN, 1972). Outros autores acharam que sua diminuição era rápida após o parto (HILTON et al., 1959; CENTARO, et alii, 1961; CENTARO et alii, 1961; PERITI et alii, 1961a, b; BOLOGNA, et alii, 1962; NICCOLI et al., 1962; KLIMEK, 1968b e ANCES, 1972).

Foi ainda observado que essa enzima continua aumentando após o trabalho de parto, em 80% dos casos (KLIMEK et alii, 1969).

A maior atividade ocitocinásica ocorre entre pH 6,5 a 8,0 e a enzima é altamente termolábil (WERLE et alii, 1941; HAWKER, 1955 e 1956; TUPPY et al., 1957 e SEMM, 1959a, b).

KLIMEK (1968b), verificou que no 1º e 2º trimestres de gestação, a atividade ocitocinásica cai, quando se eleva o pH para 7 a 8, e no 3º trimestre, a ocitocinase aumenta com o aumento de pH; no parto, ocorre uma relação direta entre o nível de ocitocinase e pH.

A ocitocinase aparece apenas em mulheres grávidas, não existindo em homens e não gestantes (WERLE et alii, 1941; WOODBURY et alii, 1946; PAGE, 1947; WERLE et al., 1951 e 1955; DICKER et al., 1956; SEMM, 1955, 1957 e 1958; MÉNDEZ-BAUER et al., 1957; GONZÁLEZ-PANIZZA et al., 1957; MÉNDEZ-BAUER et al., 1957a, b; CARBALLO et al., 1957a, b e c; CARBALLO, et alii, 1959; CALDEYRO-BARCIA et al., 1959; DICKER et al., 1959; MÜLLER-HARTBURG, et alii, 1959; MÜLLER-HARTBURG, 1959; WINTERSBERGER e TUPPY, 1960; PERITI, et alii, 1961a, b; HASHIMOTO, 1961; PAGE et alii, 1961; MÉNDEZ-BAUER et alii, 1961; TUPPY e WINTERSBERGER, 1963; GOLUBOW, CHAN e du VIGNEAUD, 1963; MELANDER, 1965; JAMES, 1966; SEELIG e LASSEN, 1971; RYDÉN, 1971 e JAYARAMAN et alii, 1975).

Em não gestantes, a atividade ocitocinásica praticamente não existe, enquanto que na grávida, ao 8º mês é bastante elevada (CHRISTENSEN, 1974a).

Em extratos de útero e placenta de mulheres grávidas, foi observado alta atividade ocitocinásica (WERLE et alii, 1941; HAWKER, 1955 e 1956; CARBALLO e CALDEYRO-BARCIA, 1957; GONZÁLEZ-PANIZZA et al., 1957; MÉNDEZ-BAUER et al., 1957a, b; CARBALLO et al., 1957a, b; CARBALLO et alii, 1959; HOOPER e JESSUP, 1959; CALDEYRO-BARCIA et al., 1959; PERITI, et alii, 1961a, b; PAGE et alii, 1961; SEMM e WIENDL, 1962; RIAD, 1962 e BERNHARD, 1967).

O tecido uterino, inativa irreversivelmente a ocitocina, porém, somente em condições anaeróbicas (AUDRAIN e CLAUSER, 1960).

A ocitocinase existente no plasma de gestantes, destrói 50% de ocitocina a 38°C em 1 minuto (PAGE, 1946), e, em duas horas a 37°C, a ocitocina é destruída totalmente (HAWKER, 1955 e 1956). Outros autores, observaram que o plasma de gestantes a termo, incubado com ocitocina, inativa 50% de ocitocina entre 7 a 9 minutos, a 38°C (GONZÁLEZ-PANIZZA et al., 1957; MÉNDEZ-BAUER et al., 1957a, b; CARBALLO et al., 1957a, b e c; CARBALLO et alii, 1959 e CALDEYRO-BARCIA et al., 1959), já, MÉNDEZ-BAUER et alii (1961), observaram que o plasma de gestantes a termo, inativa 50% de ocitocina sintética em $4,54 \pm 1,13$ minutos a 38°C.

A falta de atividade ocitocinásica pode levar ao aborto, e a sua determinação, tem importante valor diagnóstico (WOODBURY et alii, 1946; PAGE, 1946; WERLE et al., 1951 e 1955; SEMM, 1955, 1957 e 1958; HASHIMOTO, 1961 e BABUNA e YENEN, 1966a).

Nas eclâmpticas, a placenta não tem atividade ocitocinásica (CARBALLO et al., 1957).

Não há relação entre o nível de ocitocinase e toxemia gravídica, não servindo portanto a sua determinação como diagnóstico ou prognóstico da toxemia (ARAGON, 1948 e BABUNA et al., 1966a).

Em toxêmicas, o nível de ocitocinase é menor que o normal (MÜLLER-HARTBURG et alii, 1959; MÜLLER-HARTBURG, 1959; SEMM et al., 1963; BERNHARD et al., 1964 e MATHUR e WALKER, 1970).

O plasma e extratos de placenta de pré-eclâmpticas, tem pequena atividade ocitocinásica, ocorrendo com isso um aumento das contrações uterinas (HAWKER, 1955 e 1956; HASHIMOTO, 1961; RIAD, 1962; ICHALLOTIS e LAMBRINO -

POULOS, 1964b; HURRY et alii, 1972; RYDÉN, 1972; CHRISTENSEN, 1974a, b e CHRISTENSEN e HAGELID, 1975).

A queda da ocitocinase, indica diminuição da função placentária (BABUNA et al., 1966b; ABAD-MARTINEZ, POCH e HOLZER, 1968; BRUIJCKERE, 1968; KLIMEK, 1968a, POCH et alii, 1970 e SKRAMOVSKY et alii, 1971).

Observou-se que em pacientes com mola hidatiforme e coriocarcinoma, a atividade ocitocinásica apresentava um nível significativamente menor do que em pacientes com gestação normal (PAGE, 1947 e BABUNA et alii, 1970). O HASHIMOTO (1961) verificou que a ocitocinase existente nas vesículas da mola hidatiforme é maior que no soro das mesmas pacientes.

A determinação da ocitocinase pode ser usada para determinar a duração da gravidez e detectar uma insuficiência placentária no 3º trimestre de gestação (RYDÉN, 1971 e 1972).

A determinação da ocitocinase indica aproximadamente a idade do feto e pode ser usada como diagnóstico da gravidez (MÜLLER-HARTBURG et alii, 1959; MÜLLER-HARTBURG, 1959 e TUPPY et al., 1963), enquanto que BONOW et alii (1963) e MELANDER (1965 e 1968) afirmam que a determinação da CAP (ocitocinase) não serve como diagnóstico da gravidez, ou para assegurar a idade gestacional. Já, TARLI (1969) observou que tal determinação, serve como índice clínico em várias condições patológicas de gravidez.

Em gestações múltiplas (gemelares), o nível de ocitocinase é maior que em gestações simples, porque a placenta é maior (PAGE et alii, 1961; MILLER et alii, 1964; RYDÉN, 1972 e CHRISTENSEN et al., 1975). Para HURRY et alii (1972), o nível observado é menor.

Nos casos de inércia uterina, persiste a inativação da ocitocina, pois o nível de ocitocina no san-

gue diminui, e o de ocitocinase aumenta (DICKER et al. , 1956; TIMOSHENKO, 1961; KLEINER e RYMENANT, 1964; LAMBRINOPOULOS, 1964; BABUNA et al., 1966a; BOROV, 1966a, b; CISTERMINO e MESSINA, 1967; JOSEPHIDES, 1967 e MATHUR e WALKER , 1968).

Na morte fetal intra-uterina, o nível de ocitocinase é baixo, servindo a sua determinação como diagnóstico da morte fetal (KLEINER et al., 1964; IMAZ, OTERO e CASTINEIRA, 1966; RIAD, 1966; JOSEPHIDES, 1967; BRUIJCKERE, 1968 e RYDÉN, 1972). Entretanto, BABUNA et al. (1966a) e HURRY et alii (1972), observaram que na retenção do feto morto, o nível de ocitocinase é alto e a sua determinação - serve como diagnóstico nesses casos, indicando persistência da função uterina por certo tempo.

No sofrimento fetal, o nível de ocitocinase sérica é menor que o normal, e a sua determinação serve para diagnosticar uma gravidez prolongada (CISTERMINO e MESSINA, 1965 e BRUIJCKERE, 1968). Outros autores verificaram - que a determinação da CAP (ocitocinase), não serve para pre dizer o sofrimento fetal (CURZEN et al., 1973).

Na insuficiência placentária, ocorrem alterações da ocitocinase, às vezes para mais, outras vezes para menos (HENSLEIGH et al., 1970).

Utilizando o método químico para a determinação da ocitocinase sérica, em gestantes após um trauma cirúrgico, KLIMEK, PIETRZYCKA e GROCHOWSKI (1962), observaram que quando o fígado dessas pacientes está intacto, o nível da enzima sofre uma elevação bastante significativa.

Foi observado um aumento da atividade ocitocinásica nos eritrócitos, após a sua hemólise, com o decorrer da gestação (PAGE, 1946; WERLE et alii, 1950; KANAZAWA , 1954; WERLE et al., 1951, 1955 e 1956; SEMM, 1955, 1957 e 1958; MÜLLER-HARTBURG et alii, 1959; MÜLLER-HARTBURG, 1959 e SEMM et al., 1962), inclusive da atividade leucina-amino-

peptidásica (BASTIDE et alii, 1961).

Usando métodos biológicos ou químicos, uma série de autores observaram que a ocitocinase é produzida, ou provavelmente produzida pelas células sinciciais do trofoblasto e, liberada para a circulação materna, em quantidades crescentes durante a gestação (PAGE, 1946; WERLE et al., 1951 e 1955; SEMM, 1955, 1957 e 1958; CARBALLO et al., 1957; GONZÁLEZ-PANIZZA et al., 1957; MÉNDEZ-BAUER et al., 1957a, b; CARBALLO et al., 1957a, b; MÉNDEZ-BAUER, CARBALLO e POSE, 1958; CARBALLO et alii, 1959; MÜLLER-HARTBURG, 1959; CALDEYRO-BARCIA et al., 1959; MÜLLER-HARTBURG et alii, 1959; MÉNDEZ-BAUER et alii, 1961; PAGE et alii, 1961; TUPPY, 1961; SEMM e WAIDL, 1962; BOLOGNA et alii, 1962; SEMM et al., 1963; BERNHARD et al., 1964; SEMM et al., 1964; JAMES, 1966; MATHUR et al., 1968; MELANDER, 1968; BRANDA et alii, 1968; FERRIER et alii, 1968; SEELIG e ROEMHELD, 1969; MATHUR et al., 1970; BRANDA e FERRIER, 1971; SMALL e WATKINS, 1971b; OUDHEUSDEN, 1971; SCHOUTZ e STIGBRAND, 1973; CHRISTENSEN, 1974a e JAYARAMAN et alii, 1975). Outros autores, concluíram que talvez a placenta não seja o local de formação da ocitocinase, uma vez que não encontraram relação entre o nível de ocitocinase e peso da placenta (ICHALIOTIS e LAMBRINOPOULOS, 1964a).

A ocitocinase teria uma ação de proteger o útero e o feto, durante a gestação (PAGE, 1946; KANAZAWA, 1954; SEMM, 1959a, b; CENTARO et alii, 1961; CENTARO et alii, 1961; FYLLING, 1964b; ICHALIOTIS et al., 1965; MESSINA e CISTERMINO, 1965 e SJÖHOLM, 1969), embora, talvez existam outros fatores mais importantes que a ocitocinase, para exercer essa proteção (FYLLING, 1963).

Uma série de autores observaram que a ocitocinase inativa a ocitocina, natural ou sintética, não havendo diferença entre ambas quanto ao grau de inativação (WERLE et al., 1951, 1955; SEMM, 1955, 1957 e 1958; MÉNDEZ-BAUER et al., 1957; GONZÁLEZ-PANIZZA et al., 1957; MÉNDEZ-BAUER et al., 1957a, b; CARBALLO et al., 1957a, b e c :

BELLER et al., 1958 e 1959; CARBALLO, et alii, 1959; CALDEYRO-BARCIA et al., 1959; MANUNTA et al., 1961 e MÉNDEZ-BAUER et alii, 1961).

A atividade ocitocinásica foi observada apenas em mulheres grávidas e macacas Rhesus, durante a gestação, parecendo ser portanto específica dos primatas que tem placenta do tipo hemocorial (WERLE et al., 1951 e 1955 ; SEMM, 1955, 1957 e 1958; GONZÁLEZ-PANIZZA et al., 1957; MÉNDEZ-BAUER et al., 1957a, b; CARBALLO et al., 1957a, b; CARBALLO et alii, 1959 e CALDEYRO-BARCIA et al., 1959), inclusive a atividade leucina aminopeptidásica foi observada em primatas com placenta do tipo hemocorial (LETTOW e JAEGER, 1965).

Outros autores observaram que a atividade ocitocinásica não é própria da mulher, mas de todas as espécies que tem ocitocina (MANUNTA, 1960 e MANUNTA et al., 1961).

Observou-se que a ocitocinase e a hipertensinase tem propriedades semelhantes, e que, a hipertensinase compete com a ocitocina como substrato para a ocitocinase, e desta forma a hipertensinase retarda a inativação da ocitocina (CROXATTO, CROXATTO e REYES, 1948).

Extratos de ovário de porcas, apresentam uma atividade que foi denominada de "ovariocitocinase", e que inativa a ocitocina com uma ação mais potente que a ocitocinase (FRIED e WÜST, 1954).

Acredita-se que a ocitocinase não seja apenas uma enzima, mas sim um grupo de enzimas (BELLER e SCHNIZ, 1960 e TUPPY et al., 1963).

Foi demonstrada a existência de duas substâncias ocitócicas no trabalho de parto, sendo que uma delas é inativada pelo tioglicolato de sódio as quais aumentam na gestação e são destruídas pelo plasma de gestantes, enquan-

to que essa segunda substância pode ter maior ação que a ocitocina no trabalho de parto (HAWKER e ROBERTSON, 1957 ; CENTARO et alii, 1961 e CENTARO et alii, 1961).

Verificou-se que a ocitocina infundida durante o trabalho de parto é rapidamente inativada pela ocitocinase, cujo nível aumenta com a infusão de ocitocina (PERITI et alii, 1961a, b; HASHIMOTO, 1961; FYLLING, 1964b ; IMAZ et alii, 1966; RIAD, 1966 e SIMKO, 1971).

Quando se faz a infusão de 10 a 60 mU de ocitocina, o nível de ocitocinase não se altera, mas por infusão contínua, ocorre uma queda dessa enzima (KLIMEK e BIE-
NIASZ, 1969).

A inativação da ocitocina pela ocitocinase , ocorre por desnaturação peptídica da ocitocina (RESSLER , 1958), havendo uma redução da ponte dissulfeto da ocitocina, sendo que a sua reoxidação, torna-a ativa (AUDRAIN et al., 1958 e 1960), rompendo a ligação cistina-tirosina da ocitocina (TUPPY et al., 1957; TUPPY, 1961; TOVEY, 1969 e -- OUDHEUSDEN, 1971).

A ocitocinase do soro retroplacentário foi purificada em larga escala, obtendo-se um rendimento de 50 a 80% (SJÖHOLM, YMAN e SANDBERG, 1965; SJÖHOLM e YMAN , 1966a, b e YMAN e KULLING, 1969).

A ocitocinase do plasma de gestantes é uma cistina aminopeptidase e foi determinada pelo método químico, sendo que o plasma de não gestantes tem a mesma atividade, mas é devido a outras aminopeptidases (TITUS et alii, 1960 e GOLUBOW et alii, 1963).

A CAP e a ocitocinase, tem atividades semelhantes, porém o nível de CAP no soro de gestantes é bem maior (HASHIMOTO, 1961).

Pelo método químico, para a determinação da

ocitocinase, definiu-se que: "1 U de ocitocinase, corresponde a 1 ml de soro, capaz de produzir 1 μ U de beta-naftilamina" (KLIMEK et al., 1961).

Fazendo-se a determinação da ocitocinase sérica pelo método químico, encontrou-se os seguintes valores em mg de beta-naftilamina/100 ml de soro/hora no 9º mês de gestação: gestação normal, 5,63; fetos grandes, 7,26; gestação gemelar, 8,20 e polidramnios, 8,50 (MESSINA et al., 1965). Já, LAMBRINOPOULOS, ICHALLOTIS e CAMBOLIS (1966), encontraram o seguinte: gestação normal, 5,16; pré-eclâmpticas, 3,10 e gravidez prolongada, 8,60.

Usando-se o método químico, após a separação eletroforética de soro de gestantes a termo, em Cellogel, encontrou-se uma atividade CAP (ocitocinase) máxima, do lado catódico da globulina alfa 1, e sobretudo nas faixas alfa 1 e alfa 2, não aparecendo em nenhuma outra fração, mostrando que a CAP é recolhida somente nas frações alfa 1, alfa 2 e entre elas (RIAD e SCANDRETT, 1962).

Em eletroforese de soro retroplacentário de gestantes, aparecem duas CAP (CAP₁ e CAP₂), sendo que a CAP₂ é uma cauda da globulina beta, e ambas representam formas diferentes da enzima, porém, são específicas da gravidez (PAGE et alii, 1961; AFONSO e ÁLVAREZ, 1963; SJÖHOLM, 1964 e SJÖHOLM et al., 1966a, b).

Encontrou-se alta atividade ocitocinásica, em eletroforese do soro de gestantes, na fração albumina (WERLE et alii, 1950).

OLIVELLI e RUGGIERI (1958) evidenciaram no soro de gestantes, um antígeno, talvez formado pela placenta, o qual na eletroforese, aparece junto à globulina alfa 1.

Foi observado ainda, que a ocitocinase do soro retroplacentário, contém grande teor de galactose, frutose, galactosamina, ácido siálico, ácido aspártico, ácido -

glutâmico, serina e treonina (YMAN, 1970), e que o ácido - siálico é essencial para a conformação da enzima, a qual é uma aminopeptidase que hidroliza todos os peptídeos, exceto aqueles que contêm prolina ou ácido aspártico (SJÖHOLM, 1967).

YMAN e SJÖHOLM (1967) e MELANDER (1968) encontraram para a ocitocinase do soro retroplacentário um peso molecular de 300.000 e mais tarde (YMAN, 1970) verificou que o seu peso molecular é de 290.000.

Observou-se que a ocitocinase é ativa apenas em ligações com metais bivalentes (Mn^{++} , Co^{++} e Zn^{++}) e sua ação desaparece quando desligada desses metais (WERLE et al., 1956; SEMM, 1959a, b e HOOPER, 1959).

A ocitocinase do soro de gestantes, aparece na eletroforese, sempre do lado catódico da albumina, apoiada à globulina alfa 1, e todas as outras frações não inativam a ocitocina; a albumina inativa 20%, e a globulina alfa 1, 80% (WERLE et al., 1956). Na eletroforese, a ocitocinase aparece sempre entre a albumina e globulina alfa 1 (SEMM, 1959a, b e ČIHAŘ et alii, 1961). Foi observado ainda que a ocitocinase do lado da albumina, é diferente da do lado globulina alfa 1, daí, existirem duas formas diferentes da enzima (ČIHAŘ et alii, 1961).

Fracionando-se as proteínas séricas de gestantes através de eletroforese, encontrou-se uma fração adicional na região da globulina alfa 2, a qual aparece no final da gestação em 80% dos casos, e por imunoeletroforese aparecem outros componentes em alfa 1, alfa 2 e beta globulina (AZYAVCHIK, 1967).

Mostrou-se por eletroforese, o aparecimento de uma "pregnancy zone" no soro de gestantes em trabalho de parto, parecendo ser uma proteína específica da gravidez. Não corresponde a qualquer fração proteica clássica e não aparece no soro de homens e não gestantes, sendo identificada a partir do 2º trimestre de gestação e é diferen-

- Pág. 009 - linha 5 MANN, 1941; PAGE, 1946; WOODBURY...
- Pág. 025 - § 4 - linha 02 onde se lê: ... com efeito inibidor
leia-se: ... com efeito inativador.
- Pág. 026 - § 4 - linha 02 leia-se: ... sexo feminino _____ não
grávidas ...
- Pág. 026 - § 5 - linha 02 leia-se _____ por punção de uma das
veias do antebraço, ...
- Pág. 026 - § 5 - linha 03 onde se lê: ... com seringa e agulha
30 x 8 ...
leia-se: ... com seringa de 10 ml e
agulha 30 x 8 ...
- Pág. 027 - § 6 - linha 01 onde se lê: ... colocamos aproxima-
damente ...
leia-se: ... colocamos ...
- Pág. 028 - § 6 - linha 02 onde se lê: ... (Amidoschwartz) ...
leia-se: ... (Amidoschwarz 10.B)...
- Pág. 041 - § 1 - linha 05 onde se lê:... existência de inibi-
dores da ...
leia-se: ... existência de inativa-
dores da ...
- Pág. 053 - Tabela 8 PORCENTAGEM DE INATIVAÇÃO DA OCITO-
CINA SINTÉTICA
- Pág. 056 - § 2 - linha 04 após: ... FLATTERS (1954) ...
acrescentar ... GINSBURG e SMITH -
(1959) ...
- Pág. 063 - § 1 - linha 13 após: ... MÉNDEZ-BAUER et alii, -
1961; ...
acrescentar ... PERITI et alii, -
1961 a, b; ...

E R R A T A

2.

- Pág. 90 - Nº 184 leia-se: KNAGGS, G. S. - Personal communication (1964) - apud Denamur, R. in "The hypothalamo-neurohypophysial system and the milk-ejection reflex". Part I. Dairy Sci. Abstr. 27: 193-263, 1965.
- Pág. 97 - Nº 248 leia-se: PHARMACOLOGICAL EXPERIMENTS ON ISOLATED PREPARATIONS. Department of Pharmacology. University of Edinburgh. E. & S. Livingstone Ltd. Edinburgh and London pp. 14-25 e 126-129, 1963.
- Pág. 106 - Nº 327 leia-se: WALMSLEY, W. B. - Thesis of University of Bristol, Ph.D. (1963) - apud Denamur, R. in "The hypothalamo-neurohypophysial system and the milk-ejection reflex". Part I. Dairy Sci. Abstr. 27: 193-263, 1965.

te da ocitocinase, achando vários autores que ela é uma globulina alfa 2 (AFONSO e FARHAM, 1962 e AFONSO et al., 1963 e 1964).

Foi observado por imunoeletroforese, após o 3º mes de gestação, um componente alfa 2 (ocitocinase), que aumenta com o decorrer da gestação e corresponde a "pregnancy zone" (RITTNER, 1966).

Mostrou-se que a "pregnancy zone" é uma proteína sérica, encontrada somente na gestação, e tem um peso molecular de 326.000, não sendo de origem placentária (SCHOULTZ et al., 1973).

Uma série de pesquisadores, sintetizaram substratos cromogênicos, a fim de determinarem quimicamente a CAP (ocitocinase), ou a LAP (leucina aminopeptidase), quer no plasma, soro, ou extratos de tecidos.

Assim é que o primeiro substrato a ser sintetizado, foi a glicil alfa e beta naftilamida e alanil alfa e beta naftilamida (GOMORI, 1954 e FOLK e BURSTONE, 1955).

Outro substrato sintetizado foi a l-cistina-di-beta-naftilamida, que é cindida pela ocitocinase (CAP), dando como produto da reação a beta-naftilamina de cor vermelha, cuja intensidade de coloração é proporcional a atividade da enzima (TUPPY et al., 1957 e HARDY e RITCHIE, 1966).

Foi sintetizado ainda a l-cistina-p-nitroanilida, que dá como produto da reação com a ocitocinase a p-nitroanilina (TUPPY, WIESBAUER e WINTERSBERGER, 1962).

Observou-se que a l-cistina-di-beta-naftilamida não é adequada para a determinação da ocitocinase, porque é atacada também por outras aminopeptidases do soro. Observou-se também que a l-cistina-p-nitroanilida é mais específica, principalmente a S-benzil-cistina-beta -

naftilamida, a qual é clivada mais rapidamente. A beta-naftilamida liberada, é estimada colorimetricamente (TUPPY et al., 1963; WINTERSBERGER, MÜLLER-HARTBURG e TUPPY, 1966 e — OUDHEUSDEN, 1972).

A ocitocinase sérica foi determinada no 3º trimestre de gestação com o auxílio da l-cistina-p-nitroanilida, comparando a coloração com padrões de p-nitroanilina sintética (TOVEY, 1969 e CHRISTENSEN et al., 1975).

Determinou-se a CAP (ocitocinase) sérica de gestantes, por fluorimetria, usando como substrato a l-cistina-p-nitroanilida, podendo-se executar 25 a 40 determinações por hora (SMALL e WATKINS, 1971a; PEETERS, 1972; CHAPMAN et alii, 1972 e WATKINS et al., 1972a).

Foi observado ainda, que a S-benzil-l-cisteína-4-nitroanilida é clivada pela CAP sérica de gestantes, dando a 4-nitroanilina, cujo grau de coloração indica a quantidade de enzima, podendo-se analisar 50 amostras por hora (TOVEY, DAWSON e FELLOWES, 1973).

A ocitocinase (CAP) que cinde a l-cistina-di-beta-naftilamida, é diferente da LAP, que cinde a l-leucina-di-beta-naftilamida (MÜLLER-HARTBURG et alii, 1959; MÜLLER-HARTBURG, 1959; BERÁNKOVÁ, RYCHLÍK e ŠORM, 1960 e 1961; BERÁNKOVÁ e ŠORM, 1961; ČIHAŘ et alii, 1961 e KLEINER e BROUET-YAGER, 1972).

Observou-se que a atividade l-leucil-beta-naftilamida-hidrolase e de seus isoenzimas (LNAase 1, 2 e 3) no início da gestação, é semelhante a de não gestantes, elevando-se no 2º trimestre e atingindo o máximo a termo, predominando em não gestantes a 1, sendo que a 2 e 3 correspondem a CAP₁ e CAP₂ (KLEINER e GRAFF, 1967).

A ação da ocitocinase pode ser impedida pela cistina ou S-benzilcisteína (BERÁNKOVÁ et alii, 1959, 1960 e 1961; BERÁNKOVÁ et al., 1961 e ČIHAŘ et alii, 1961).

Observou-se ainda, que a ocitocina é inativa da também ao nível tecidual como rins e fígado, tanto em seres humanos, como animais (PAGE, 1946; WERLE et al., 1956; LÉBLOVÁ, RYCHLÍK e SÖRM, 1958; MANUNTA, 1960; BERÁNKOVÁ et alii, 1960 e 1961; AUDRAIN et al., 1960; BERÁNKOVÁ et al., 1961; ČIHAŘ et alii, 1961; MANUNTA et al., 1961; SEMM et al., 1962; BRANDA et alii, 1968; FERRIER et alii, 1968 e CHRISTENSEN, 1974a).

Frente aos resultados principalmente de SEMM (1959a, b), ČIHAŘ et alii (1961), RIAD et al. (1962), AFONSO et al., (1963) e AZYAVCHIK (1967), tentaremos verificar se realmente o plasma de gestantes a termo, e suas frações proteicas clássicas (albumina, globulinas alfa 1, alfa 2, beta, gama e fibrinogênio), apresentam alguma atividade, usando como substrato a ocitocina sintética "in vitro", e ainda a porcentagem de inativação de cada uma das frações, ampliando dessa forma os achados por eles descritos.

Além do mais, utilizaremos as proteínas submetidas globalmente a um "pool", isto é, a mistura apenas das frações retiradas das tiras eletroforizadas e de todos os seus componentes, portanto, a tira inteira, como será descrito mais detalhadamente quando nos referirmos aos métodos.

Com relação à nossa proposição, cabe-nos ressaltar que, como existem algumas proteínas com efeito inibidor da ocitocina, como descrito por vários autores em nossa introdução, seria interessante verificar se outras proteínas não teriam ação idêntica.

A apreciação e a discussão de nossos resultados serão realizadas pela análise estatística.

MATERIAL E MÉTODOS

O material utilizado para a presente investigação, foi coletado no Posto de Puericultura do Cambuí (Unidade de Saúde Materno Infantil).

O número de pacientes estudado foi de 20, tomando-se o cuidado, de ao colher uma amostra de cada paciente, examinar detalhadamente a sua ficha clínica e verificar se apresentava algum processo patológico. Destas, 14 encontravam-se no final da gestação, sendo as outras incluídas no grupo controle. Desta forma, as pacientes selecionadas apresentavam uma gestação normal, sendo que aquelas, cujo exame mostrava algum comprometimento patológico, eram excluídas.

A seleção das pacientes não implicou em se levar em consideração a nacionalidade, raça ou cor, primíparas ou multíparas e, suas idades estavam compreendidas entre 19 e 35 anos. Todas elas apresentavam aspecto sadio e foram encaminhadas ao Centro de Puericultura, a fim de serem submetidas a exames pré-natais periódicos, por estarem próximo ao término do período gestacional.

Quanto ao grupo controle, 3 pacientes eram do sexo feminino, das 6 inicialmente escolhidas, não grávidas e sem qualquer processo patológico evidente e 3 do sexo masculino, apresentando o mesmo nível sócio-econômico das pacientes em gestação.

COLHEITA DAS AMOSTRAS

O material foi coletado em todos os casos (sangue venoso) por punção de uma das veias do antebraço, com seringa e agulha 30 x 8 previamente esterilizadas e he-

parinizadas (Liquemine Roche), colhendo-se aproximadamente 10ml de sangue.

Tomou-se todo o cuidado possível, para evitar a hemólise do sangue, e consequentemente a evasão da ocitocinase do interior dos eritrócitos, conforme descrito por vários autores em nossa introdução.

O mesmo cuidado foi tomado com o material em análise, nas manipulações subsequentes.

Após a colheita do material, este foi colocado em frascos heparinizados e acondicionados em recipiente refrigerado (0 a 4°C), prevenindo-se desta maneira a desnaturação das proteínas e destruição da enzima.

Métodos

Em seguida, procedemos a determinação da relação glóbulo/plasmática (hematócrito), separando-se 0,045 ml de sangue, através do micro hematócrito, com auxílio de uma micro centrífuga Adams Readacrit CT-3.400, a 8.500 r.p.m., durante 5 minutos. O restante da amostra foi submetida à centrifugação, em uma centrífuga clínica, modelo CL, da International Equipment Co. (Needham, HTS Mass.) a uma velocidade de 3.000 r.p.m., durante 10 minutos, a fim de separarmos o plasma dos elementos figurados.

O plasma total (PT) assim obtido sem vestígios de hemólise, pois aquele que o mostrava era desprezado, foi levado a avaliação da proteinemia pelo método do biureto (Manual de Métodos Clínicos "Spectronic 20", da Bausch & Lomb, 1965).

a) Em um tubo teste, colocamos aproximadamente 0,0136ml desse plasma total, não submetido a eletroforese, ao qual adicionamos ocitocina sintética (Syntocinon - Sandoz), com a finalidade, de se observar se ocorria ou

não a inativação da ocitocina sintética.

b) Num outro tubo, agimos como no item anterior, o qual foi usado como branco.

No branco, por nós denominado, ao invés de ocitocina sintética, colocamos tampão fosfato, pH = 7,4, como recomendado pelo método a ser descrito mais adiante.

A separação das frações proteicas foi efetuada por eletroforese normal em Cellogel (Eletroforese sobre Cellogel-Chemetron, Milano - Italy), com tiras de 2,5 x 17cm em um aparelho Thomas modelo 20, acoplado a uma fonte Thomas modelo 21, por um espaço de tempo de 70 minutos, utilizando-se 17 tiras para o plasma de cada paciente.

O aplicador para a aplicação do plasma, foi por nós desenvolvido, medindo com exatidão necessária, um volume de 0.0034ml, o qual foi aplicado à cada tira, suspensas por uma ponte de plexiglass, também por nós desenvolvida, medindo 11 cm de comprimento.

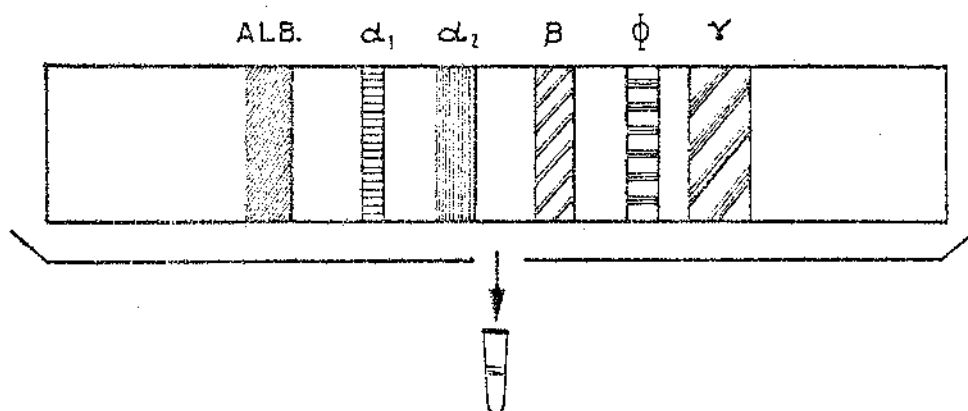
O tampão utilizado foi o Veronal Sódico (dietil-barbiturato de sódio - Carlo Erba) em solução 0,04 M, pH = 8,6 com uma força iônica de 0,04 a 0,05 e uma amperagem de 2,5 mA/tira, conforme recomendado pela Chemetron.

Das tiras submetidas a eletroforese, uma delas foi corada em negro de amido (Amidoschwartz), e as restantes, não fixadas, foram comparadas à corada para identificação de cada fração, através de aposição.

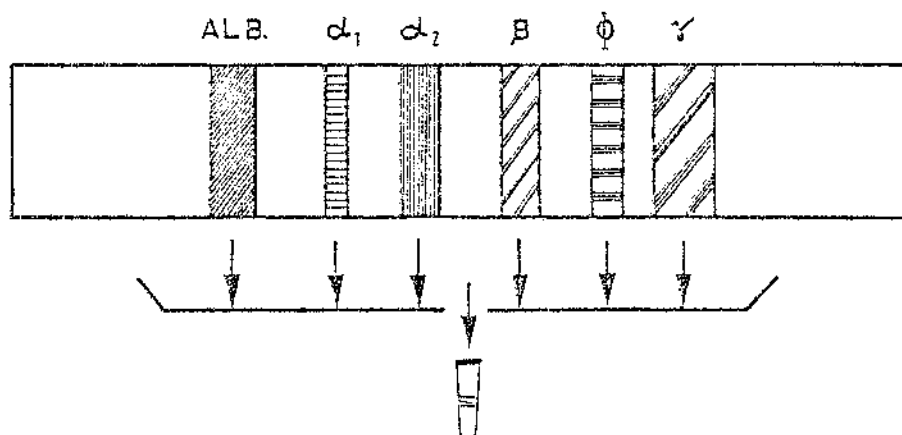
Com a finalidade de se estudar a ação ocitocinásica das várias frações proteicas, usando como substrato ocitocina sintética, as 16 tiras não fixadas, foram distribuídas da seguinte maneira:

c) Quatro tiras (0,0136ml) não seccionadas, portanto a tira inteira, foram utilizadas para formar um

"pool" global de todas as proteínas além dos espaços entre elas, e incubadas com ocitocina sintética, em um só tubo teste, para se observar se ocorria ou não a inativação da ocitocina - "PT-A" (esquema abaixo).

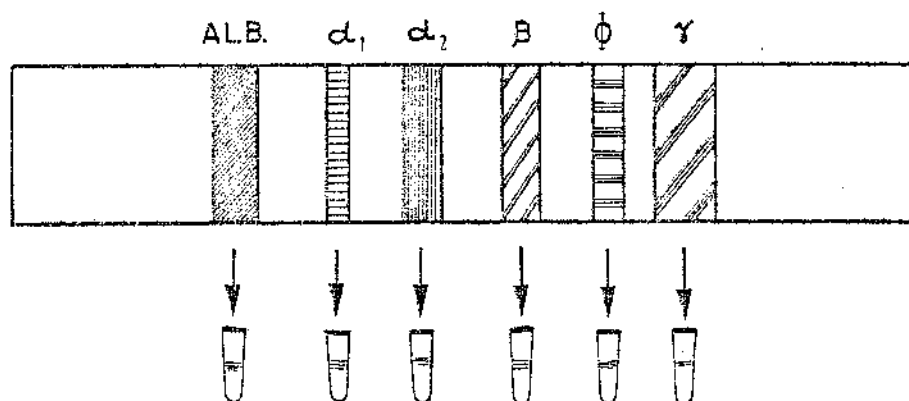


d) 4 tiras (0,0136ml de plasma total) foram utilizadas para a separação das proteínas (albumina, globulinas alfa₁, alfa₂, beta, fibrinogênio e globulina gama) as quais foram cortadas uma a uma e juntadas em um só tubo teste e incubadas com ocitocina sintética, com a finalidade de se observar se ocorria ou não a inativação da ocitocina "PT-B" (esquema abaixo).



e) 4 tiras (0,0136ml de plasma total) foram utilizadas para a separação das proteínas (albumina, globulinas alfa₁, alfa₂, beta, fibrinogênio e globulina gama)

as quais foram cortadas, uma a uma e cada qual foi incubada com ocitocina sintética, com a finalidade de se observar se ocorria ou não a inativação da ocitocina (esquema a abaixo):



f) 4 tiras (0,0136ml de plasma total) foram preparadas da mesma maneira como os itens c, d e e, porém usadas como branco.

As tiras assim preparadas para a experimentação, foram transferidas para os tubos testes.

Para o grupo controle, limitamo-nos a efetuar apenas os itens a, b, e e f, uma vez que em nosso estudo preliminar, o plasma total e suas frações proteicas - em separado, nenhuma atividade mostrou sobre a ocitocina.

O fato que nos levou a lançar mão de 4 tiras, foi a verificação, durante o estudo piloto que 0,0136 ml de plasma total, promovia a inativação de praticamente 50% da ocitocina sintética adicionada.

Desta forma, obtivemos as amostras de plasma total aplicado na eletroforese, uma quantidade de 0,0136 ml (4 tiras de 0,0034ml por tira).

A tira corada foi utilizada para se medir o

densidade óptica de cada fração, em um densitômetro Elphor II (Bender & Hobein, 1952), sendo que os valores foram transferidos para um papel milimetrado, traçando-se o perfil eletroforético (eletroforograma), para posterior mensuração da área correspondente a cada fração com auxílio de um planímetro T.M.S., segundo GRASSMAN e HANNIG (1952), e cálculo de cada fração em gramas por 100ml e por 0,0136ml.

O método utilizado para a inativação da ocitocina sintética foi o de MATHUR e WALKER (1968), uma vez que por meio deste, abolimos a interferência de substâncias plasmáticas com propriedades ocitócicas, como serotonina (5-HT), encontrada por REID e RAND (1951), GADDUM (1953b), ABRAHAM e PICKFORD (1956), KURIAKI e INOWÉ (1956), HAWKER e ROBERTSON (1957), HAWKER (1958), GARRET (1958), HAWKER e ROBERTSON (1958a,b), CROXATTO, PEREDA e ZAMORANO (1961), HAWKER et alii (1961), HAWKER (1961), DRIESSCHE (1961), BROVETTO et alii (1967) e CONTRACTOR, JONES e ROUTLEDGE (1968), acetilcolina (HAWKER et al., 1957; CROXATTO, et alii, 1961; HAWKER et alii, 1961 e BROVETTO et alii, 1967), histamina, catecolamina e lisina-vasopressina (BROVETTO et alii, 1967), potássio (BISSET e WALKER, 1954; HAWKER et al., 1957; HAWKER, 1958; CROXATTO et alii, 1961; HAWKER et alii, 1961 e HAWKER, 1961) e finalmente cininas (HAWKER et al., 1957, 1958a, b; CROXATTO, et alii, 1961; HAWKER et alii, 1961; HAWKER, 1961 e DRIESSCHE, 1961).

A cada um dos tubos teste, adicionamos tampão fosfato até um volume de 4,75ml, os quais foram levados ao banho maria por 5 minutos a 37°C. A seguir, colocamos 0,25ml de ocitocina sintética, a uma concentração de 200.000 µU (0,0004mg) e incubamos a 37°C durante 5 minutos. Do volume de 5ml, colhemos 1ml num tubo, ao qual adicionamos 10ml de ácido acético glacial a 0,25%. Os 4ml restantes foram desprezados. A seguir, os 11ml foram levados a ferver em banho maria, a fim de sustar a possível inativação da ocitocina sintética.

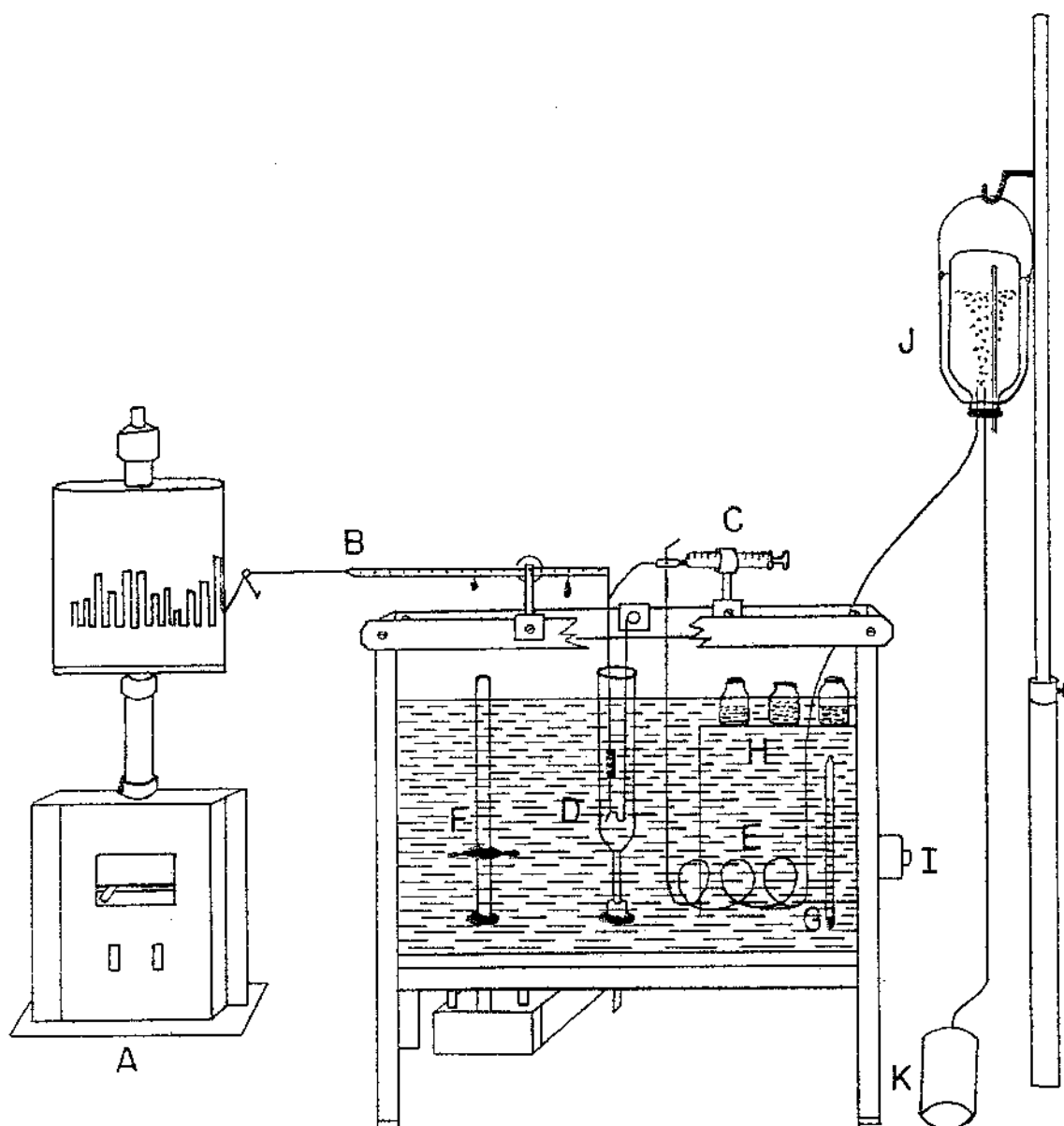
Este volume foi então levado a 25ml, utili-

zando-se tampão fosfato ao invés de água como preconizado pelo método, a fim de que o pH se mantivesse neutro e não ácido. Desta forma, no final da diluição, tínhamos uma possível concentração de 1600 μ U/ml de ocitocina sintética, na ausência de qualquer atividade enzimática.

As soluções testes, assim preparadas para o ensaio, foram armazenadas à 12°C até o momento do teste, quando então foram testadas sobre útero isolado de rata pela técnica da superfusão (GADDUM, 1953a) como mostra a figura 1. Os registros das contrações uterinas, foram feitas em quimógrafo Palmer, a uma velocidade de 2,5 mm/seg., interrompendo a sua movimentação durante a contração e descontração do útero.

Seguiu-se em linhas gerais o ensaio dos 3 pontos ou "2 x 1" sendo as respostas, obtidas com duas doses padrão de 800 e 1600 μ U/ml de ocitocina sintética e uma dose teste (Pharmacological Experiments on Isolated Preparation, 1963), injetando-se 0,1 ml de cada solução.

As ratas utilizadas para o teste, pesando de 180 a 200 gramas, eram virgens e encontravam-se em proestro (BONNEY e FERGUSON, 1950 e FLATTERS, 1954). O segmento uterino pesando 0,1 grama era imediatamente suspenso na câmara de superfusão, a uma temperatura de $30 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ (GADDUM, 1953a). Após a injeção de cada solução, deixávamos a droga atuar por um período de 45 segundos, após o que promovíamos a lavagem da peça com solução de Locke modificada (HOLTON, 1948), por um espaço de tempo de 3 minutos. O tempo ideal para a ação da droga de 45 segundos, da mesma maneira que REES (1971), foi por nós determinado através de uma curva padrão (Gráficos 1 e 2) injetando-se soluções padrão de ocitocina sintética (200 = P_1 , 400 = P_2 , 800 = P_3 , 1600 = P_4 , e 3200 = P_5 μ U/ml) em vários períodos de tempo (15, 30, 45 e 60 segundos), interrompendo-se a contração do útero por meio de um propulsor fotográfico, o qual travava a alavanca isotônica frontal, classicamente utilizada quando se trabalha com preparações dessa natureza, uma vez de -



A - QUIMÓGRAFO

B - ALAVANCA ISOTÔNICA

C - SERINGA C/ AGULHA

D - ÚTERO ISOLADO

E - SERPENTINA

F - AGITADOR

G - TERMÓMETRO

H - SOLUÇÕES TESTE e PADRÃO

I - TERMOSTATO

J - SOLUÇÃO PERFUSORA

K - BOMBA de AERAÇÃO

FIGURA 1

corrido o tempo desejado (REES, 1971).

CURVA PADRÃO

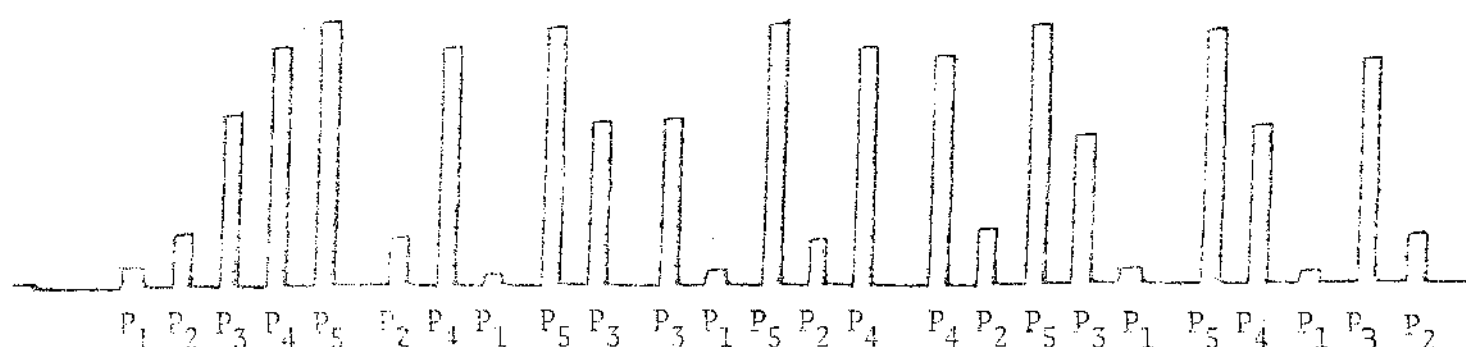


GRÁFICO 1

Como dado complementar foi feita a contagem do número de hemácias, dosagem de hemoglobina e valor globular de todas as pacientes pelo Laboratório de Análises Clínicas "Adolfo Lutz" de Campinas.

A seguir, os dados foram transferidos para cartões IBM e processados em um computador (IBM 1130, 32K, 5 unidades de disco, IBM Corporation, Divisão de Processamento de Dados), do Centro de Computação da UNICAMP.

Finalmente, a apreciação e a discussão dos resultados obtidos, foram realizadas estatisticamente, utilizando o teste t de Student, e cálculos de regressão e correlação.

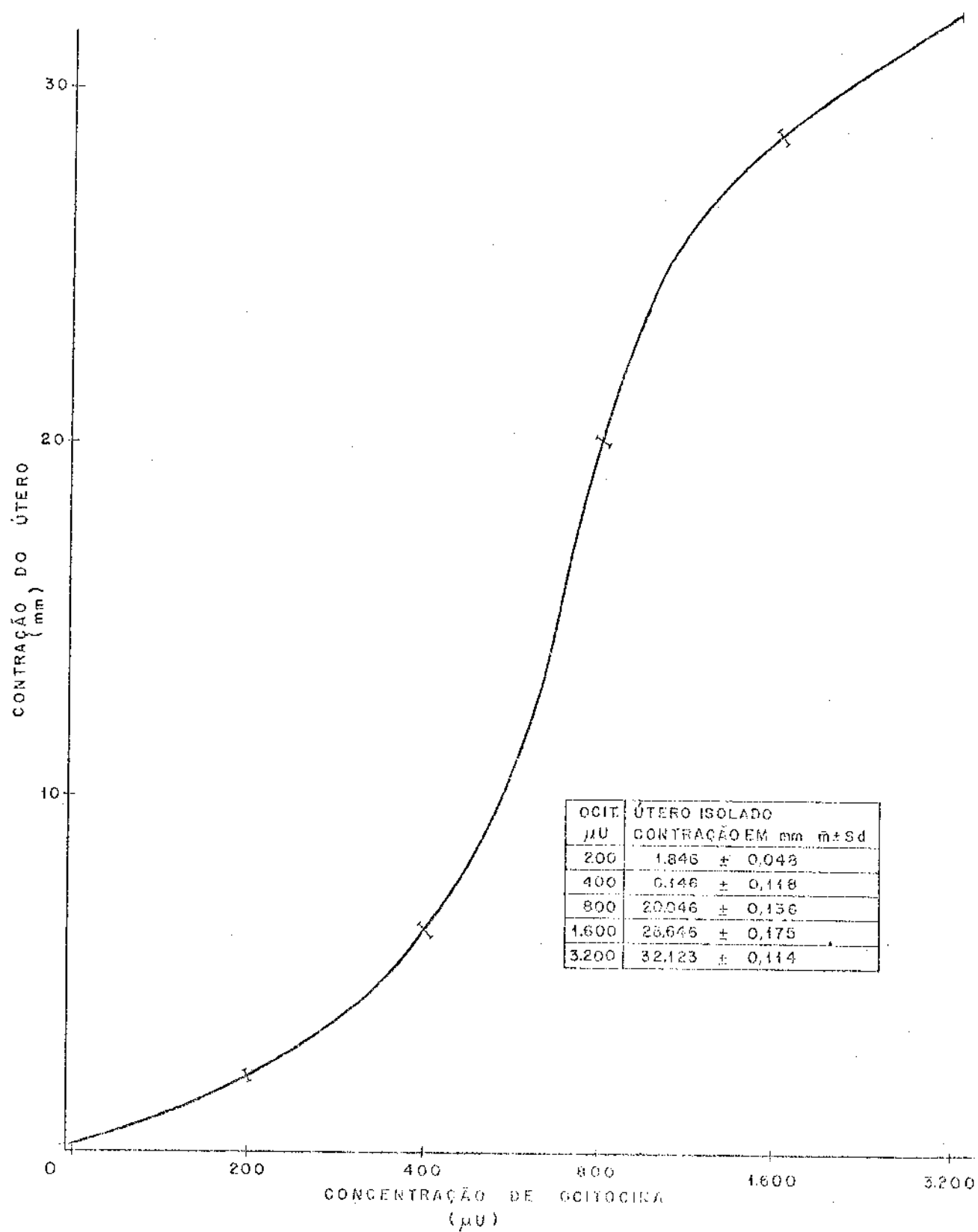


GRÁFICO 2

RESULTADOS

Como nós nos referimos em materiais e métodos utilizamos na presente investigação, os grupos controles (3 do sexo masculino e 3 do sexo feminino) e pacientes (gestantes normais próximo a termo), foram submetidos ao exame hematológico, a fim de obtermos informações quanto ao estado clínico dos grupos estudados, inclusive verificando a ficha clínica dos mesmos, para que não utilizássemos portadores de qualquer processo patológico detectável.

Desta forma, a média e desvio padrão do exame hematológico dos grupos controles e pacientes, que pode ser observado na Tabela 1, nos dá uma idéia de suas condições fisiológicas, podendo-se observar que o número de hemácias, hemoglobina em g%, valor globular e hematócrito, se apresentam normais, em comparação com os valores obtidos por DIECKMANN e WEGNER (1934).

A seguir, mostramos as Fotos 1 e 2, e na Tabela 2, pode-se observar a média e desvio padrão da concentração de proteínas totais e das frações, separadas por eletroforese normal em cellogel dos grupos controles, masculino e feminino, bem como o valor da relação albumina/globulinas. Os valores desta tabela, são apresentados em g% e em g/0,0136ml, sendo este último, o volume que foi incubado com ocitocina sintética, para posterior teste sobre útero isolado de rata, conforme o método de GADDUM (1953a).

Na Foto 3, mostramos o eletroforograma das frações proteicas de uma das pacientes, e na Tabela 3, o valor médio e desvio padrão da concentração de proteínas totais e frações do plasma das mesmas, tanto em g%, quanto em g/0,0136ml, e o valor das globulinas e da relação albumina/globulinas, sendo este último volume, o que foi incubado com a ocitocina sintética, para posterior teste sobre o útero isolado de rata, pelo método de GADDUM (1953a).

TABELA 1

QUADRO HEMATOLOGICO - CONTROLE E PACIENTES ($\bar{M} \pm Sd$)

	MASCULINO	FEMININO	PACIENTES
HEMÁCIAS	5.133. \pm 2.108,198	4.466. \pm 2.788,878	3.793. \pm 2.235,190
Hb g%	16,330 \pm 0,051	14,800 \pm 0,173	11,560 \pm 0,268
Vg	0,916 \pm 0,016	0,956 \pm 0,026	0,947 \pm 0,009
Ht %	49,666 \pm 0,881	43,000 \pm 1,154	34,140 \pm 0,888

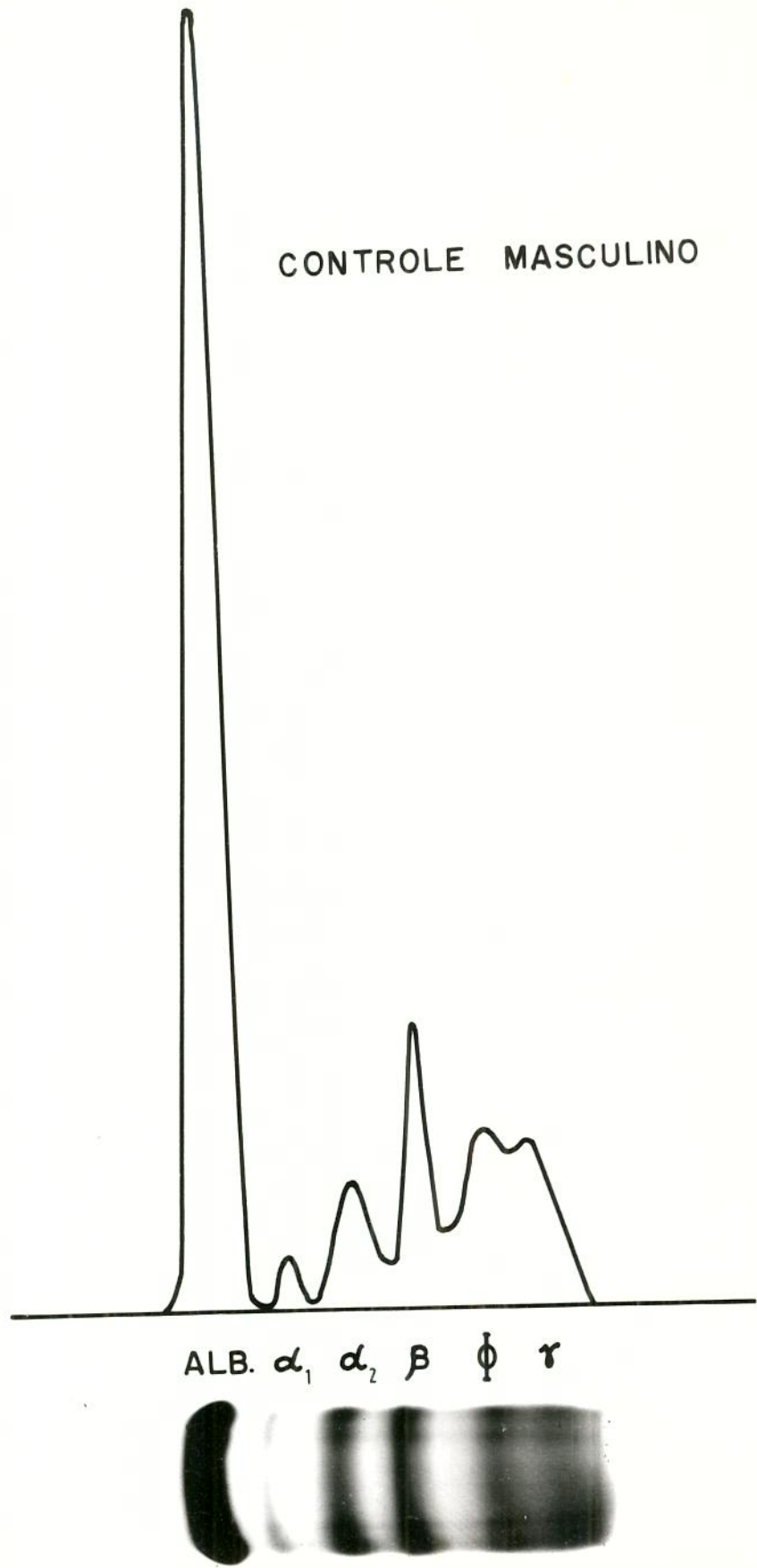


FOTO 1

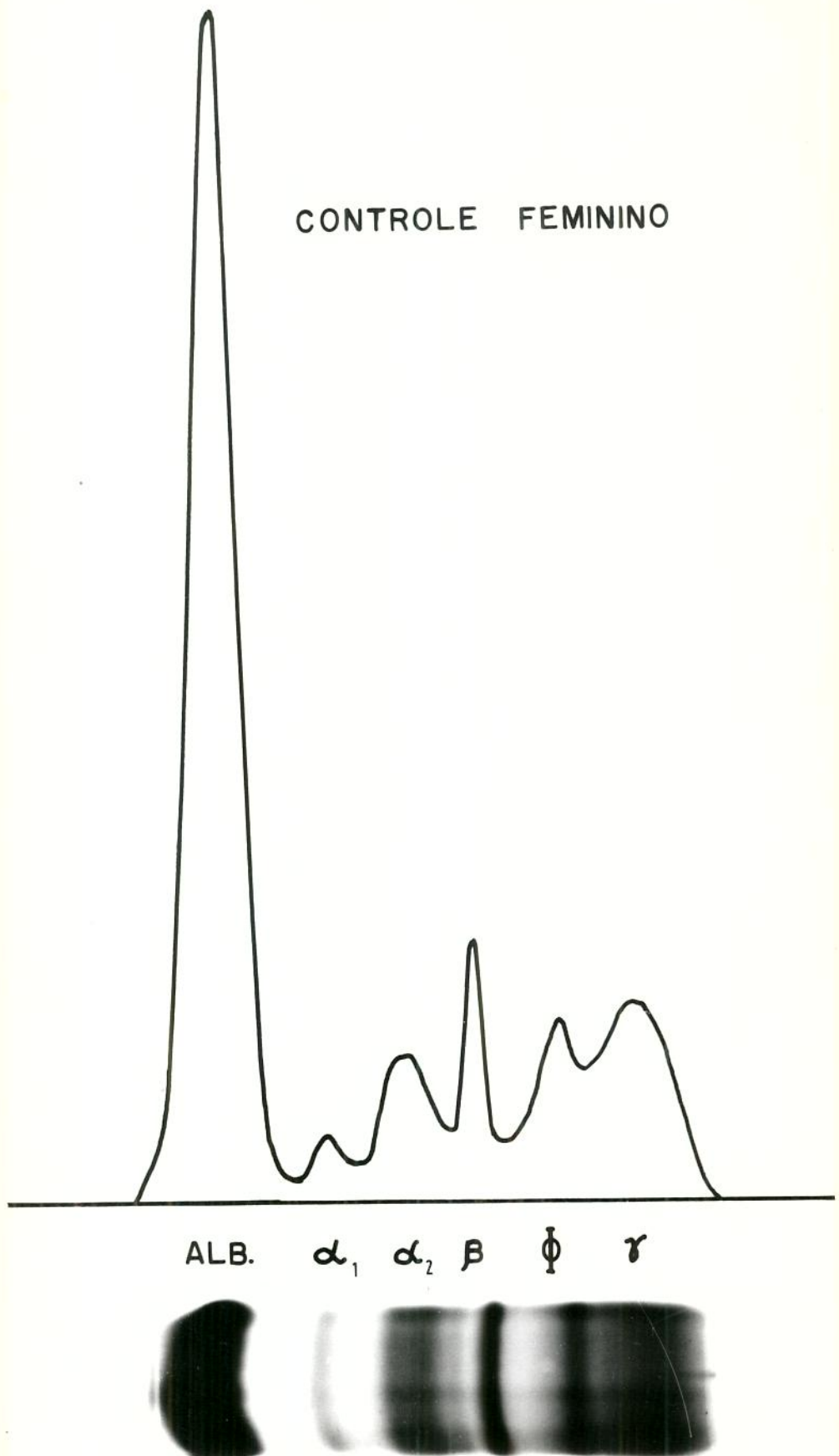


FOTO 2

TABELA 2

CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNAS - CONTROLE ($\bar{M} \pm Sd$)

	MASCULINO		FEMININO	
	$g \pm Sd/100 \text{ ml}$	$g \pm Sd/0,0136 \text{ ml}$	$g \pm Sd/100 \text{ ml}$	$g \pm Sd/0,0136 \text{ ml}$
PT	$7,648 \pm 0,210$	$1,040.10^{-3} \pm 2,863.10^{-5}$	$7,237 \pm 0,129$	$9,842.10^{-4} \pm 1,758.10^{-5}$
ALB.	$4,759 \pm 0,148$	$6,472.10^{-4} \pm 2,018.10^{-5}$	$4,525 \pm 0,329$	$6,154.10^{-4} \pm 4,483.10^{-5}$
α_1	$0,140 \pm 0,034$	$1,904.10^{-5} \pm 4,650.10^{-6}$	$0,123 \pm 0,034$	$1,672.10^{-5} \pm 4,630.10^{-6}$
α_2	$0,602 \pm 0,065$	$8,187.10^{-6} \pm 8,941.10^{-6}$	$0,504 \pm 0,136$	$6,854.10^{-5} \pm 1,852.10^{-5}$
β	$0,755 \pm 0,017$	$1,026.10^{-4} \pm 2,342.10^{-6}$	$0,524 \pm 0,055$	$7,126.10^{-5} \pm 7,522.10^{-6}$
ϕ	$0,796 \pm 0,132$	$1,082.10^{-4} \pm 1,808.10^{-5}$	$0,561 \pm 0,078$	$7,629.10^{-5} \pm 1,065.10^{-5}$
γ	$0,596 \pm 0,195$	$8,106.10^{-5} \pm 2,655.10^{-5}$	$1,000 \pm 0,081$	$1,360.10^{-4} \pm 1,104.10^{-5}$
GLOB.	$2,093 \pm 0,428$	$2,846.10^{-4} \pm 5,821.10^{-5}$	$2,151 \pm 0,209$	$2,925.10^{-4} \pm 2,844.10^{-5}$
RELAÇ. A/G	$2,273 \pm 0,198$	—————	$2,103 \pm 0,337$	—————

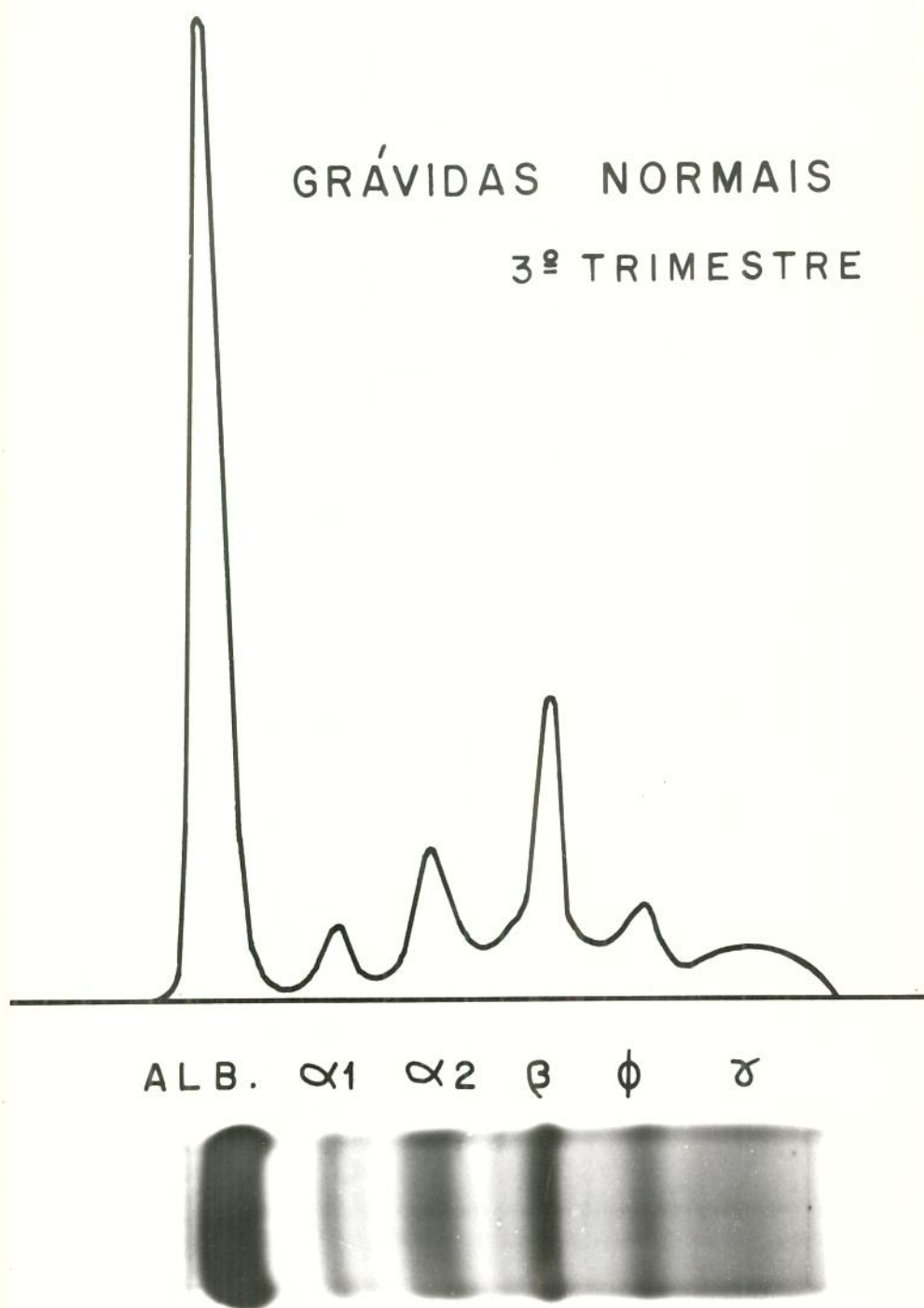


TABELA 3

CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNAS - PACIENTES ($\bar{M} \pm Sd$)

	g \pm Sd/100 ml	g \pm Sd/0,0136 ml
PT	5,801 \pm 0,056	7,889.10 ⁻⁴ \pm 7,703.10 ⁻⁶
Alb.	3,064 \pm 0,102	4,167.10 ⁻⁴ \pm 1,389.10 ⁻⁵
α_1	0,249 \pm 0,017	3,386.10 ⁻⁵ \pm 2,324.10 ⁻⁶
α_2	0,593 \pm 0,031	8,064.10 ⁻⁵ \pm 4,293.10 ⁻⁶
β	0,743 \pm 0,030	1,010.10 ⁻⁴ \pm 4,146.10 ⁻⁶
ϕ	0,530 \pm 0,059	7,208.10 ⁻⁵ \pm 8,032.10 ⁻⁶
γ	0,622 \pm 0,051	8,459.10 ⁻⁵ \pm 6,987.10 ⁻⁶
Globs.	2,207 \pm 0,086	3,001.10 ⁻⁴ \pm 1,827.10 ⁻⁵
Relação A/G	1,388 \pm 0,112	—————

A contração do útero isolado de rata , das amostras dos grupos controles masculino e feminino, pode ser observado nos Gráficos 3 e 4, e o valor médio, na Tabela 4 com seu desvio padrão, e Gráficos 5 e 6 (+ desvio padrão), o que evidencia a não existência de inibidores da ocitocina.

A seguir, o Gráfico 7, mostra as contrações do útero isolado de rata, quando submetido à aplicação das diversas amostras do grupo de pacientes (gestantes normais próximo a termo), sendo que na Tabela 5, pode-se observar os valores médios (+ desvio padrão) dessas contrações. No Gráfico 8 observa-se esses valores transferidos para uma escala milimetrada, mostrando que ocorreu a inativação da ocitocina sintética, quando incubada com o plasma total, e suas frações proteicas, com exceção do fibrinogênio.

O grau de inativação de ocitocina pelo plasma total (PT), pelas tiras totais não seccionadas (PT-A), pela soma das frações das tiras seccionadas (PT-B) e pelas frações individuais, pode ser observado na Tabela 6, onde as doses médias e desvio padrão correspondem aquilo que restou da ocitocina sintética adicionada ao meio de incubação, mostrando os limites de significância (teste t Student) de cada um dos elementos incubados.

Pode-se ainda observar que ocorreu uma diferença significativa para 1600 μ U com relação à PT, PT-A, PT-B, albumina e globulinas alfa₁, alfa₂, beta e gama, o que não foi evidenciado com relação ao fibrinogênio.

Reportando-nos à Tabela 7, podemos observar que o teste t para as diferenças entre as diversas frações mostra que somente entre PT-B e globulina alfa₁, e entre globulina beta e albumina, não houve diferenças estatísticas.

Isso evidencia que a inativação da ocitocina

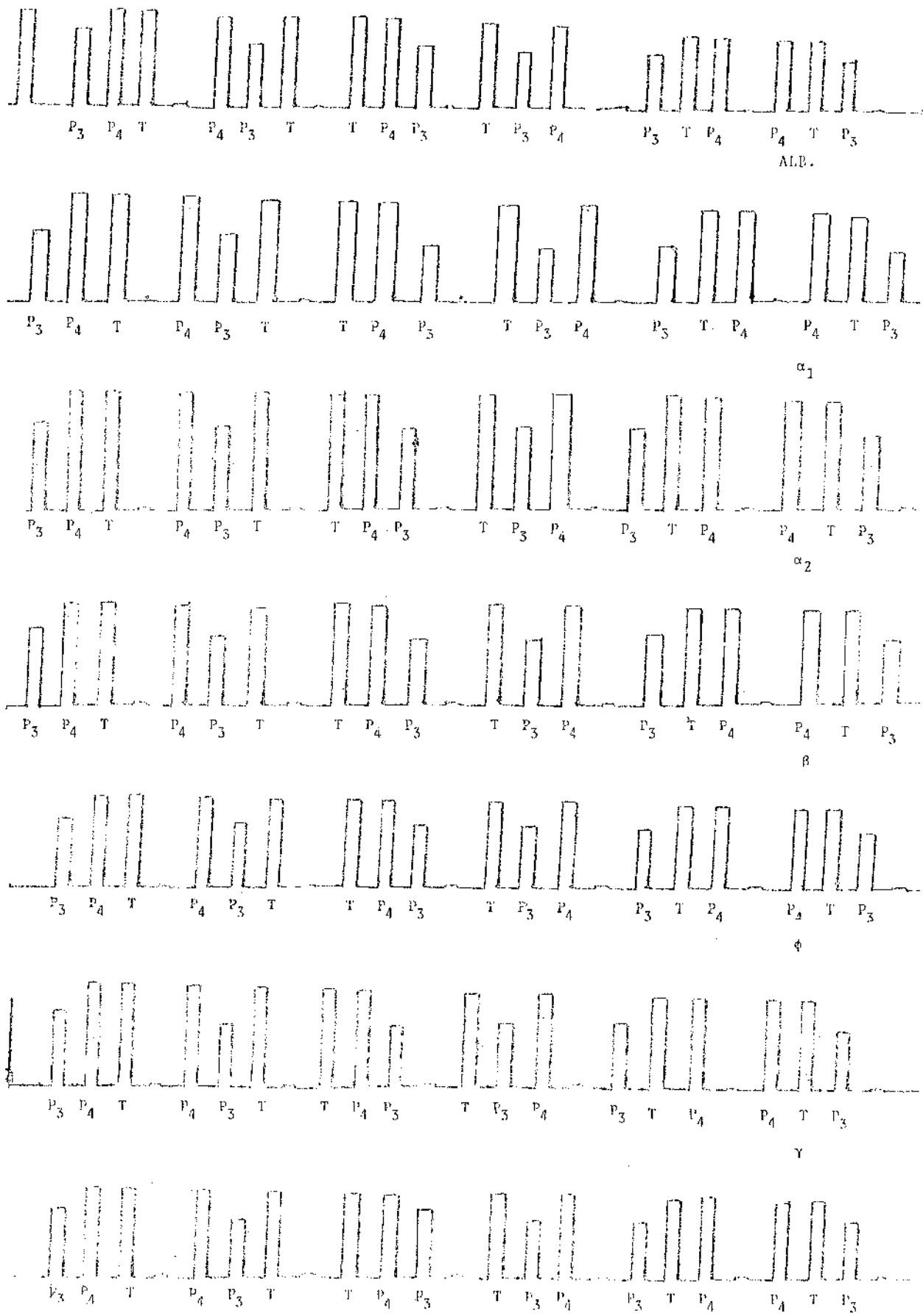
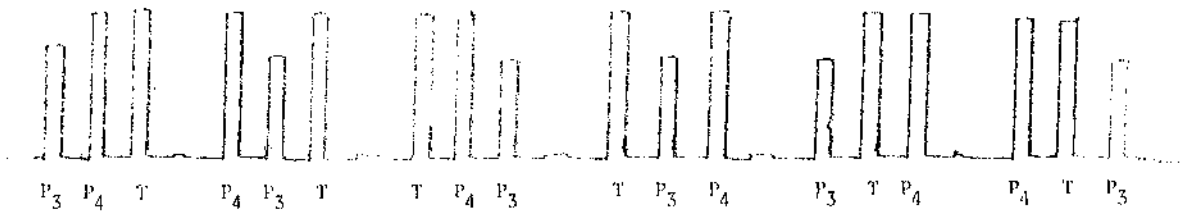


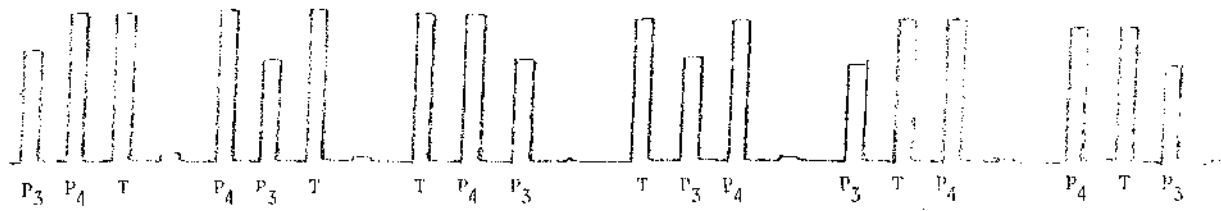
GRÁFICO 3

CONTROLE - SEXO FEMININO

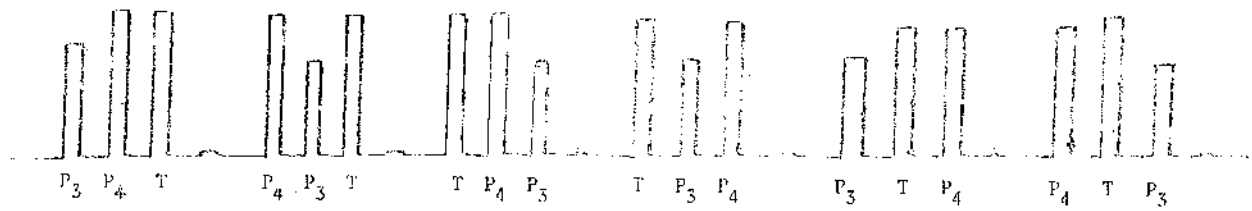
PT



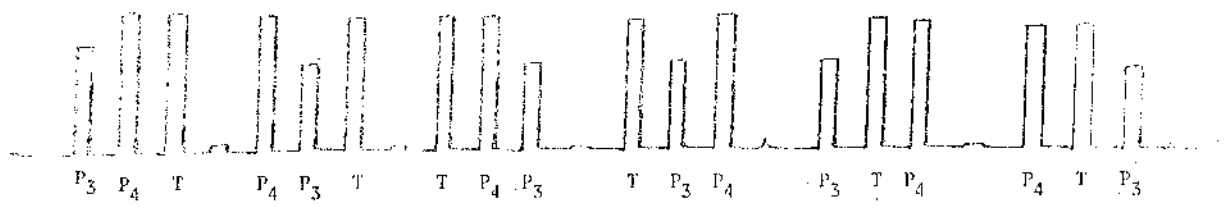
ALB.



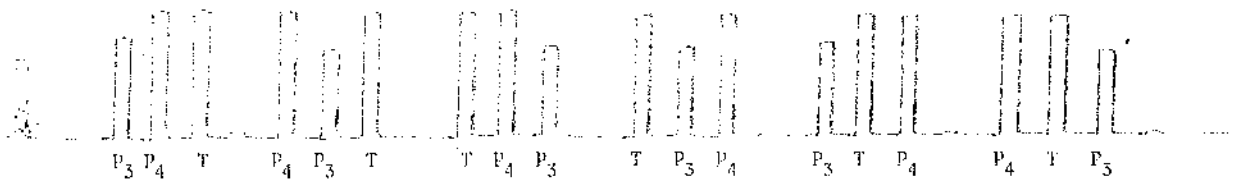
α_1



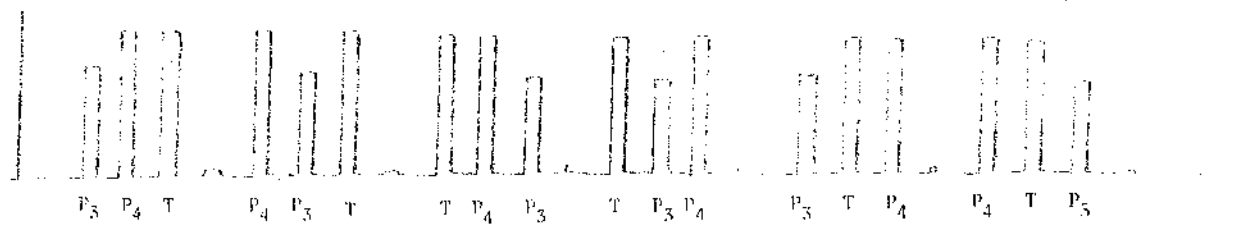
α_2



β



ϕ



γ

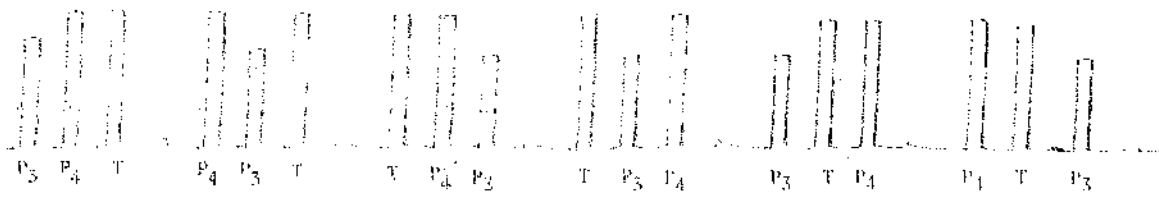


GRÁFICO 4

TABELA 4

CONTRAÇÃO DO ÚTERO ISOLADO EM mm (CONTROLE) - ($\bar{M} \pm Sd$)

μ U	MASCULINO	FEMININO
P ₃	18,194 \pm 0,722	18,305 \pm 0,373
PT	27,555 \pm 1,201	25,638 \pm 0,406
P ₄	27,527 \pm 1,248	25,527 \pm 0,449
P ₃	18,861 \pm 0,744	18,638 \pm 0,435
ALB.	27,055 \pm 0,627	25,305 \pm 0,623
P ₄	27,222 \pm 0,654	25,333 \pm 0,628
P ₃	19,138 \pm 0,629	18,538 \pm 0,620
α_1	27,833 \pm 0,558	24,861 \pm 0,615
P ₄	27,888 \pm 0,538	24,722 \pm 0,593
P ₃	18,916 \pm 0,490	17,861 \pm 0,405
α_2	27,694 \pm 0,719	24,638 \pm 0,365
P ₄	27,805 \pm 0,755	24,666 \pm 0,394
P ₃	17,666 \pm 0,55	18,777 \pm 0,348
β	25,194 \pm 0,491	25,138 \pm 0,279
P ₄	25,194 \pm 0,488	25,083 \pm 0,300
P ₃	16,944 \pm 0,874	19,277 \pm 0,452
ϕ	26,305 \pm 0,972	27,722 \pm 0,351
P ₄	26,166 \pm 0,935	26,694 \pm 0,414
P ₃	19,111 \pm 0,684	19,555 \pm 0,410
γ	29,000 \pm 1,410	26,916 \pm 0,324
P ₄	29,027 \pm 1,435	26,916 \pm 0,267

GRÁFICO 5 - CONTROLE MASCULINO

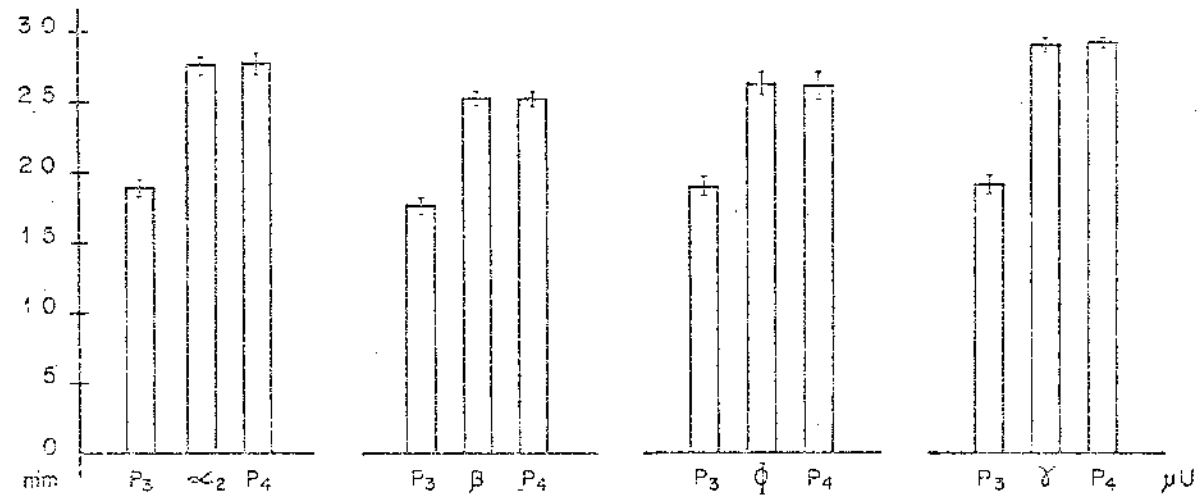
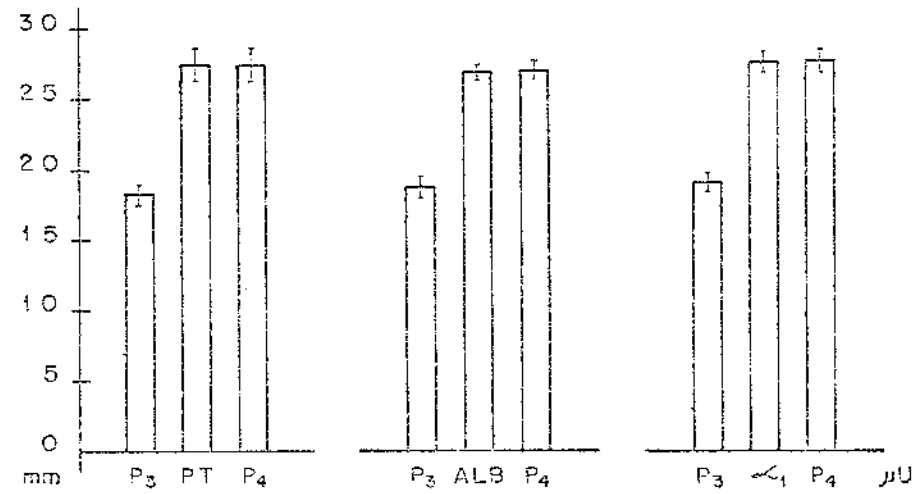
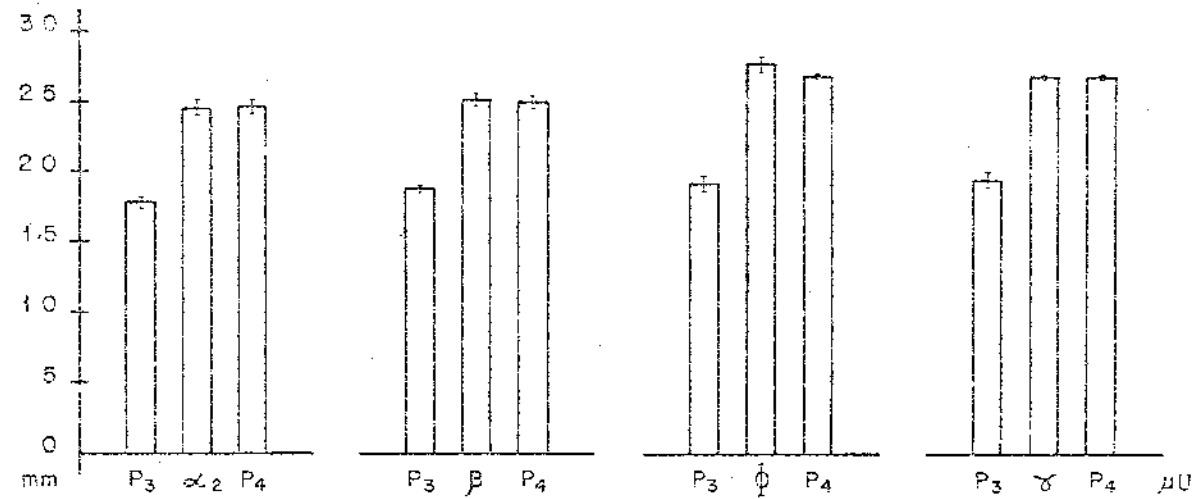
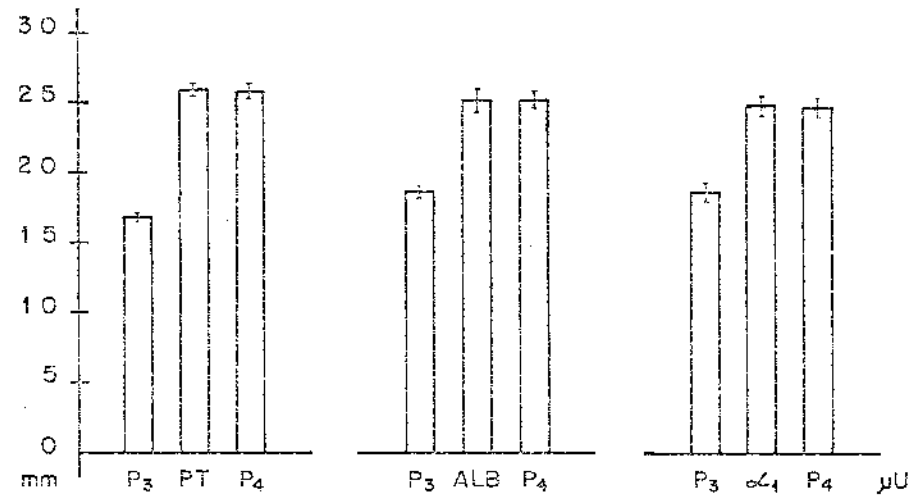


GRÁFICO 6 - CONTROLE FEMININO



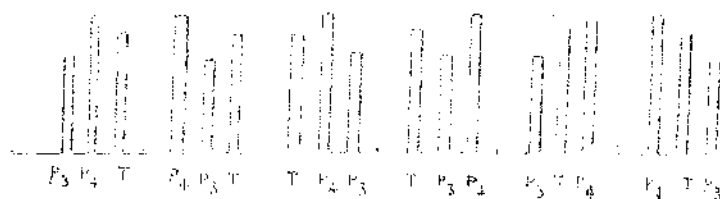
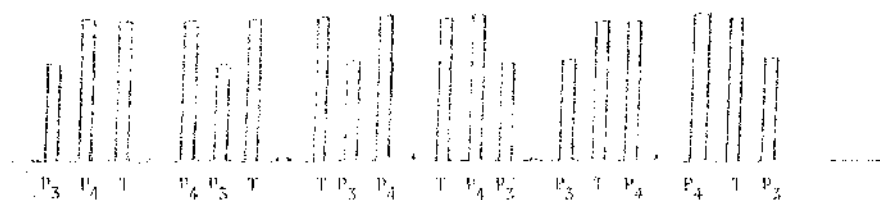
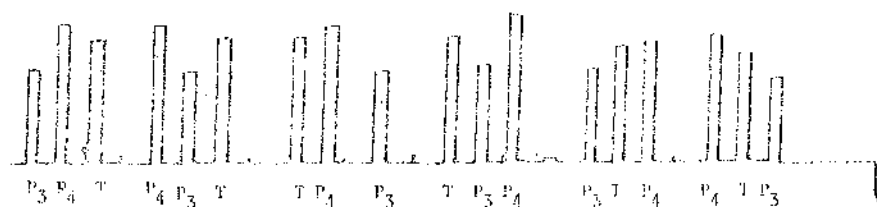
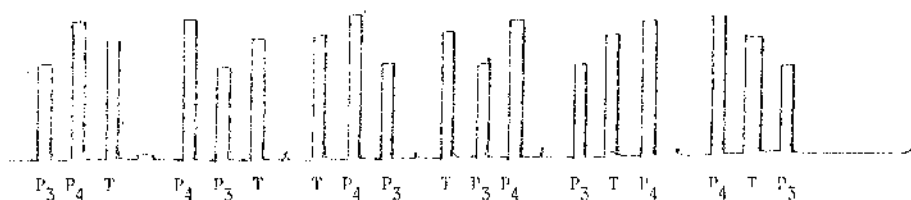
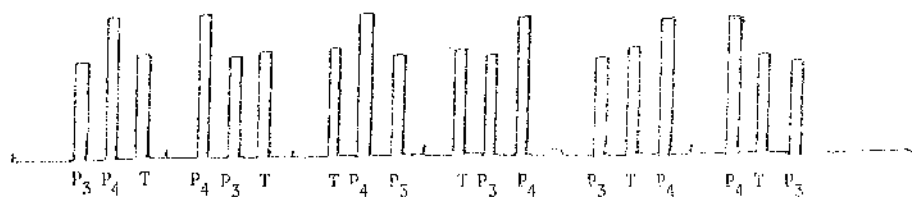
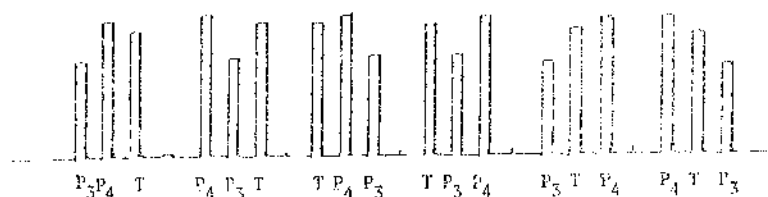
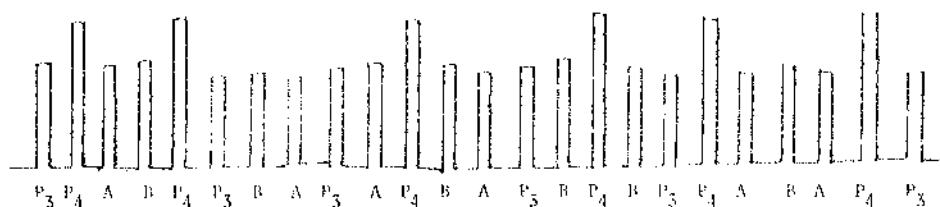
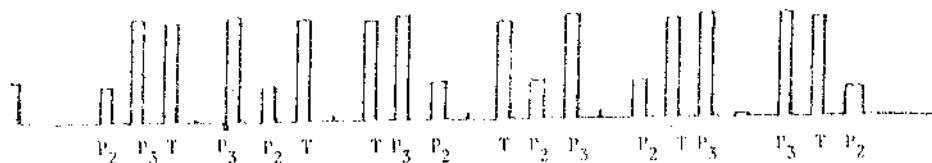


GRÁFICO 7

CONTRAÇÃO DO ÚTERO ISOLADO EM μU (PACIENTES) - ($\bar{M} \pm Sd$)

μU	
P_2	$7,023 \pm 0,171$
PT	$19,964 \pm 0,130$
P_3	$21,107 \pm 0,110$
P_3	$19,958 \pm 0,132$
PT-A	$20,464 \pm 0,142$
P_4	$30,928 \pm 0,114$
P_3	$19,958 \pm 0,132$
PT-B	$21,137 \pm 0,144$
P_4	$30,928 \pm 0,114$
P_3	$19,458 \pm 0,155$
ALB.	$25,922 \pm 0,211$
P_4	$28,172 \pm 0,131$
P_3	$19,530 \pm 0,149$
α_1	$21,863 \pm 0,180$
P_4	$25,506 \pm 0,196$
P_3	$19,416 \pm 0,164$
α_2	$24,440 \pm 0,247$
P_4	$28,767 \pm 0,246$
P_3	$19,553 \pm 0,217$
β	$25,922 \pm 0,201$
P_4	$28,208 \pm 0,158$
P_3	$19,833 \pm 0,243$
ϕ	$28,297 \pm 0,247$
P_4	$28,351 \pm 0,244$
P_3	$19,250 \pm 0,167$
γ	$25,208 \pm 0,178$
P_4	$28,166 \pm 0,216$

GRÁFICO 8 - GESTANTES NORMAIS PRÓXIMO A TERMO

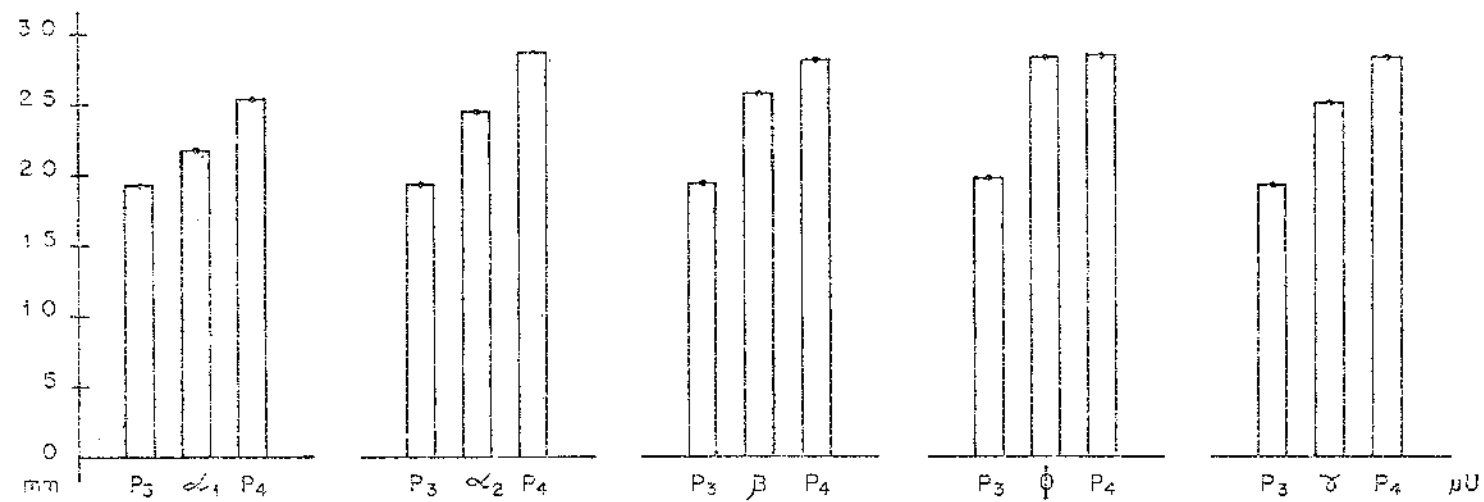
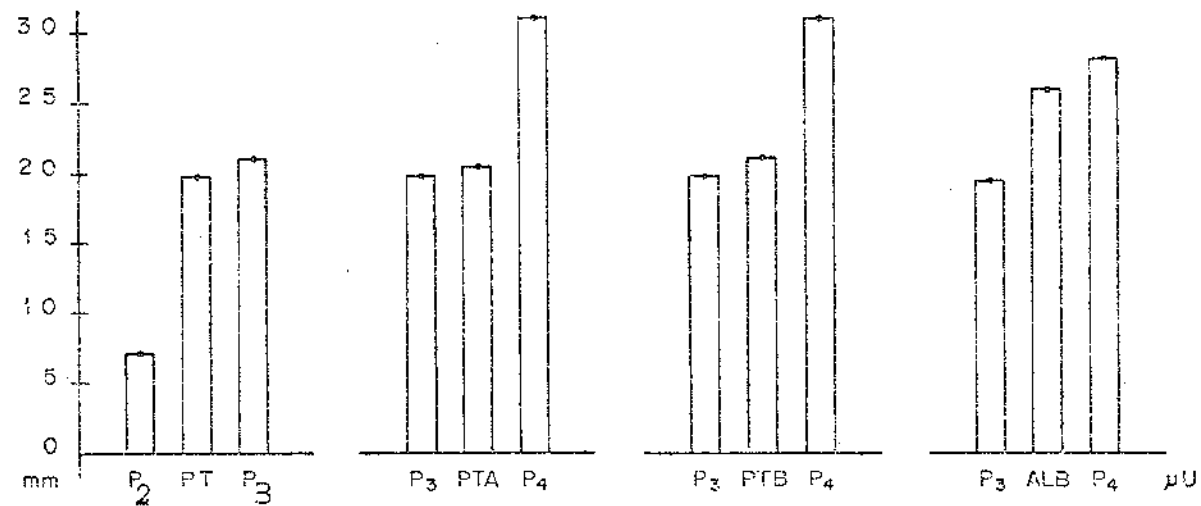


TABELA 6

Inativação da ocitocina pelo plasma total (PT), pela tira total sem seccionar (PT-A), pela soma das frações das tiras seccionadas (PT-B) e por fração individual.

	PT	PT-A	PT-B	ALB.	α_1	α_2	β	ϕ	γ
Dose Média	779	890	1.040	1.422	1.026	1.259	1.414	1.595	1.365
Sd	\pm 1,68	\pm 38,46	\pm 64,57	\pm 11,95	\pm 10,66	\pm 10,60	\pm 9,67	\pm 6,66	\pm 13,02
t P ₂	226,07	12,77	10,12	85,63	58,83	81,15	105,00	179,56	74,19
t P ₃	- 11,63	2,37	3,93	52,18	21,34	43,42	63,65	119,51	43,48
t P ₄	- 487,03	- 18,45	- 8,45	- 14,72	- 53,64	- 32,03	- 19,06	- 0,58	- 17,95

TABELA 7

TESTE t ENTRE

-	PT	PTA	PTB	ALB.	α_1	α_2	β	ϕ	γ
PT	-	- 2,883	- 4,040	- 53,283	- 22,888	- 44,724	- 64,697	- 118,801	- 44,637
PTA	+ 2,883	-	- 1,995	- 13,209	- 3,407	- 9,249	- 13,213	- 18,061	- 11,698
PTB	+ 4,040	+ 1,995	-	- 5,817	+ 0,213*	- 3,346	- 5,728	- 8,549	- 4,934
ALB.	+ 53,283	+ 13,209	+ 5,817	-	+ 24,728	+ 10,204	+ 0,520*	- 12,645	+ 3,225
α_1	+ 22,888	+ 3,407	- 0,213*	- 24,728	-	- 15,499	- 26,958	- 45,268	- 20,145
α_2	+ 44,724	+ 9,249	+ 3,346	- 10,204	- 15,499	-	- 10,802	- 26,840	- 6,313
β	+ 64,697	+ 13,213	+ 5,728	- 0,520*	+ 26,958	+ 10,802	-	- 15,415	+ 3,021
ϕ	+118,801	+ 18,061	+ 8,549	+ 12,645	+ 45,268	+ 26,840	+ 15,415	-	+ 15,727
γ	+ 44,637	+ 11,698	+ 4,934	- 3,225	+ 20,145	+ 6,313	- 3,021	- 15,727	-

* Não significante.

sintética foi maior quando adicionada ao PT em relação a PT-A e esta maior que PT-B. Quanto as frações pode-se observar que a globulina alfa₁, teve maior grau de inativação - que a globulina alfa₂, decrescendo subsequentemente para globulina gama, globulina beta, albumina e fibrinogênio, o qual praticamente não inativou a ocitocina sintética adicionada ao meio de incubação. As diferenças percentuais de inativação da ocitocina sintética, são observadas na Tabela 8.

Para quantificar a significância entre as médias, usou-se o teste t de Student para populações correlatas, com um limite de significação a nível de 5%.

E, finalmente, para se calcular o valor das concentrações de ocitocina sintética residual no meio de incubação, utilizou-se o cálculo de regressão e correlação, admitindo-se neste caso, como limite de não significância, $p > 10\%$.

TABELA 8

PORCENTAGEM DE INIBIÇÃO

PT	PT-A	PT-B	ALB.	α_1	α_2	β	ϕ	γ
51,312%	44,375%	35,000%	11,125%	35,875%	21,312%	11,625%	0,312%	14,687%
$PT > PTA > PTB = \alpha_1 > \alpha_2 > \gamma > ALB = \beta$				$ALB + \alpha_1 + \alpha_2 + \beta + \phi + \gamma = 94,946\%$				

DISCUSSÃO

Quanto aos métodos utilizados na presente investigação, inicialmente desejamos frisar, que procuramos - tomar a máxima cautela, para que pudéssemos trabalhar com a maior precisão possível, a fim de excluirmos quaisquer arte fatos de técnica, os quais poderiam nos levar a falsas con clusões.

O plasma total (PT) obtido após a centrifugação e separação dos elementos figurados, foi utilizado no dia da colheita do material (sangue venoso), pois segundo TOVEY (1969), a sua atividade enzimica diminui 25% quando guardado de um dia para outro mesmo congelado, embora GOLKOW et al (1963) mostraram que o soro de gestantes, pode ser estocado no congelador por muitas semanas, sem perder a atividade ocitocinásica.

A dosagem das proteínas plasmáticas totais , foi feita pelo método do biureto, do Manual de Métodos Clínicos "Spectronic 20" da Bausch & Lomb (1965) o qual nos proporcionou uma determinação bastante acurada da proteíemia em dosagens repetidas.

Com relação à separação eletroforética das proteínas plasmáticas, optamos pela eletroforese em cello - gel (Chemetron, Milano), uma vez que este método apresentou uma sensibilidade bem maior que a separação em papel ou em cellogel Oxoid, e com maior nitidez, facilitando desta forma a identificação de cada fração, e a mensuração das áreas correspondentes a cada uma delas, através da densitometria e planimetria quantitativa.

Para a inativação da ocitocina sintética, lan çamos mão do método de MATHUR et al (1968), pois, pelo seu emprego, observamos que além de sua especificidade, não ocorria a interferência de outras substâncias com proprieda

des ocitócicas existentes no sangue, como a serotonina (5-HT), histamina, acetilcolina, potássio, hipertensina, vaso pressina, pepsanurina, pepsitocina, substância P, cininas, substância produtora de dor, pepsitensina e angiotonina, as quais tem o poder de contrair o útero isolado de rata, o que poderia mimetizar a ação da ocitocina sintética, e consequentemente, falsear nossos resultados. Porém, vimos a necessidade de introduzir uma pequena modificação no método, utilizando tampão fosfato ao invés de água, como preconizado pelos autores, com a finalidade de neutralizar o meio de incubação, uma vez que o ácido acético tornava o pH ácido, o que como sabemos, promove o relaxamento e quietude do músculo liso.

Para testar a atividade da ocitocina sintética remanescente no meio de incubação, utilizamos o método biológico de superfusão, como descrito por GADDUM (1953a), porém mais aperfeiçoado, isto é, usando-se um banho-maria de plexiglas da Palmer regulado para $30 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ por meio de um termostato, e com agitação constante através de um agitador, ambos presentes na própria cuba, e a solução perfusora para a lavagem da peça era aerada por um aerador de aquário. As soluções padrões e testes, à mesma temperatura do banho, eram aplicadas ao útero isolado, por meio de uma seringa de insulina de 1 ml, aplicando-se 0,1 ml de cada solução, e não por conta gotas como utilizado por GADDUM (1953a). Desta maneira, a aplicação das soluções foi sempre uniforme. Este método, nos mostrou grande sensibilidade e homogeneidade das contrações do útero isolado de ratas virgens, o que foi mostrado também por outros autores, que usaram o banho de superfusão (FITZPATRICK, 1961; WIKVIST et alii, 1962; VANE, 1964 e MATHUR et al., 1968).

A solução perfusora, por nós utilizada, foi a solução de Locke modificada (HOLTON, 1948), uma vez que nesta solução, as possíveis contrações espontâneas do útero isolado de rata, eram reduzidas, diminuindo portanto os fatores que poderiam interferir em nossos resultados.

Observamos ainda, assim como DALE e LAIDLAW - (1912), que a fase do ciclo sexual, a temperatura do banho, a composição da solução perfusora e a filogenia do útero, são fatores importantes para se obter respostas dignas de confiança, quando se trabalha com útero isolado.

Utilizamos portanto, o útero de rata na fase de proestro do ciclo sexual, pois que nesta fase, o útero se apresenta bastante sensível e com pequena atividade espontânea, conforme relatam os trabalhos de FLATTERS (1954), SCHNEIDER e STUMPF (1953), FITZPATRICK (1961) e MARTINET e GILLOIS (1964). Inclusive, a porção do útero por nós utilizada, foi sempre a porção média, a qual, segundo BONNEY et al (1950), se apresentava bem mais sensível, o que confirmamos, e também com a finalidade de uniformizarmos o método.

O método biológico para a determinação da ocitocinase, pela detecção da ocitocina sintética remanescente no meio de incubação, tem a vantagem de poder ser feita sob condições bastante semelhantes as que existem no vivo, no decurso da inativação fisiológica da ocitocina natural durante o período gestacional, enquanto que o método químico, é mais utilizado para determinações de rotina, sendo considerado de valor para estudos bioquímicos da ocitocinase, como descrito por TUPPY (1961).

Quanto a interrupção do curso da alavanca isotônica frontal, aos 45 segundos após a injeção das substâncias padrão e teste, observamos, da mesma maneira que REES (1971), que, decorrido este tempo, a contração do útero isolado de rata tornava-se bastante uniforme, como mostra o nosso desvio padrão, praticamente não significativo, como pode ser observado nos Gráficos 5, 6 e 8 e Tabelas 4 e 5 em nossos resultados, o que demonstra sua precisão e reprodutibilidade.

Analizando agora a Tabela 1, onde aparecem os valores das hemácias, hemoglobina, valor globular e hematócrito, pode-se observar que tais valores apresentem-se nor

mais, em comparação com os obtidos por DIECKMANN et al (1934).

Referindo-nos à concentração das proteínas plasmáticas, procuramos compará-las com os dados obtidos por DOTTAVIANO (1969), o qual por sua vez, comparou-os com os de TISELIUS, e estabelecer possíveis correlações.

Os estudos sobre a proteinemia, datam do século passado, embora as investigações sobre o perfil eletroforético das proteínas plasmáticas, só tenham começado em 1937 com TISELIUS, o qual padronizou a técnica, e estabeleceu os valores médios das proteínas, hoje aceitos como normais.

Comparando os valores encontrado em nosso grupo controle (homens e mulheres não gestantes) apresentados na Tabela 2, com os de TISELIUS, verificamos que as taxas médias das proteínas totais, são similares, embora algumas frações se comportem diferentemente. Assim, em nossos achados, observamos em ambos os sexos, uma diminuição da globulina alfa 1, um aumento do fibrinogênio e um aumento da relação albumina/globulinas.

Comparando agora os nossos resultados do grupo de pacientes (Tabela 3), isto é, gestantes normais - no final da gestação, com os achados de MACK (1955), pode-se observar em nosso grupo, uma pequena diminuição das proteínas totais, das globulinas alfa 1, alfa 2 e beta globulina, e conseqüentemente, um leve aumento da relação albumina/globulinas.

Em comparação com os achados de DOTTAVIANO (1969), nossos resultados variaram. Assim é que tanto no grupo normal, quanto no grupo de pacientes, este autor encontrou um aumento das proteínas totais, uma diminuição da albumina e da relação albumina/globulinas e um aumento das demais frações, enquanto que nós encontramos valores inversos, tanto com relação ao grupo normal, quanto ao grupo de

pacientes, isto é, uma diminuição das proteínas totais, um aumento da albumina e da relação albumina/globulinas, e uma diminuição das frações restantes.

Tal fato, pode ser explicado pelo nível sócio-econômico de nossos pacientes, que se mostrou mais elevado, que as pacientes utilizadas por DOTTAVIANO e também pela maior incidência de processos infecciosos, e portanto com o nível de globulinas aumentado, uma vez que suas pacientes residiam no Jardim das Oliveiras (Campinas), enquanto que o nosso grupo, reside no bairro do Cambuí (Campinas), cujo nível, não só de alimentação mas também de hábitos de higiene é bem mais elevado, e por estarem melhor assistidas sob o ponto de vista médico-social. Inclusive, a separação eletroforética em nosso trabalho, foi realizada em cellogel, método este que fornece uma separação bem mais nítida do que em papel, como utilizada por DOTTAVIANO.

Quanto as variações que as proteínas plasmáticas experimentam no decorrer da gestação, muitas especulações podem ser feitas, no sentido de se interpretar a sua verdadeira significação.

Sabe-se que, uma das importantes funções das proteínas, é a de "carrier", para o transporte de hormônios, lípides, carboidratos, metais e também enzimas, o que se faz principalmente através das globulinas, e como nós encontramos uma diminuição dessas frações, nossos resultados concordam com os achados de LONGSWORTH, CURTIS e PEMBROKE (1945), LEDE (1961), REBOUD et alii (1963) e BAYER (1967), autores estes, que também encontraram uma diminuição desses elementos, desde o início até o final da gestação.

SMITH, ALVAREZ e FORSANDER (1959), MILLE S, TETON e RABINOVITZ (1960), TELOH (1960), AFONSO et al (1964) e SINGH, RAMAKUMAR e SINGH (1967), estudando o perfil eletroforético das proteínas de gestantes normais, referem algumas características, que são:

a) o aparecimento de uma faixa típica, uma globulina alfa 2, específica, diferente da ceruloplasma, da gonadotrofina coriônica e da ocitocinase;

b) aumento da globulina beta, devido principalmente ao colesterol que se eleva, e a ele se liga, como em toda hipercolesterolemia; e,

c) as curvas eletroforéticas mostram as globulinas alfa 2 e beta pobremente separadas.

Outros autores como TOVEY (1959), TULZER (1959) e ARTNER e HOFBAUER (1964), afirmam que a queda da albumina e gama globulina, se deve a uma alteração própria da gestação, um possível efeito simpaticotrópico-ergotrópico do sistema nervoso autônomo, ou seja, um comportamento carabólico, cujas causas seriam:

a) distúrbio da capacidade de regenerar proteínas;

b) drenagem para o feto; e,

c) destruição proteica aumentada, ao nível renal.

Segundo LACRETA (1964), o fornecimento contínuo de proteínas para o feto, e a permeabilidade capilar aumentada, permitindo a evasão principalmente da albumina, que tem baixo peso molecular através da membrana placentária, e de que sua síntese, não cobre o consumo dessa fração, promove portanto, uma diminuição da proteinemia total no organismo materno. A passagem de proteínas da mãe para o feto, realmente ocorre, como observaram REJNEK, BEDNARIK e KNESSLOVA (1967), usando globulina gama, marcada com I_{131} .

A tireóide desempenha um papel relevante na gestação, uma vez que aumentando o seu volume de até 80% do normal, resultaria uma elevação da taxa metabólica, oca-

sionando um balanço proteico negativo, o que é corroborado pelo aumento do nitrogênio urinário e pela maior incorporação de proteínas pelo feto e pela placenta, a medida que a gestação evolui (FREEDBERG, HAMOLSKY e FREEDBERG, 1957).

Esses dados levaram a ONU, através da FAO - (Food and Agriculture Organization, 1957), a estabelecer - uma dieta ideal para gestantes, visando atender principalmente suas necessidades proteicas.

Comparando os nossos resultados com os de DIECKMAN et al (1934), NEUWEILER (1940), STANDER e PASTORE (1940), FERRO e GÁSCON (1943), LONGSWORTH et alii (1945), LÉON e BRAIER (1946), MACARTHUR (1948), LIDDELOW (1953), BRUNET, ROSEY e SIMONNET (1956), MCGILLIVRAY e TOVEY (1957), SMITH et alii (1959), MILLES et alii (1960), PAABY (1960), De ALVAREZ, AFONSO e SHERRARD (1961), LEDE (1961), BACH (1962), MALACOLI e FONTANA (1962), REBOUD et alii (1963), MENON, WILLMOTT e RAMASWAMY (1963), AFONSO et al (1964), ARTNER et al (1964), BARON et alii (1965), BAGGA e MUL-LICK (1966), BAYER (1967) e SINGH et alii (1967), observamos que os nossos valores médios em gestantes, não são comparáveis aos desses autores, que mostraram uma diminuição da albumina, e um aumento de todas as outras frações, enquanto que nós observamos o contrário, isto é, um aumento da albumina, e uma diminuição de todas as outras frações.

As discrepâncias existentes, podem talvez serem explicadas pelo fato das pacientes pertencerem a países diferentes, com regimes dietéticos também diferentes, ou a diversos níveis sócio-econômicos.

Sabe-se que a ocitocina formada no hipotálamo e armazenada na neurohipófise, sofre uma depuração ao nível de vários órgãos, além de ser inativada pela ocitocinase, durante a gestação.

Um conhecimento preciso da reatividade do útero humano no decorrer da gestação, e no trabalho de par

to, é de importância básica para os investigadores no campo da reprodução, a fim de estabelecer o papel da ocitocina no trabalho de parto. O ponto de vista corrente dos fisiologistas, endocrinologistas, farmacologistas e obstetras, é que a sensibilidade do útero à ocitocina, aumenta grandemente nos últimos dias de gestação e durante o trabalho de parto.

Muitos autores tem registrado que em não gestantes, a pitressina é um estimulante muito mais potente que a ocitocina, sobre o útero humano.

Em não gestantes, o nível de ocitocina é praticamente nulo, enquanto que na gestação normal, o seu nível começa a aumentar desde o início da mesma, até o seu final.

A sensibilidade uterina à ocitocina e vasopressina, é baixa durante os dois primeiros trimestres. Tanto um hormônio quanto outro, são equipotentes no primeiro trimestre, enquanto que a vasopressina é provavelmente mais potente no segundo trimestre, porém a ocitocina tem maior atividade na última semana do terceiro trimestre, especialmente após a 36a. semana, quando atinge o seu nível máximo.

Não há praticamente diferença da ação da ocitocina entre o pré parto e parto, mas apenas uma gradual transição progressiva. A intensidade e frequência das contrações uterinas, continuam a aumentar até o parto.

Nenhuma alteração significativa ocorre durante as últimas semanas de gestação ou durante o trabalho de parto.

Durante as últimas 4 a 8 semanas, isto é, pré-parto, a atividade espontânea do útero, aumenta gradualmente, e tal aumento, torna-se mais rápido com o aproximar do parto e, durante o trabalho de parto, a contrati-

lidade uterina continua a aumentar até o feto ser expulso.

Assumindo que na mulher, a ocitocina é o principal fator que estimula as contrações uterinas no trabalho de parto, é necessário postular que um aumento da secreção de ocitocina, explicaria o grande aumento da atividade do útero que ocorre durante o pré parto e parto espontâneo.

Porém, existem discrepâncias entre os pontos de vista de muitos autores que tem estudado a resposta do útero humano, sob a ação da ocitocina durante a gravidez e parto, o que pode ser atribuído a diferenças dos métodos e critérios usados para se medir a resposta uterina.

Sendo portanto, o nível de ocitocina praticamente nulo em não gestantes, não existe ocitocinase circulante, uma vez que sendo esta formada pela placenta, como citam uma série de autores, e como não gestantes não tem placenta, obviamente não existe ocitocinase.

Em gestantes, o nível de ocitocina produzida pelo hipotálamo começa a aumentar desde o início da gestação, e com a formação da placenta, esta começa a produzir ocitocinase em níveis paralelos com a ascensão da ocitocina endógena natural, atingindo o máximo a termo, com a finalidade de antagonizar a ação da ocitocina, impedindo - coadjuvoriamente desta forma a expulsão do feto antes do 3º trimestre. Como transcorrido o período gestacional o feto deverá ser expulso, progressivamente nas últimas semanas a placenta deixa de produzir ocitocinase, e a ocitocina não sendo mais inativada promove juntamente com os demais agentes ocitócicos, a contração do útero, ocorrendo - consequentemente a expulsão do feto.

Com relação a inativação da ocitocina, como era de se esperar, em nossos grupos controles, a contração do útero isolado de rata, quando se aplicava ocitocina padrão, foi idêntica a uma concentração de 1600 μ U/ml ou

Assim é que WERLE et al (1956), observaram - que a albumina inativa apenas 20% da ocitocina sintética - adicionada ao meio de incubação, enquanto que a globulina - alfa 1, inativa os 80% restantes, não ocorrendo inativação por parte das outras proteínas.

Nossos resultados portanto, estão em desacordo com os de WERLE et al (1956), pois que observamos uma inativação de apenas 11,125% da ocitocina sintética, quando incubada com a albumina, e 35,875% quando incubada com a globulina alfa 1.

RIAD et al (1962), pelo método químico, não encontraram nenhuma atividade inativadora da ocitocina sintética pelas frações albumina, e globulinas beta e gama , mas apenas nas globulinas alfa 1 e alfa 2.

Porém, os nossos resultados, mostram que além da albumina e da globulina alfa 1, a globulina beta também inativa a ocitocina sintética, em uma proporção de 11,625%, quase que idêntica a da albumina, e que a gama globulina , inativa 14,687% da ocitocina sintética, enquanto que a globulina alfa 2, inativa 21,312%.

Já, AZYAVCHIK (1967), encontrou no soro de gestantes, o que ele chama de fração proteica adicional , junto as frações, globulinas alfa 1, alfa 2 e beta, não relatando a proporção dessas frações adicionais, e se são elas enzimas ou não.

Concluimos portanto, que os métodos de separação das proteínas plasmáticas e de detecção da atividade - ocitócica remanescente no meio de incubação que empregamos, permitiram estabelecer sem sombra de dúvidas a existência - de atividade inibidora da ocitocina sintética, de todas as frações proteicas do plasma de gestantes, com exceção do fibrinogênio, fato este até então desconhecido e atribuído - tão somente às frações albumina e globulinas alfa 1 e alfa 2.

quando se aplicava o plasma desses grupos incubado com ocitocina sintética, o que vem provar a não existência de ocitocinase, ou de qualquer outra substância capaz de promover a inativação da ocitocina sintética, estando portanto os nossos resultados em concordância com os de vários autores (KÜSTNER, 1927; FEKETE, 1930 e 1932; WOODBURY et alii, 1946; DICKER et al., 1956; CARBALLO et al, 1957a, b; MÉNDEZ-BAUER et al, 1957; MÉNDEZ-BAUER et al, 1957 a, b; SEMM, 1957, 1958; CALDEYRO-BARCIA et al, 1959; CARBALLO et alii, 1959; DICKER et al, 1959; MÜLLER-HARTBURG, 1959; MÜLLER - HARTBURG et alii, 1959; HASHIMOTO, 1961; MÉNDEZ-BAUER et alii, 1961; PAGE et alii, 1961; PERITI et alii, 1961a, b; AFONSO et al, 1962; NICCOLI et al, 1962; MELANDER, 1965; JAMES, 1966; RYDÉN, 1971 e JAYARAMAN et alii, 1975).

Quanto ao grupo teste, isto é, mulheres no final da gestação (uma a duas semanas antes do parto), nossos resultados, pelo método biológico, confirmam os de vários autores, no que se refere ao plasma total, observando-se - que houve inativação da ocitocina sintética em todos os casos (KÜSTNER, 1927; FEKETE, 1930, 1932; WERLE et alii, 1941; WERLE e EFFKEMANN, 1942; PAGE, 1946; WOODBURY et alii, 1946; WERLE et al, 1951, 1955; KANAZAWA, 1954; HAWKER, 1955, 1956; SEMM, 1955, 1957; CARBALLO et al, 1957a, b; MÉNDEZ-BAUER et al, 1957; MÉNDEZ-BAUER et al, 1957a,b; CALDEYRO-BARCIA et al, 1959; CARBALLO et alii, 1959; DICKER et al, 1959; CENTARO et alii, 1961; CENTARO et alii, 1961; MÉNDEZ-BAUER et alii, 1961; BABUNA et alii, 1965; CISTERMINO et al, 1965; BRANDA et alii, 1968; FERRIER et alii, 1968; MOLNÁR et al, 1969 e HURRY et alii, 1972).

Finalmente, os nossos resultados mostram que, com exceção do fibrinogênio, todas as outras frações proteicas do plasma de gestantes a termo, inativam a ocitocina sintética, em proporções variáveis, como pode ser observado na tabela 8.

Com relação ao plasma total, o grau de inati-

vação foi maior, que em relação as tiras totais eletroforizadas, portanto não seccionadas (PT-A), talvez, devido a perda ou desnaturação de algum elemento, durante o processo de eletroforização.

Quanto a remoção das proteínas, por seccionamento das tiras, e a seguir a sua mistura (PT-B), nós verificamos que a inativação da ocitocina sintética, foi menor que a PT-A, o que podemos concluir, que deva existir elementos entre as proteínas, com a capacidade de inativar a ocitocina sintética, como descrito por WERLE et al (1956), SEMM (1959a, b), ESPOSITO (1960), Čihar et alii (1961) e RIAD et al (1962).

Uma outra hipótese que podemos aventar, é que quando o plasma total é incubado com a ocitocina sintética, os íons metálicos bivalentes, como Mn^{++} , Co^{++} e Zn^{++} (WERLE et al, 1956 e SEMM, 1959a,b), permanecem agregados às proteínas, e quando se realiza a eletroforese, ocorre a sua separação. Esses íons, tem a função de manter a atividade enzimica, sugerindo ser a ocitocinase uma metalo-enzima, como descrito por esses autores.

Podemos ainda sugerir, que as proteínas plasmáticas não são na realidade a ocitocinase, mas que esta enzima está pelo menos, ligada a elas, e no processo de eletroforização, a ocitocinase se desliga parcialmente das proteínas, ou então que essa atividade, está relacionada com isoenzimas presentes no plasma, e que aparecem somente no decorrer da gestação.

Comparando agora, os nossos resultados com os de WERLE et al (1956), SEMM (1959a, b), ESPOSITO (1960), ČIHAR et alii (1961), RIAD et al (1962), RITTNER (1966) e AZYAVCHIK (1967), verificamos que não apenas algumas frações proteicas tem a capacidade de inativar a ocitocina sintética, mas sim, todas elas, com exceção do fibrinogênio.

RESUMO E CONCLUSÕES

Na presente investigação, tentamos observar se realmente o plasma total (PT), cada uma de suas frações proteicas clássicas (albumina, globulinas alfa 1, alfa 2, beta e gama e fibrinogênio) separadas por eletroforese em cellogel Chemetron; as tiras eletroforizadas sem seccionar (PT-A) e a mistura das proteínas removidas uma a uma da tira através do seccionamento (PT-B), apresentavam alguma ação inativadora sobre a ocitocina sintética (Syntocinon, Sandoz). Para a separação de cada fração, utilizamos 17 tiras, sendo que uma delas foi corada em negro de amido, a qual foi utilizada para a mensuração das áreas correspondentes a cada fração, e para a identificação (através de aposição) de cada fração das tiras não fixadas. Das 16 tiras restantes, 4 foram utilizadas para a separação de cada fração, 4 para PT-A, 4 para PT-B, e 4 foram usadas como branco.

Para isso, utilizamos o plasma de não gestantes (3) e de homens (3) apenas como controle, e 14 grupos testes gestantes normais que se encontravam no final da gestação, isto é, uma a duas semanas antes do trabalho de parto, cujas amostras foram coletadas de mulheres que foram encaminhadas ao Centro de Puericultura do Cambuí (Unidade de Saúde Materno-Infantil) para o exame pré-natal.

Tomamos todo o cuidado possível para evitar a hemólise do sangue, uma vez que o hemolisado contém substâncias que interferem com os nossos resultados. Paralelamente, foi feita a determinação do número de hemácias, hemoglobina, valor globular e hematócrito, pelo Laboratório de Análises Clínicas "Adolfo Lutz" de Campinas, a fim de se averiguar as condições fisiológicas de cada paciente.

Uma vez obtidas as amostras, estas foram incubadas com ocitocina sintética em banho maria à $37 \pm 0.5^\circ \text{C}$ por 5 minutos, após o que, foram testadas sobre útero iso-

lado de rata pelo método da superfusão.

De acordo com os resultados obtidos, podemos concluir que:

- 1) o plasma total apresentou um maior índice de inativação da ocitocina sintética, em relação ao PT-A e PT-B;
- 2) a seguir, em ordem decrescente, observamos uma inativação da ocitocina sintética pelo PT-A, maior que PT-B, que é praticamente igual à globulina alfa 1;
- 3) entre as diversas frações, foi observado, em ordem decrescente, uma inativação da ocitocina sintética na seguinte ordem pelas seguintes frações: globulina alfa 1, globulina alfa 2, globulina gama, globulina beta e albumina;
- 4) e finalmente, com relação ao fibrinogênio, este é incapaz de inativar a ocitocina sintética.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. ABAD-MARTINEZ, L. - Histoquímica de la leucin-aminopeptidase (LAP) en la placenta normal. Rev. Espan. Obstet. Ginecol. 25: 103-109, 1968.
02. ABAD-MARTINEZ, L.; G. PÖCH y E. HOLZER - Valor de la determinación de la ocitocinasa sérica en el embarazo normal y patológico. Rev. Espan. Obstet. Ginecol. 25: 349-359, 1968.
03. ABRAHAMS, V.C. and M. PICKFORD - Simultaneous observations on the rate of uterine flow and spontaneous uterine movements in the dog, and their relationship to posterior lobe activity. J. Physiol. (Lond), 126: 329-346, 1954.
04. ABRAHAMS, V.C. and M. PICKFORD - The effect of 5-hydroxytryptamine on the uterus of conscious and of anaesthetized dogs. Brit. J. Pharmacol. 11: 50-51, 1956.
05. AFONSO, J.F. and G. FARNHAM - Studies on a new electrophoretic zone in labor and the puerperium and in newborn infants. Amer. J. Obstet. Gynecol. 84: 199-205, 1962.
06. AFONSO, J.F. and R.R. de ALVAREZ - Further starch gel fractionation of new protein zones in pregnancy. Amer. J. Obstet. Gynecol. 86: 815 - 819, 1963.
07. AFONSO, J.F. and R.R. de ALVAREZ - New electrophoretic protein zone in pregnancy. Amer. J. Obstet. Gynecol. 89: 204-214, 1964.
08. ANCES, I.G. - Observations on the level of blood oxyto

- cinase throughout the course of labor and pregnancy. Amer. J. Obstet. Gynecol. 113: 291-295, 1972.
09. ANDERSSON, B. - Some observations on the neuro hormonal regulation of milk-ejection. Acta Physiol. Scand. 23: 1-7, 1951a.
10. ANDERSSON, B. - The effect and localization of electrical stimulation of certain parts of the brain stem in sheeps and goats. Acta Physiol. Scand. 23: 8-23, 1951b.
11. ANDERSSON, B. and S.M. Mc CANN - Drinking, antidiuresis and milk-ejection from electrical stimulation within the hypothalamus of the goat. Acta Physiol. Scand. 35: 191-201, 1955.
12. ARAGON, G.T. - Evaluation of plasma pitocinase determination in toxemias of pregnancy. Amer. J. Obstet. Gynecol. 55: 961-966, 1948.
13. AROSKAR, J.P.; W.Y. CHAN; J.E. STOUFFER; C.H. SCHNEIDER; V.V.S. MURTI and V. du VIGNEAUD - Renal excretion and tissue distribution of radioactivity after administration of tritium labeled oxytocin to rats. Endocrinology 74: 226-232, 1964.
14. ARST, H.E.; R.T. MANNING and M. DELP - Serum leucine aminopeptidase activity: findings in carcinoma of the pancreas, pregnancy and other disorders. Amer. J. Med. Sci. 238: 598-609, 1959.
15. ARTNER, J. und R. HOFBAUER - Das eiweisspektrum des blutserum von der schwangerschaft und im wochenbett. Z. Geburtsh. Gynak. 163: 1-21, 1964.

16. AUDRAIN, L. et H. CLAUSER - Relation entre l'activité physiologique de l'ocytocine et l'état de son pont disulfure. Biochem. Biophys. Acta 30: 191-192, 1958.
17. AUDRAIN, L. and H. CLAUSER - Mechanism of the inactivation of oxytocin by uterine tissue. Biochem. Biophys. Acta 38: 494-501, 1960.
18. AZYAVCHIK, A.V. - New electrophoretic zones of serum - proteins in pregnancy (electrophoretical and immunological studies) Akush. Gynkol. - (Mosk.) 43: 9-13, 1967.
19. BABUNA, C.; O. ERÖZDEN ve E. YENEN - Doğum ağrılarının başlamasında âmil olan tiirlii faktörler arasında oxytocinase' in yer: ve normal gebeler de serum oxytocinase tayinleri. Tip Fak. Mec. (Istambul) 28: 239-250, 1965.
20. BABUNA, C. and E. YENEN - Further studies on serum oxytocinase in pathologic pregnancy. Amer. J. Obstet. Gynecol. 94: 868-875, 1966a.
21. BABUNA, C. and E. YENEN - Enzymatic determination of placental function. Amer. J. Obstet. Gynecol. 95: 925-934, 1966b.
22. BABUNA, C.; E. YENEN; O. ERÖZDEN and A. ÜNER - An enzymatic method for diagnoses of hydatiform mole. Obstet. Gynec. 35: 852-856, 1970.
23. BACH, W. - Plasma fibrinogen in pregnancy, labor and puerperium. Zbl. Gynaek. 84: 1187-1195, 1962.
24. BAGGA, O.P. and V.D. MULLICK - Serum electrophoretic studies in normal and toxemic pregnancies. Amer. J. Obstet. Gynecol. 94: 1143-1144, 1966.

25. BARON, F.; M. BRIOTTET; Y. MICHIELS et M. LEMAIRE - Intérêt pronostique de l'électrophorèse des protéines sanguines chez une gestante présentant une néphropathie gravidique. Gynec. Obstet. 64: 357-364, 1965.
26. BARTÍK, M. y E. MICHNOVÁ - Polarografické stanovenie oxytocinázy a príspevok ku charakteristike - aminopeptidáz. Vet. Med. 11: 645-653, 1966.
27. BASTIDE, P.; J. BAUDON; S. MEUNIER et G. DASTUGUE - Activité leucine-aminopeptidasique (L.A.P.) - dans le placenta, le sang maternel et celui du nouveau-né. Ann. Biol. Clin. (Paris) 19: 459-462, 1961.
28. BAUSCH & LOMB - Manual de métodos clínicos "Spectronic 20". pp. 63-64, 1965.
29. BAYER, H. - Über ergebnisse von bluteiweissumtersuchungen in der schwangerschaft. Z. Geburtsh. Gynaek. 166: 12-23, 1967.
30. BECKMAN, L.; G. BJORLING and C. CHRISTODOULOU - Pregnancy enzymes and placental polymorphism: II - Leucine aminopeptidase. Acta Genet. Statist. Med. 16: 122-131, 1966.
31. BELLER, F.K. und U. Göbelsmann - Der Abbau natürlichem und synthetischem Oxytocin durch Oxytocinase. Klin. Wochenschr. 36: 1005-1008, 1958.
32. BELLER, F.K. und U. GÖBELSMANN - Methodische Probleme der Serum Oxytocinase Bestimmung im Schwangerenserum. Acta Endocrinol. (Kbh) 31: 467-480, 1959.
33. BELLER, F.K. und H. SCHNIZ - Quantitative Probleme der Oxytozininaktivierung. Geburtsh. Frauenhk.

20: 563-569, 1960.

34. BERÁNKOVÁ, Z.; I. RYCHLÍK and F. SÖRM - Inhibition of oxytocin inactivation by some peptides. Experientia 15: 298-299, 1959.
35. BERÁNKOVÁ, Z.; I. RYCHLÍK and F. SÖRM - Enzymic inactivation of oxytocin. I. Selective inhibitors of oxytocin inactivation. Coll. Czechoslov. Chem. Commun. 25: 2575-2580, 1960.
36. BERÁNKOVÁ, Z.; I. RYCHLÍK and F. SÖRM - Enzymic inactivation of oxytocin. II. Fission of some peptide fragments of the oxytocin structure and their derivatives by pregnancy serum and liver cell sap. Coll. Czechoslov. Chem. Commun. 26: 1708-1714, 1961.
37. BERÁNKOVÁ, Z. and F. SÖRM - Enzymic inactivation of oxytocin. III. Desthiooxytocin and S, S'-dibenzyl - dihydrooxytocin as oxytocinase - inhibitors and substrates. Coll. Czechoslov. Chem. Commun. 26: 2557-2561, 1961.
38. BERNHARD, J. und K. SEMM - Serum - 1 - Cystin - aminopeptidase - Aktivität und Schwangerschafts - gestosen. Zbl. Gynäk. 86: 1691-1693, 1964.
39. BERNHARD, J. - Die Serum - Oxytozinase - Aktivität im Blut und in der Plazenta am Ende der Tragzeit. Zbl. Gynäk. 89: 785-788, 1967.
40. BIRO, G.P.; M.L. FORSLING; M.J. MARTIN and R.W. WILMOTT - Relative rates of release and clearance of neurophysin and vasopressin in the dog. J. Endocrinol. 53: LVI-LVII, 1972.
41. BISSET, G.W. and J.M. WALKER - Assay of oxytocin in blood. J. Physiol. (Lond.) 126: 588-595 ,

1954.

42. BISSET, G.W.; S.M. HILTON and A.M. POISNER - Parallel assays of vasopressin and oxytocin in blood on electrical stimulation of the hypothalamus. J. Physiol. (Lond.) 169: 40-41, 1963.
43. BISSET, G.W.; S.M. HILTON and A.M. POISNER - Hypothalamic pathways for independent release of vasopressin and oxytocin. Proc. Roy. Soc. B. - 166: 422-442, 1967.
44. BOLOGNA, U.; M. MUZZOLINI e M. PEZZALI - L'attivita' ossitocinastica serica in condizioni fisiologiche. Clin. Ostet. Ginec. 64: 757-759 , 1962.
45. BONNEY, W.R. and J.K.W. FERGUSON - Reactions of isolated uterine muscle of rats and guinea-pigs . Arch. Int. Pharmacodyn. 85: 566-572, 1950.
46. BONOW, A.; W. CAROL und S. WACHTEL - Die Bestimmung der Serum-Oxytocinase - Aktivität auf chemischen Wege. Zbl. Gynäk. 85: 1537-1542 , 1963.
47. BOROV, V.I. - Problem of oxytocinase and cholinesterase activity at the end of pregnancy and during labor. Akusherstvo Ginekol. 42: 39-42 , 1966a.
48. BOROV, V.I. - Biochemical determination of the oxytocinase activity of the blood plasma of pregnant women. Lab. Delo 7: 401-404, 1966b.
49. BRANDA, L.A.; B.M. FERRIER; G. ARCHIMAUT; E.A. MARCHELLI and B. RUCANSKI - Deamino-oxytocin: inactivation by plasma of women in labor. Science 160: 81-82, 1968.

50. BRANDA, L.A.; B.M. FERRIER; B. RUCANSKI; G. ARCHIMAUT y E. A. MARCHELLI - Inactivación de la ocitocina y de la deamino-ocitocina por la placenta humana perfundida "in vitro". III Reunião da ALIRH, Salvador - Brasil, 1968.
51. BRANDA, L.A. and B.M. FERRIER - Degradation of oxytocin by human placental tissue. Amer. J. Obstet. Gynecol. 109: 943-947, 1971.
52. BRESSLER, R. and B.R. FORSYTH - Serum leucine aminopeptidase activity in normal pregnancy and in patients with hydatiform mole. New Engl. J. Med. 261: 746-748, 1959.
53. BROVETTO, J.; J. OLHABERRY; M.N. GIOIA de COCH; H. CODA; C. FIELITZ; H.M. CABOT; A. FRAGA and J. A. COCH - Separation of oxytocin from the substances that interfere with its biological assay on the isolated rat mammary gland. J. Endocrinol. 38: 355-356, 1967.
54. BRUIJCKERE, R.H. - De oxytocinase-activiteit in het bloed als placentafunctionaliteitsproef in het derde trimester van de zwangerschap. Ned. Tijdschr. Geneesk. 112: 2314-2319, 1968.
55. BRUNET, B.; M. ROBEY et H. SIMONNET - Recherches sur les modifications des protéines du sérum au cours de la grossesse normale; le protéinogramme par électrophorèse au cours de la grossesse. Gynec. Obstet. 64: 357-364, 1956.
56. BURTON, A.M. and M.L. FORSLING - Hormone content of the neurohypophysis in foetal, new-born and adult guinea-pigs. J. Physiol. (Lond.) 221: 6-7p, 1972.
57. CALDEYRO-BARCIA, R.; H. ALVAREZ; J.J. POSEIRO; S.V. POSE y C. MÉNDEZ-BAUER - Hechos que evidencian

que la secreción de ocitocina hipofisaria es quien gobierna la actividad uterina durante el periodo gravidopuerperal. 9º Congr. Argent. de Obst. y Ginecol., T. II - 345-351, 1955.

58. CALDEYRO-BARCIA, R. - Hipótesis de trabajo sobre el gobierno hormonal de la contractilidad del útero humano en la gravidez. I Reunión Científica de la ALACF, Uruguay, p. 40-43, 1957.
59. CALDEYRO-BARCIA, R. and S.V. POSE - Measurements of uterine response to oxytocin at different gestational ages in normal and abnormal conditions. Extrait du II Congrès International de Gynécologie et d' Obstétrique, Montreal. 2: 440, 1958.
60. CALDEYRO-BARCIA, R. and J.J. POSEIRO - Oxytocin and contractility of the pregnant human uterus. Ann. N. Y. Acad. Sci. 75: 813-830, 1959.
61. CALDEYRO-BARCIA, R. and J.A. SERENO - The response of human uterus to oxytocin throughout pregnancy. In "Oxytocin" pp. 177-202, Ed. by R. Caldeyro-Barcia and H. Heller. Oxford. Pergamon Press, 1961.
62. CARBALLO, M.A. y R. CALDEYRO-BARCIA - Inactivación de la ocitocina por el "jugo" de placenta humana. I Reunión Científica de la ALACF, Uruguay, p. 49, 1957.
63. CARBALLO, M.A. y C.J. MÉNDEZ-BAUER - Evolución de la ocitocinasa durante el embarazo y el trabajo de parto inducido. II Congr. Uruguayo de Ginecología, 2: 300-307, 1957a.
64. CARBALLO, M.A. y C.J. MÉNDEZ-BAUER - Oríem placentário de la ocitocinase. II Congr. Uruguayo de Ginecología, 2: 308-313, 1957b.

65. CARBALLO, M.A. y C.J. MÉNDEZ-BAUER - Inactivación de la ocitocina por el plasma de mujeres embarazadas. II Congr. Uruguayo de Ginecología 2: 42-46, 1957c.
66. CARBALLO, M.A.; C.J. MÉNDEZ-BAUER and V.H. GONZÁLEZ-PANIZZA - Oxytocinase in pregnant women. XXI Congr. Inter. Physiol. Sc., Buenos Aires, pp. 53-54, 1959.
67. CENTARO, A.; G. de LAURENTIIS e P. PERITI - Ossitocina si nel sangue del feto a termine di gravidanza. Riv. Ostet. Ginecol. 16: 599-603, 1961.
68. CENTARO, A.; P. PERITI e G. de LAURENTIIS - Ossitocinemia e attività ossitocinasiche ematica e miometriale nella donna in travaglio di parto. Riv. Ostet. Ginecol. 16: 297-326, 1961.
69. CHAPMAN, L.; V.P. REGE; T.P. JOWETT; E. SILK and E.A. TOOTH - An automated method for the assay of serum cystine aminopeptidase in pregnancy. Clin. Chim. Acta. 38: 339-345, 1972.
70. CHARD, T.; N.R.H. BOYD and C.N. HUDSON - Immunoassay of oxytocin in maternal and foetal blood. In "Human Reproductive Physiology" Ed. by Rodney P. Thearman Blackwell Scientific Publications - Oxford London Edinburgh Melbourne. pag. 337, 1972.
71. CHAUDHURY, R.R. and J.M. WALKER - Rate of disappearance of injected oxytocin from the blood. J. Physiol. (Lond.) 138: 50p, 1957.
72. CHAUDHURY, R.R. and J.M. WALKER - The fate of injected oxytocin in the rabbit. J. Endocrinol. 19: 189-192, 1959.
73. CHRISTENSEN, A. - Hormone and enzyme assays in pregnan

- cy. I. Studies on the placental and the tissue cystine aminopeptidase activity in peripheral plasma from non-pregnant women, and in plasma from the umbelical cord. Acta Endocrinologica 76: 189-200, 1974a.
74. CHRISTENSEN, A. - Hormone and enzyme assays in pregnancy. III. The placental cystine-aminopeptidase and the urinary oestrogen in pregnancies complicated with essential hypertension, mild or severe preeclampsia. Acta Endocrinologica 76: 353-363, 1974b.
75. CHRISTENSEN, A.; D. FROYSHOV and P. FYLLING - Hormone and enzyme assays in pregnancy. II. The human chorionic somatomammotrophin, progesterone - and placental cystine-aminopeptidase levels in normal pregnancy. Acta Endocrinologica 76: 201-208, 1974.
76. CHRISTENSEN, A. and P.E. HAGELID - Hormone and enzyme assays in pregnancy. V. A rapid method for measuring the placental cystine-aminopeptidase using l-cystine-bis-p-nitroanilide as substrate. Acta Endocrinologica 78: 364-372, 1975
77. CIHAR, M.; Z. BERÁNKOVÁ; I. RYCHLÍK and F. SORM - Enzymic inactivation of oxytocin. VI. Characterization of purified preparations of serum oxytocinase. Coll. Czechoslov. Chem. Commun. 26: 2632-2641, 1961.
78. CISTERMINO, A. e A. MESSINA - L'attività ossitocinasica serica nella gravidanza protratta. Clin. Gin. 7: 669-677, 1965.
79. CISTERMINO, A. e A. MESSINA - Il comportamento dell'attività ossitocinasica serica nell'ipocinesi uterina nel corso del trattamento ossitocico. Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. 43:614-616, 1967

80. COBO, E.; M. de BERNAL; C.A. QUINTERO y R. ACEVEDO -
Funcion neurohipofisaria durante el parto humano. Estudio simultaneo de las actividades ocitocica y antidiurética. II Reunión de la ALIRH, Vinã del Mar, Chile, pp.206-209, 1966
81. CONTRACTOR, J.F.; J.J. JONES and A. ROUTLEDGE - Response of human myometrial strips to 5-hydroxy-tryptamine and oxytocin and its monoamine oxidase activity at various stages of gestation. J. Obstet. Gynaec. Brit. Cwlth. 75: 1113-1116, 1968.
82. CROSS, B.A. - Suckling antidiuresis in rabbits. J. Physiol. (Lond.) 114: 447-453, 1951.
83. CROXATTO, H.; R. CROXATTO and M. REYES - The effect of hipertensin on the inactivation of oxytocin by the serum of pregnant women. Science 108: 658-659, 1948.
84. CROXATTO, H.; C. VERA and L. BARNAFI - Inactivation of antidiuretic hormone by blood serum of the pregnant woman. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (N.Y.) 83: 784-786, 1953.
85. CROXATTO, H.; T. PEREDA and B. ZAMORANO - Oxytocic substances in blood serum. In "Oxytocin" p. 412, Ed. by R. Caldeyro-Barcia and H. Heller. Oxford Pergamon Press, 1961.
86. CURZEN, P. and R. VARMA - A comparison of serum cystine aminopeptidase and urinary estrogen excretion as placental function tests. Amer. J. Obstet. Gynecol. 115: 929-932, 1973.
87. DALE, H.H. - On some physiological actions of ergot. J. Physiol. (Lond.) 34: 163-206, 1906.
88. DALE, H.H. and P.P. LAIDLAW - A method of standardi

zing pituitary (infundibular) extracts. J. Pharmacol. 4: 75-95, 1912

89. DE ALVAREZ, R.R.; J.F. AFONSO and D.J. SHERRARD - Serum protein fractionation in normal pregnancy. Amer. J. Obstet. Gynecol. 82: 1096-1111, 1961.
90. DICKER, S.E. and C. TYLER - Inactivation of oxytocin and vasopressin by blood plasma of pregnant women. J. Obstet. Gynaec. Brit. Emp. 63: 690-696, 1956.
91. DICKER, S.E. and A.L. GREENBAUM - The destruction of the antidiuretic activity of vasopressin by -SH active compounds. J. Physiol. (Lond.) 141: 107-116, 1958.
92. DICKER, S.E. and G.A. WHYLEY - Inactivation of oxytocin by plasma of pregnant women. J. Obstet. Gynaec. Brit. Emp. 66: 605-609, 1959.
93. DIECKMAN, W.J. and C.R. WEGNER - The blood in normal pregnancy. I. Blood and plasma volumes. Arch. Inter. Med. 53: 71-86, 1934.
94. DIECKMANN, Vm. J.; G.F. EGENOLF; B. MORLEY and R.E. POTTINGER - The inactivation of the antidiuretic hormone of the posterior pituitary gland by blood from pregnant patients. Amer. J. Obstet. Gynecol. 60: 1043-1050, 1950.
95. DOTTAVIANO, E.J. - Contribuição ao estudo da gestação normal e patológica: variações plasmáticas e urinárias das proteínas, dos íons cálcio, fósforo, sódio e potássio e do hematócrito. Tese de doutoramento, 1969.
96. DRIESSCHE, R.V. - The nature of oxytocic activity of

human serum during pregnancy. In "Oxytocin" pp. 400-411, Ed. by R. Caldeyro-Barcia and H. Heller. Oxford. Pergamon Press, 1961.

97. DUGGAN, A.W. and G.W. REED - Hypothalamus and oxytocin. Nature (Lond.) 181: 1278-1279, 1958.
98. DUKE, H.N.; M. PICKFORD and J.A. WATT - The immediate and delayed effects of diisopropylfluorophosphate injected into the supraoptic nuclei of dogs. J. Physiol. (Lond.) 111: 81-88, 1950.
99. EMBREY, M.P. - A criterion of oxytocic activity. J. Obstet. Gynaec. Brit. Emp. 66: 871-875, 1959.
100. ESPOSITO, A. - Ricerche immunoelettroforetiche sul siero di donne gravide. Arch. Ostet. Gynecol. 65: 818-826, 1960.
101. FABIAN, M.; M.L. FORSLING; J.J. JONES and J.S. PRYOR - The clearance and antidiuretic potency of neurohypophyseal hormones in man, and their plasma binding and stability. J. Physiol. (Lond.) 204: 653-668, 1969.
102. FAO - Protein requirements - FAO, Nutritional Studies n° 16. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 1957.
103. FEKETE, K. - Beiträge zur Physiologie der Gravidität. Endokrinologie 7: 364-369, 1930.
104. FEKETE, K. - Gibt es während der Schwangerschaft ein aktives Hypophysen - Hinterlappenhormon im Blute? Endokrinologie 10: 1-23, 1932.
105. FERGUSON, J.K.W. - A study of motility of the intact uterus at term. Surg. Gynec. Obstet. 73: 359-366, 1941.

106. FERRIER, B.M.; L.A. BRANDA; E.A. MARCHELLI; G. ARCHI - MAUT y B. RUCANSKI - "Ocitocinase tissular": su demonstración en plasma de mujer durante el parto. III Reunión da ALIRH. Salvador - Brasil. 1968.
107. FERRO, R.M. and A. GÁSCON - Plasma proteins in pregnancy. Prensa Med. Argent. 30: 1836-1839, 1943.
108. FISHER, C.; W.R. INGRAM and S.W. RANSON - In "Diabetes insipidus and the neuro-hormonal control of water balance". Ann. Arbor. Michigan: Edwards Bros. Inc., 1938.
109. FITZPATRICK, R.J. - The estimation of small amounts of oxytocin in blood. In "Oxytocin" pp. 358-379, Ed. by R. Caldeyro-Barcia and H. Heller. Oxford Pergamon Press, 1961.
110. FLATTERS, M. - Über die Vorzüge der Verwendung von Ratten-Uterin Proöstrus zur Auswertung von Oxytocin. Arch. Exper. Path. u. Pharmacol. 221: 171-176, 1954.
111. FLOYD, W.S.; R.R. MARGULIS and C. WOODS - Comparative evaluation of oxytocinase and leucine aminopeptidase during normal pregnancy. Obstet. Gynecol. 41: 553-555, 1973.
112. FOLK, J.E. and M.S. BURSTONE - Chromogenic leucyl substrates for aminopeptidase and papain. Proc. Soc. Exp. Biol. N.Y. 89: 473-476, 1955.
113. FRANCESCHELLI, A. e U. LEONE - La cistino-aminopeptidase (ossitocinasi) nella gravidanza protratta. Monit. Ost. Gin. Endocrin. Metabol. 25: 82, 1964.

114. FRANKLAND, B.T.B.; M.D. HOLLENBERG; D.B. HOPE and B. A. SCHACTER - Dissociation of oxytocin and vasopressin from their carrier protein by chromatography on sefadex G-25. Brit. J. Pharmacol. 26: 502-510, 1966.
115. FREEDBERG, I.M.; M.W. HAMOLSKY and A.S. FREEDBERG - The thyroid gland in pregnancy. New Eng. J. Med. 256: 505-507, 1957.
116. FRIED, R. und L. WÜST - Über ein oxytocin-abbaundes Ferment aus Schweinneovarien. Naturwissenschaften 41: 238, 1954.
117. FYLLING, P. - Serum and plasma oxytocinase activity during induction of labour. Acta Obstet. Gynecol. Scand. 42: 227-239, 1963.
118. FYLLING, P. - Plasma oxytocinase activity, oestriol and pregnanediol excretion and the effect of induction of labour. Acta Obstet. Gynecol. Scand. 43: 58-63, 1964a.
119. FYLLING, P. - Plasma oxytocinase activity following a single injection of pitocin. Acta Obstet. Gynecol. Scand. 43: 103-106, 1964b.
120. GADDUM, J.H. - The technique of superfusion. Brit. J. Pharmacol. 8: 321-326, 1953a.
121. GADDUM, J.H. - Antagonism between lysergic acid diethylamide and 5-hydroxytryptamine. J. Physiol. (Lond.) 121: 15P, 1953b.
122. GARRET, W.J. - The action of 5-hydroxytryptamine on the human uterus. Arch. Int. Pharmacodyn. 117: 435-443, 1958.
123. GIBBENS, D.; N.R.H. BOYD and T. CHARD - Spurt release

- of oxytocin during human labour. J. Endocrinol. 53: LIV-LV, 1972.
124. GINSBURG, M. and M.W. SMITH - The disappearance of oxytocin from the circulation of rats. J. Physiol. (Lond.) 143: 13P, 1958.
125. GINSBURG, M. and M.W. SMITH - The fate of oxytocin in male and female rats. Brit. J. Pharmacol. 14: 327-333, 1959.
126. GLENDENING, M.B.; M.A. TITUS; S.A. SCHROEDER; G. MOHUN and E.W. PAGE - The destruction of oxytocin - and vasopressin by the aminopeptidases in sera from pregnant women. Amer. J. Obstet. Gynecol. 92: 814-820, 1965.
127. GOEBELSMANN, U. and F.K. BELLER - Separation of cystine-amino-peptidase and leucine - amino - peptidase and their determination in pregnant and nonpregnant women. Z. Clin. Chem. 3: 49-54, 1965.
128. GOLDBARG, J.A. and A.M. RUTENBURG - The colorimetric - determination of leucine aminopeptidase in urine and serum of normal subjects and patients with cancer and other diseases. Cancer 11: 283-291, 1958.
129. GOLUBOW, J.; W.Y. CHAN and V. du VIGNEAUD - Effect of human pregnancy serum on avian depressor activities of oxytocin and desamino-oxytocin. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (N.Y.) 113: 113 - 115, 1963.
130. GOMORI, G. - Chromogenic substrates for aminopeptidase. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (N.Y.) 87: 559-561, 1954.
131. GONZÁLEZ-PANIZZA, V.H. y Y. SICA-BLANCO - Estimacion

- de la ocitocinemia durante el parto inducido por infusion intravenosa de ocitocina. II Congr. Uruguayo de Ginecotocologia. 2: 350-345, 1957.
132. GONZÁLEZ-PANIZZA, V.H.; Y. SICA-BLANCO and C. MÉNDEZ-BAUER - The fate of injected oxytocin in the pregnant woman near term. In "Oxytocin" pp. 347-357, Ed. by R. Caldeyro-Barcia and H. Heller. Oxford. Pergamon Press, 1961.
133. GRASSMANN, W. und K. HANNIG - Varschriften für den betrieb des ELPHOR H. Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem. 250, 1952.
134. GREEN, M.N.; K.C. TSOU; R. BRESSLER and A.M. SELIGMAN - The colorimetric determination of leucine aminopeptidase activity with 1 - leucyl - β - naphthylamide hydrochloride. Arch. Biochem. Biophys. (N.Y.) 57: 458-474, 1955.
135. HALDAR, J. - Independent release of oxytocin and vasopressin during parturition in the rabbit. J. Physiol. (Lond.) 206: 723-730, 1970.
136. HARDY, S.M. and J.M. RITCHIE - Determination of serum oxytocinase (L-cystine - aminopeptidase) activity. Nature 209: 76-77, 1966.
137. HARRIS, G.W. - The innervation and actions of the neuro-hypophysis; an investigation using the method of remote control stimulation. Phil. Trans. B. 232: 385-441, 1947.
138. HARRIS, G.W. - Further evidence regarding the endocrine status of the neurohypophysis. J. Physiol. (Lond.) 107: 436-448, 1948.
139. HASHIMOTO, T. - Studies on l-cystine-amino-peptidase.

Part. II. Clinical observations. J. Jap. Obst. Gynecol. Soc. 8: 96-104, 1961.

140. HATERIUS, H.O. and J.K.W. FERGUSON - Evidence for the hormonal nature of the oxytocic principle of the hypophysis. Amer. J. Physiol. 124: 314 - 321, 1938.
141. HATERIUS, H.O. - Evidence of pituitary involvement in the experimental control of water diuresis. Amer. J. Physiol. 128: 506-513, 1940.
142. HAUSMANN, R. - Papierchromatographische und papierionophoretische Untersuchungen zur Frierlegung und Trennung der Hypophysen-Hinterlappen-Hormone Oxytocin und Vasopressin. Arch. Pharm. Berl., 289: 15-24, 1956.
143. HAWKER, R.W. - Inactivation of antidiuretic hormone - and oxytocin during pregnancy. J. Endocrinol. 13: vP, 1955.
144. HAWKER, R.W. - Inactivation of antidiuretic hormone - and oxytocin during pregnancy. Q. J. Exp. Physiol. (Lond.) 41: 301-308, 1956.
145. HAWKER, R.W. - Antidiuretic substance (ADS) in normal pregnancy and pre-eclamptic toxemia. J. Endocrinol. 14: 400-410, 1957.
146. HAWKER, R.W. and P.A. ROBERTSON - Oxytocin in human female blood. Endocrinology 60: 652-657, 1957.
147. HAWKER, R.W. - Oxytocin in lactating and nonlactating women. J. Cl. Endocrinol. Metab. 18: 54-60 , 1958.
148. HAWKER, R.W. and P.A. ROBERTSON - Some properties of an oxytocic substance found in blood extracts.

Endocrinology 63: 242-249, 1958a.

149. HAWKER, R.W. and P.A. ROBERTSON - Are there two oxytocic hormones? Med. J. Aust. 1: 671-672, 1958b.
150. HAWKER, R.W.; C.F. WALMSLEY; V.S. ROBERTS and P.A. ROBERTSON - Oxytocin and oxytocic substance in blood extracts before and after hypothalamic stimulation in rats. Med. J. Aust. 2: 524 - 525, 1959.
151. HAWKER, R.W. - Oxytocin and an unidentified oxytocic substance in extracts of blood. In "Oxytocin" pp. 425-434. Ed. by R. Caldeyro-Barcia and H. Heller, Oxford. Pergamon Press, 1961.
152. HAWKER, R.W.; C.F. WALMSLEY; V.S. ROBERTS; J.K. BLACKSHAW and J.C. DOWNES - Oxytocic activity of human female blood. Endocrinology 69: 391 - 394, 1961.
153. HENSLEIGH, P.A. and K.E. KRANTZ - Oxytocinase and placental function. Amer. J. Obstet. Gynecol. 107: 1233-1240, 1970.
154. HILTON, J.G. and R.F. JOHNSON - Changes in blood oxytocinase during parturition. Amer. J. Obstet. Gynecol. 78: 479-482, 1959.
155. HOLTON, P. - Modification of the method of Dale and Laidlaw for standardization posterior pituitary extract. Brit. J. Pharm. Chem. 3: 328-334, 1948.
156. HOOPER, K.C. - The action of inhibitors on enzymes from human placentae. J. Physiol. (Lond.) 148: 283-290, 1959.

157. HOOPER, K.C. and D.C. JESSUP - The distribution of enzymes destroying oxytocin and vasopressin in human placentae. J. Physiol. (Lond.) 146: 539-549, 1959.
158. HURRY, D.J.; J.E. TOVEY; D.A. ROBINSON; C.L. BEYNON and K. COOPER - Cystine aminopeptidase in normal and complicated pregnancies. J. Obstet. Gynaec. Brit. Comm. 79: 788-793, 1972.
159. ICHALIOTIS, S.D. et T.C. LAMBRINOPOULOS - Les corrélations entre le poids du placenta et le taux de l' oxytocinase du sérum. Gyn. Obst. (Paris) 63: 543-548, 1964a.
160. ICHALIOTIS, S.D. and T.C. LAMBRINOPOULOS - Preeclampsia associated with decrease in serum oxytocinase. Obstet. Gynecol. (N.Y.) 24: 659-661, 1964 b.
161. ICHALIOTIS, S.D. and T.C. LAMBRINOPOULOS - Serum oxytocinase in twin pregnancy. Obstet. Gynecol. (N.Y.) 25: 270-272, 1965.
162. IMANAGA, H.; T. KONDO and I. MORI - Inactivation of antidiuresis substance by human liver. J. Clin. Endocrinol. and Metab. 17: 1081-1087, 1957.
163. IMAZ, F.U.; M. OTERO y M. del R. CASTINEIRA - Valor prognostico de la ocitocinasa serica en patologia obstetrica. II Reunión de la ALIRH, Viña del Mar, Chile, p.78, 1966.
164. JAMES, N.T. - Histochemical demonstration of oxytocinase in the human placenta. Nature (Lond.) 210: 1276-1277, 1966.
165. JAYARAMAN, S.; S.C. SIKKA; K.S. RAGHAVAN and V.S. MA-

THUR - Oxytocinase production in perfused human placentome. Amer. J. Obstet. Gynecol. 123: 215-216, 1975.

166. JONEK, J.; Z. ZIELIŃSKI; Z. KLIMKIEWICZ i L. DZIECIU CHOWICZ - Lokalizacja niektórych enzymów proteolitycznych w różnych okresach rozwoju łożyska ludzkiego. Gynecol. Pol. 38: 379-388, 1967.
167. JOSEPHIDES, E.C.H. - Serum cystine aminopeptidase "oxytocinase" as an index of placental function. J. Obstet. Gynaec. Brit. Comm. 74: 258-261, 1967.
168. KALLIALA, H. and M. J. KARVONEN - Antidiuresis during suckling in lactating women. Ann. Med. Exp. Fenn. 29: 233-241, 1951.
169. KALLIALA, H.; M.J. KARVONEN and V. LEPPANEN - Release of antidiuretic hormone during nursing in the dog. Ann. Med. Exp. Fenn. 30: 96-107, 1952.
170. KAMM, O.; J.B. ALDRICH; I.W. GROTE; L.W. ROWE and E.P. BUGBEE - The active principle of the posterior lobe of the pituitary gland. J. Amer. Chem. Soc. 50: 573-601, 1928.
171. KANAZAWA, T. - Supplementary studies on blood pitocinase. J. Jap. Obst. Gynecol. Soc. 1: 42-72, 1954.
172. KLEINER, H. et J. GRAFF - Leucine aminopeptidase et grossesse. Soc. Roy. Belg. Gynecol. Obstet., 31: 279-283, 1961.
173. KLEINER, H. et M. RYMENANT - Détermination de l'oxytocinase sérique dans l'insuffisance placentaire et la mort foetale "in utero". Rev. Franç. Études Clin. Biol. 9: 321-325, 1964.

174. KLEINER, H. et G. GRAFF - Evolution de la 1-leucyl- β -naphthylamide-hidrolase (LNA se) sérique et de ses isozymes dans la grossesse humaine normale. Bull. Soc. R. Belge Gynecol. Obstet. 37: 295-302, 1967.
175. KLEINER, H. and M. BROUET - YAGER - Separation of 1-cystinyl-di- β -naphthylamide hydrolase oxytocinase isoenzymes by acrylamide gel electrophoresis of human pregnancy sera. Clin. Chim. Acta 40: 177-180, 1972.
176. KLIMEK, R. und M. PIETRZYCKA - Biochemische Method zur Bestimmung der oxytocinase und ihre Klinische Bewertung. Clin. Chim. Acta 6: 326-330, 1961.
177. KLIMEK, R.; M. PIETRZYCKA and J. GROCHOWSKI - The influence of operative trauma on blood levels of oxytocinase. Clin. Chim. Acta 7: 398-402, 1962.
178. KLIMEK, R. - Biochemia kliniczna w położnictwie i ginekologii układ oksytocyna - oksytocynaza. Gynecol. Pol. 34: 289-300, 1963.
179. KLIMEK, R. - Ciąża i pôród w swietle badań nad układem oksytocyna-oksytochinase. Folia Med. Cracov. 4: 471-489, 1964.
180. KLIMEK, R. - Oksytocynaza w diagnostyce położniczej. Gynecol. Pol. 39: 253-258, 1968a.
181. KLIMEK, R. - Clinical studies on the balance between isooxytocinases in the blood of pregnant women. Clin. Chim. Acta 20: 233-238, 1968b.
182. KLIMEK, R. and R. BIENIASZ - Studies on the relation between serum oxytocinase and course of labor. Amer. J. Obstet. Gynecol. 104: 959-963, 1969.

183. KLIMEK, R.; K. DREWNIAK and A. BIENIASZ - Further studies on the oxytocin-oxytocinase system. - Amer. J. Obstet. Gynecol. 105: 427-430, 1969.
184. KNAGGS - Personal communications. In "Denamur". 1964.
185. KONSCHIEGG, A. und E. SCHUSTER - Ueber einen mit Hypophysenhöchst erfolgreich behandelten Fall von Diabetes Insipidus. Dtsch. Med. Wschr. 41: 1091-1095, 1915.
186. KURIAKI, K. and T. INOUE - Teneur en 5-hydroxytryptamine du placenta et des urines gravides et post-partum. C. R. Soc. Biol. (Paris) 150: 1835-1837, 1956.
187. KUSTNER, H. - Eigenartige Wirkung des Schwangerensersums besonders bei Eklampsie. Arch. Gynäk. - 132: 202-203, 1927.
188. LACRETA, O. - Metabolismo das proteínas na gravidez. Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. S. Paulo 19: 99-105, 1964.
189. LAMBRINOPOULOS, T.C. - Prolonged pregnancy associated with increase in serum oxytocinase. Obstet. Gynecol. (N.Y.) 23: 780-782, 1964.
190. LAMBRINOPOULOS, T.C.; S. ICHALLOTIS und N. CAMBOLIS - Serumoxytocinase bei Schwangerschaftsübertragung und Präeklampsie. Geburtsh. Frauenheilk. 26: 534-536, 1966.
191. LÉBLOVÁ, S. and I. RYCHLÍK - Inhibition of enzymic inactivation of oxytocin by amino acids. - Coll. Czechosl. Chem. Comm. 25: 2926-2929, 1960.
192. LÉBLOVÁ, S.; I. RYCHLÍK and F. ŠORM - Inhibition of the inactivation of oxytocin by means of

- free amino acids. IV Congr. Internat. Biochim.
Vienne, 9: 108, 1958.
193. LEDE, R.E. - The serum proteins in obstetrics. Prensa Med. Argent. 48: 310-320, 1961.
194. LEON, J. and B. BRAIER - Proteins in normal and pathological pregnancy with special study of various globulin fractions. Obstet. y Ginec. Latino-Amer. 4: 804-825, 1946.
195. LETTOW, E. und C. JAEGER - Bestimmung der Leucin - Amino-peptidase - Aktivität im Serum Trächtiger Hündinnen. Zentralbl Veterinaermed. (A) 12: 388-394, 1965.
196. LIDDELOW, B. - Serum proteins levels in normal non pregnant and pregnant women. Med. J. Aust. - 2: 332-334, 1953.
197. LONGSWORTH, L.C.; R.M. CURTIS and R.H. PEMBROKE, Jr. The electrophoretic analysis of maternal and fetal plasma and sera. J. Clin. Invest. 24: 46-53, 1945.
198. MACARTHUR, J.L. - Plasma proteins in pregnancy. Amer. J. Obstet. Gynec. 55: 382-395, 1948.
199. MACCHI, L. - Studio dell' attivita' leucina-amino-peptidasica nella gravidanza protratta. Quad. Clin. Ostet. Gynecol. 21: 1210-1218, 1966.
200. MACK, H.C. - Documenta Geigy, 6a. Ed. pag.621, 1955.
201. MALAGOLI, F. e D.C. FONTANA - Osservazione sul comportamento delle proteine plasmatique nell corso dello stato gravidico e loro valutazione quantitativa in rapporto alle variazioni della volemia. Ann. Obstet. Gynec. 84: 60-79, 1962.

202. MANUNTA, G. - Sull' inattivazione dell' oxitocina nella vaca. Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. 36: 281-284, 1960.
203. MANUNTA, G. e A. MARONGIU - Inattivazione dell' oxitocina "in vivo" negli ovini. Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. 37: 510-512, 1961.
204. MARTINET, J. et M. GILLOIS - Analyse statistique de la sensibilité a l' ocytocine de l' utérus de ratte "in vitro". Ann. Biol. Anim. Biochem. Biophys. 4: 211-228, 1964.
205. MATHUR, V.S. and J.M. WALKER - Oxytocinase in plasma and placenta in normal and prolonged labour. Brit. Med. J. 3: 96-97, 1968.
206. MATHUR, V.S. and J.M. WALKER - The origin of human - placental oxytocinase. J. Physiol. (Lond.) 208: 291-298, 1970.
207. MCGILLIVRAY, I. and J.E. TOVEY - A study of the serum protein changes in pregnancy and toxæmia - using strip paper electrophoresis. J. Obstet. Gynec. Brit. Emp. 64: 361-365, 1957.
208. MCNEILLY, A.S.; J.J. LEGROS and M.L. FORSLING - Release of oxytocin, vasopressin and neurophysin in the goat, J. Endocrinol. 52: 209-210, 1972.
209. MCNEILLY, A.S.; M.J. MARTIN; T. CHARD and I.C. HART - Simultaneous release of oxytocin and neurophysin during parturition in the goat. J. Endocrinol. 52: 213-214, 1972.
210. MELANDER, S.E.J. - Oxytocinase activity of plasma of pregnant women. Nature (Lond.) 191: 176-177, 1961.

211. MELANDER, S.E.J. - Plasma oxytocinase activity. A methodological and clinical study with special reference to pregnancy. Acta Endocrinol. (Copenhagen) 48 (suppl. 96) 1-94, 1965.
212. MELANDER, S.E.J. - Oxytocinase studies. III Reunião - da ALIRH, Salvador - Brasil, 1968.
213. MENA, F.; J.G. ANGUIANO and C. BEYER - Release of oxytocin by stimulation of the caudal part of the hypothalamus. Bol. Inst. Estud. Med. Biol. Univ. Nac. Méx. 19: 119-124, 1961.
214. MÉNDEZ-BAUER, C. y R. CALDEYRO-BARCIA - Inactivación de la ocitocina (natural y sintética) por el plasma de la mujer grávida. I Reunión Científica de la ALACF, Uruguay, p. 124, 1957.
215. MÉNDEZ-BAUER, C. y M.A. CARBALLO - Inactivación de la ocitocina por el plasma de la mujer grávida y por extractos placentarios. IV Congr. Panam. Endocrinol. Buenos Aires, pp. 293 - 294, 1957a.
216. MÉNDEZ-BAUER, C. y M.A. CARBALLO - Método para la determinación cuantitativa de la ocitocinasa. II Congr. Uruguayo de Ginecología y Obstetricia 2: 291-299, 1957b.
217. MÉNDEZ-BAUER, C.J.; M.A. CARBALLO y S.V. POSE - Importancia de la placenta en la inactivación de la ocitocina. III Congr. Latin. Americano de Obstetricia y Gynecologia 2: 24-26, 1958.
218. MÉNDEZ-BAUER, C.J.; M.A. CARBALLO; H.M. CABOT; C.E. NEGREIROS DE PAIVA and V.H. GONZÁLEZ-PANIZZA - Studies on plasma oxytocinase. In "Oxytocin" pp. 325-335, Ed. by R. Caldeyro-Barcia and H. Heller. Oxford Pergamon Press, 1961.

219. MENON, K.K.K.; M. WILLMOTT and N. RAMASWAMY - The electrophoretic pattern of serum protein in anemia in pregnancy. J. Obstet. Gynaec. Brit. Comm. 70: 57-62, 1963.
220. MESSINA, A. e A. CISTERMINO - L'ossitocinase serica nella iperdistensione uterina (gravidanza gemellare, poliamnios, macrosomia fetale). Clin. Gin. 7: 350-355, 1965.
221. MESSINA, A. e A. CISTERMINO - Gli effetti della somministrazione degli estrogeni sul tasso della ossitocinase serica nella gravidanza protratta. Bol. Soc. Ital. Biol. Sper. 44: 215-217, 1968.
222. MILLER, Z.B.; E. NAOR; L. MILKOVICH and W.M. SCHMIDT - Serum levels of cystine aminopeptidase, leucine aminopeptidase, and alkaline phosphatase - in single and twin pregnancies. Obstet. Gynecol. (N.Y.) 24: 707-715, 1964.
223. MILLES, G.; J.B. TETON and A.J. RABINOVITZ - Electrophoretic studies of serum proteins in pregnancy and the puerperium and in newborn infants. Amer. J. Obstet. Gynec. 79: 99-107, 1960.
224. MOIR, C. - The effect of posterior lobe pituitary gland fractions on the intact human uterus. J. Obstet. Gynaec. Brit. Emp. 51: 181-197, 1944.
225. MOLNÁR, E. és T. ISTVÁN - Adatok a gestatio alatti plasma-oxytocinase aktivitás alakulásához. Orv. Hetilap. (Budapest) 110: 1903-1906, 1969.
226. MÜLLER, H.A. - Qualitative and quantitative studies of the effect of oxytocin on uterine contractility. In "Oxytocin" pp. 137-157, Ed. by R. Cal-

deyro-Barcia and H. Heller. Oxford. Pergamon Press, 1961.

227. MÜLLER-HARTBURG, W. - Neuere Erkenntnisse über die oxytocinase des Schwangerenserums. Wien. Klin. Wochenschr. 72: 208-211, 1959.
228. MÜLLER-HARTBURG, W.; H. NESVADBA und H. TUPPY - Die Anwendung einer chemischen Methode zur Bestimmung des Oxytocinasespiegels im Schwangerenserum. Arch. Gynäk. 191: 442-456, 1959.
229. NEUWEILER, W. - Shifting of serum proteins bodies. Z. Geburtsh. Gynaek. 121: 317-330, 1940.
230. NIBBELINK, D.W. - Paraventricular nuclei, neurohypophysis and parturition. Amer. J. Physiol. 200: 1229-1232, 1961.
231. NICCOLI, V. e M. CIMELLARO - Sul comportamento dell'ossitocinasi serica durante la gravidanza, il parto ed il puerperio. Quad. Clin. Ostet. Ginec. 17: 709-714, 1962.
232. NIXON, W.C. and C.N. SMITH - Physiological and clinical aspects of uterine action. J. Obstet. Gynaec. Brit. Emp. 64: 35-46, 1957.
233. OLIVECRONA, H. - Relation of the paraventricular nucleus to the pituitary gland. Nature (Lond.) 173: 1001, 1954.
234. OLIVECRONA, H. - Paraventricular nucleus and pituitary gland. Acta Physiol. Scand. 40, suppl. 136 : 1-178, 1957.
235. OLIVELLI, F. e P. RUGGIERI - Sulla presenza e sul significato degli antigeni placentari nel siero di donna gravida. Minerva Ginecol. 10: 953 - 958, 1958.

236. OLIVER, G. and E.A. SCHÄFER - On the physiological -
action of extracts of pituitary body and cer-
tain other glandular organs. J. Physiol. -
(Lond.) 18: 276-279, 1895.
237. OUDHEUSDEN , A. P. M. - Kinetic determination of se-
rum oxytocinase in last trimester of pregnan-
cy. Clin. Chim. Acta 32: 140-141, 1971.
238. OUDHEUSDEN , A. P. M. - Kinetic determination of se-
rum oxytocinase using a new substrate. Z.
Klin. Chem. Klin. Biochem. 10: 345-346, 1972.
239. PAABY, P. - Changes in serum proteins during pregnancy.
J. Obstet. Gynaec. Brit. Emp. 67: 43-55 ,
1960.
240. PAGE, E.W. - The value of plasma pitocinase determina-
tions in obstetrics. Amer. J. Obstet. Gynecol .
52: 1014-1022, 1946.
241. PAGE, E.W. - A blood test for stimating the week of
pregnancy. Science 105: 292-293, 1947.
242. PAGE, E.W.; M.A. TITUS; G. MOHUN and M.B. GLENDENING -
The origin and distribution of oxytocinase .
Amer. J. Obstet. Gynecol. 82: 1090-1095 ,
1961.
243. PARKASH, V.E.D. and R.R. ANDERSON - Pituitary and
blood plasma oxytocic activity and oxytocin -
disappearance rats in cattle. J. Dairy. Sci.
55: 75-79, 1972.
244. PEETERS, J.A.B.M. - Automated determination of serum
oxytocinase activity. Clin. Chem. 18: 563 -
564, 1972.
245. PEETERS, G. and R. COUSSENS - The influence of the
milking act of the diuresis of the lactating

- cow. Arch. Int. Pharmacodyn. 84: 209-220 ,
1950.
246. PERITI, P.; A. CENTARO e G. LAURENTIIS - Attività ossitocinasi nell' utero di donna in travaglio di parto ed in condizioni diverse dalla gravidanza. Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. 37: 453-455, 1961a.
247. PERITI, P.; A. CENTARO e G. de LAURENTIIS - Ossitocina nel sangue di donna in travaglio di parto. Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. 37: 455 - 458, 1961b.
248. Pharmacological experiments on isolated preparation ,
1968.
249. POCH, G.; L.A. MARTINEZ; E. HOLZER und W. HOHLWEG - Vergleich der Oxytocinase-aktivitaet des Scirums mit der Ausscheidung von Choriongonadotropin und oestriol Waehrend der Zweiten Schwangerschaftshaelfte. Arch. Gynaek. 208: 416-429, 1970.
250. POJEROVÁ, J. u J. TOVÁREK - Sérová leucinaminopeptidáza u těhotných a u novorozencu. Čas. Lék. Čes. 106: 1302-1305, 1967.
251. POLACEK, E.; H. HORNYCHOVA and J. KORCAKOVA - The activity of plasma oxytocinase in the cord blood and in newborns during the first days of life. Biol. Neonate 15: 309-314, 1970.
252. POSEIRO, J.J. and L. NORIEGA-GUERRA - Dose-response relationships in uterine effects of oxytocin infusions . In "Oxytocin" pp. 158-176, Ed. by R. Caldeyro-Barcia and H. Heller. Oxford. Pergamon Press, 1961.

253. REBOUD, P.; J. GROULADE; P. GROSLAMBERT and M. COLOMB
- The influence of normal pregnancy and the
post-partum state on plasma proteins and
lipids. Amer. J. Obstet. Gynec. 86: 820-829,
1963.
254. REES, H.G. - Some effects of oxytocin "in vitro" on
rat uterine smooth muscle. J. Reprod. Fert.
24: 417-421, 1971.
255. REID, G. and M. RAND - Physiological actions of the
partially purified serum vasoconstrictor (se
rotonin). Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. 29:
401-415, 1951.
256. REJNEK, J.; T. BEDNARIK and V. KNESSLOVÁ - The trans
fer of heterologous ¹³¹I gamma globulin from
the maternal into the fetal circulation.
Physiol. Bohemoslov. 10 (fasc. 3): 453-460 ,
1967.
257. RENNELS, E.G. and G.A. DRAGER - The relationship of
pituicytes to neurosecretion. Anat. Rec.
122: 193-203, 1955.
258. RESSLER, C. - Inactivation of oxytocin suggesting pep
tide denaturation. Science 128: 1281-1282 ,
1958.
259. REYNOLDS, S.R.M. and J.D. MACKIE - Ineffectiveness of
pitocin on the sheep gravid uterus: the role
of pitocinase. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. -
(N.Y.) 108: 649-651, 1961.
260. RIAD, A.M. - Studies on pregnancy serum cystine amino
peptidase activity "oxytocinase". J. Obstet.
Gynaec. Brit. Comm. 69: 409-416, 1962.
261. RIAD, A.M. - Changes in pregnancy serum oxytocinase -
activity during oxytocin infusion and their

physiological significance. J. Obstet. Gynaec. Brit. Comm. 73: 977-982, 1966.

262. RIAD, A.M. - Studies on the enzymatic degradation of oxytocin and vasopressin by human pregnancy sera. Acta Endocrinol. (Copenhagen) 54: 618-628, 1967.
263. RIAD, A.M. and F.J. SCANDRETT - Distribution of cystine aminopeptidase activity (oxytocinase) in human pregnancy sera. Nature (Lond.) 193: - 372-373, 1962.
264. RIMBACH, E. and R. SCHREINER - Leucin aminopeptidase (LAP) in the blood serum during gestation - (human). Med. Welt. 51: 3118-3120, 1967.
265. RITTNER, C. - Über den immunologischen Nachweis von Aminopeptidasen, insbesondere der Oxytocinase (Cystinaminopeptidase). Z. Immunitätsforsch. Allerg. Klin. Immunol. 131: 422-433, 1966.
266. RODERICH, W. and H. SHLANK - "In vivo" inactivation of oxytocin. Endocrinology 89: 990-995, 1971.
267. RYDÉN, G. and I. SJÖHOLM - Half-life of oxytocin in blood of pregnant and non-pregnant women. Acta Endocrinol. (Copenhagen) 61: 425-431, 1969.
268. RYDÉN, G. - Cystine aminopeptidase activity in pregnancy. Acta Obstet. Gynecol. Scand. 50: 253 - 257, 1971.
269. RYDÉN, G. - Cystine aminopeptidase activity in pregnancy. II. Its clinical application as an index of placental function. Acta Obstet. Gynecol. Scand. 51: 329-334, 1972.

270. SAWYER, W.H. - Inactivation of oxytocin (pitocin, posterior preparation) by homogenates of uteri and other tissues from normal and pregnant rats. (role of oxytocinase). Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (N.Y.) 87: 463-465, 1954.
271. SCHARRER, E. and B. SCHARRER - Hormones produced by neurosecretory cells. Recent. Prog. Hormone. Res. 10: 183-232, 1954.
272. SCHILD, H.O.; R.J. FITZPATRICK and W.C.W. NIXON - Activity of the human cervix and corpus uteri. Their response to drugs in early pregnancy. Lancet 260: 6649, 1951.
273. SCHNEIDER, W. und Ch. STUMPF - Über den einfluss des Sexual cyclus auf hypophysenhinterlappenextrakt-Auswertungen nach der Method von P. Holton. Arch. Int. Pharmacodyn. 94: 406-415, 1953.
274. SCHÖN, H.; B. RÄSSLER und H.J. WEYERGRAF - Zur Bestimmung der Leucinaminopeptidase-Aktivität im Serum. Z. Klin. Chem. 1: 73-78, 1963.
275. SCHOULTZ, B. and T. STIGBRAND - Purification of the "pregnancy zone" protein. Acta Obstet. Gynecol. Scand. 52: 51-57, 1973.
276. SCIARRA, J.J. and D.A. BURRESS - Serum leucine aminopeptidase in twin pregnancy. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (N.Y.) 104: 712-713, 1960.
277. SCIARRA, J.J. - The serum leucine aminopeptidase assay in obstetrics. Bull. Sloane. Hosp. Wom. 8: 7-13, 1962.
278. SEELIG, H.P. und R. ROEMHELD - Untersuchungen zur histochemischen Lokalisation der Leucin -

und Cystinaminopeptidase (Oxytocinase) in der Placenta. Histochemie 18: 30-39, 1969.

279. SEELIG, H.P. and E. LASSEN - Die Beeinflussung der TCA calcitoninaktivitaet durch Retroplacentaserum und Cystinaminopeptidase (oxytocinase). Z. Gesamte Exp. Med. Exp. Chir. 154: 265-273 , 1971.
280. SEMM, K. - Die klinische Bedeutung der oxytocinase bestimmung. Klin. Wochenschr. 35: 817-818, 1955.
281. SEMM, K. - Der Abbau von synthetischem oxytocin. Naturwissenschaften 44: 424-428, 1957.
282. SEMM, K. - Die Bildungstätte der Serum-oxytocinase. Arch. Gynäk. 191: 57-64, 1958.
283. SEMM, K. - Die geburtshilfliche Bedeutung der Serumoxytocinase. Bibl. Gynaec. 20: 171-173, 1959a.
284. SEMM, K. - Zum problem der Wehen. Munch. Med. Wochenschr. 101: 1090-1093, 1959b.
285. SEMM, K. und E. WAIDL - Histochemische Untersuchungen Über die Serum-Oxytocinase-Bildung im menschlichen Trophoblasten. Z. Geburtsh Gynaekol. - 158: 165-171, 1962.
286. SEMM, K. und H.J. WIENDL - Über Oxytocin inaktivierende Gewebeextrakte. Zbl. Gynäk. 84: 1669-1674, 1962.
287. SEMM, K. und J. BERNHARD - Zur Diagnostik des placenta - ren Stoffwechsels durch die Serum-Oxytocinase Bestimmung im mütterlichen Blut. Arch. Gynäk. 199: 271-278, 1963.
288. SEMM, K. und J. BERNHARD - Steigerung des mütterlichen

Serum-Oxytocinase-Spiegels durch Gestagenverabreichung bei Abortus imminens. Geburts - hilfe Frauenheilkd 11: 980-985, 1964.

289. SICA-BLANCO, Y. y V. H. GONZÁLEZ-PANIZZA - Velocidad de eliminación de la ocitocina en la mujer - grávida. II Congr. Uruguayo de Ginecotocología 2: 117-123, 1957.
290. SIEGEL, J.A. - Leucine aminopeptidase in pregnancy . Obstet. Gynecol. 14: 488-490, 1959.
291. SIMKO, J. - Zmeny aktivity oxitocinazy a oxytocínu v krvipo induki pôrodu oxytocínom. Bratisl. Lek. Listy. 56: 15-20, 1971.
292. JINGH, H.; L. RAMAKUMAR and I.D. JINH - Serum proteins in pregnancy at term. J. Obstet. Gynaec. Brit. Comm. 74: 254-257, 1967.
293. SJÖHOLM, I. - Enzymatic inactivation of oxytocin. Acta Chem. Scand. 18: 889-898, 1964.
294. SJÖHOLM, I.; L. YMAN and E. SANDBERG - Purification of oxytocinase (cystine aminopeptidase) by ethanol fractionation. Acta Pharm. Suec. 2: 261-266, 1965.
295. SJÖHOLM, I. and L. YMAN - Preparation of highly purified oxytocinase (cystine aminopeptidase) - from retroplacental serum. Acta Pharm. Suec. 3: 377-388, 1966a.
296. SJÖHOLM, I. and L. YMAN - Electrophoretic studies on oxytocinase (cystine aminopeptidase). Relation between electrophoretically found "isozymes". Acta Pharm. Suec. 3: 389-396, 1966b.
297. SJÖHOLM, I. - Biochemical studies on oxytocin and

- oxytocinase. Acta Pharm. Suec. 4: 81-96 ,
1967.
298. SJÖHOLM, I. and G. RYDÉN - Half-life of oxytocin and lysine-vasopressin in blood of rat at different hormonal stages. Acta Pharm. Suec. 4: 23-30, 1967.
299. SJÖHOLM, I. and L. YMAN - Degradation of oxytocin , lysine-vasopressin, angiotensin II and angiotensin-II-amide by oxytocinase (cystine aminopeptidase). Acta Pharm. Suec. 4: 65-76 , 1967.
300. SJÖHOLM, I. - Oxytocinase and its possible significance in the degradation of oxytocin during pregnancy. F.E.B.S. Letters 4: 135-139 , 1969.
301. SJÖHOLM, I. and G. RYDÉN - Uptake of oxytocin in tissues after intravenous administration of tritiated oxytocin in rats. Acta Endocrinol. (Copenhagen) 61: 432-440, 1969.
302. SKRAMOVSKY, B.; B. VECEREK; M. BENDOVA and V. TRNKA - Fluorimetric determination of cystine aminopeptidase-oxytocinase in blood serum. Clin. Chim. Acta 35: 335-357, 1971.
303. SMALL, C.W. and W.B. WATKINS - An improved method for the determination of human pregnancy serum oxytocinase activity. Enzymologia 41: 121 - 128, 1971a.
304. SMALL, C.W. and W.B. WATKINS - Immunohistochemical localization of some placental enzymes. N. Z. Med. J. 74: 338, 1971b.
305. SMITH, E.K.; R.R. ALVAREZ and J. FORSANDER - Serum -

- proteins, lipid and lipoprotein fraction in normal human pregnancy. Amer. J. Obstet. Gynecol. 77: 326-344, 1959.
306. SMITH, E.E.; E.P. PINEDA and A.M. RUTENBURG - Localization of serum leucine aminopeptidase activity by paper electrophoresis. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., (N.Y.) 110: 683-687, 1962.
307. SMITH, E.E. and A.M. RUTTENBURG - Electrophoretic behavior of an aminopeptidase of human and serum. Nature (Lond.) 197: 800-801, 1963.
308. SMITH, E.E. and A.M. RUTTENBURG - Studies of serum - aminopeptidase in pregnancy, hidatiform mole, and choriocarcinoma. Amer. J. Obstet. Gynecol. 96: 301-304, 1966.
309. SOKOL, H.W. - Evidence for oxytocin in synthesis after electrolytic destruction of the paraventricular nucleus in rats with hereditary hypothalamic diabetes insipidus. Neuroendocrinology 6: 90-97, 1970.
310. STANDER, H.J. and J.B. PASTORE - Weight changes during pregnancy and puerperium. Amer. J. Obstet. Gynec. 39: 928-937, 1940.
311. STOKLASKA, E. und E. WINTERSBERGER - Zum Mechanismus des Oxytocin - und Vasopressin-Abbaues durch Schwangerenserum. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Exp. Path. Pharmac. 236: 358-364, 1959.
312. TARLI, P. - Cistin-aminopeptidase (CAP): caratteristiche chimiche, chimico-fisiche e sua possibile importanza nello stato gravidico. Quad. Scavo. Diagn. Clin. Lab. 5: 393-412, 1969.
313. THEOBALD, G.W. - The separate release of oxytocin and

- antidiuretic hormone. J. Physiol. (Lond.)
149: 443-461, 1959.
314. TIMOSHENKO, L.V. - The pitocin and pitocinase content in the blood in parturient women with uterine inertia. Abstract in Excerpta Med. Obstet. Gynecol. 14: 70, 1961.
315. TISELIUS, A. - Electrophoresis of serum globulin, electrophoretic analysis of normal and immune sera. Biochem. J. 31: 1464-1477, 1937.
316. TITUS, M.A.; D.R. REYNOLDS; M.B. GLENDENING and E.W. PAGE - Plasma aminopeptidase activity (oxytocinase) in pregnancy and labor. Amer. J. Obstet. Gynecol. 80: 1124-1128, 1960.
317. TOVEY, J.E. - The significance of electrophoretic serum proteins changes in pregnancy. J. Obstet. Gynaec. Brit. Emp. 66: 981-982, 1959.
318. TOVEY, J.E. - Serum oxytocinase. Clin. Biochem. 2: 289-310, 1969.
319. TOVEY, J.E.; P.J.G. DAWSON and K.P. FELLOWES - Evaluation of S-benzyl-L-cystine-4'-nitroanilide as a substrate for serum cystine aminopeptidase. Clin. Chem. 19: 756-761, 1973.
320. TULZER, H. - Über die Beziehungen zwischen Placenta- und fetalen Serum. Arch. Gynäk. 192: 7-26, 1959.
321. TUPPY, H. und H. NESVADBA - Über die Aminopeptidaseaktivität des Schwangerserums und ihre Beziehung zu dessen Vermögen, oxytocin zu inaktivieren. Monatsh. Chem. 88: 977-988, 1957.
322. TUPPY, H. - Biochemical studies on oxytocinase. In

- "Oxytocin" pp. 315-324., Ed. by R. Caldeyro - Barcia and H. Heller. Oxford. Pergamon Press, 1961.
323. TUPPY, H.; U. WIESBAUER und E. WINTERSBERGER - Amino - säure -p-nitroanilide als Substrate für Amino peptidasen und andere proteolytische Fermente. Z. Physiol. Chem. 329: 278-288, 1962.
324. TUPPY, H. and E. WINTERSBERGER - Investigations of pregnancy serum of oxytocinase. Int. Pharm. - Meeting Biochem. Pharm. 12 (suppl. 227): 143-151, 1963.
325. VAN DYKE, H.B. - Some features of the pharmacology of oxytocin. In "Oxytocin" pp. 48-67, Ed. by R. Caldeyro-Barcia and H. Heller. Oxford. Pergamon Press, 1961.
326. VANE, J.R. - The use of isolated organs for detecting active substances in the circulating blood. Brit. J. Pharmacol. 23: 360-373, 1964.
327. WALMSLEY, 1963 - Thesis of University of Bristol. In: Denamur.
328. WATKINS, W.B. - Neurophysins of the human pituitary gland. J. Endocrinol. 51: 595-596, 1971.
329. WATKINS, W.B. and C.W. SMALL - An automated method for the measurement of serum aminopeptidase - activity with particular reference to cystine aminopeptidase. Biochem. Med. 6: 62-89, 1972a.
330. WATKINS, W.B. and C.W. SMALL - Immunologic inactivation of human pregnancy serum oxytocinase activity. Amer. J. Obstet. Gynecol. 113: 973 - 978, 1972b.
331. WERLE, E. und G. EFFKEMANN - Über die oxytocinabbauend

- Fähigkeit des Schwangerenblutes. Arch. Gynäk. 171: 286-290, 1941.
332. WERLE, E. und A. KALVELAGE - Über die Vasopressin - inaktivierende Kraft des Blutes von Schwangeren und die Natur des inaktivierenden Prinzips. Biochem. Z. 308: 405-412, 1941.
333. WERLE, E.; A. HEVELKE und K. BUTHMANN - Zur Kenntnis des oxytocinablaufenden Prinzips des Blutes. Biochem. Z. 309: 270-282, 1941.
334. WERLE, E. und G. EFFKEMANN - Zur Kenntnis des Histaminstoffwechsels während der Schwangerschaft. Arch. Gynäk. 172: 448-454, 1942.
335. WERLE, E.; K. SEMM und R. ENZENBACH - Über die oxytocinase des Schwangerenblutes und der Erythrocyten. Arch. Gynäk. 177: 211-217, 1950.
336. WERLE, E. und K. SEMM - Aktivitätsbestimmung der Serum-oxytocinase als Schwangerschaftsnachweis. Klin. Wochenschr. 29: 544-545, 1951.
337. WERLE, E. und K. SEMM - Methode zur Schwangerschaftsdiagnose mit Bestimmung des Alters der Frucht. Arch. Gyn. Münch. 187: 106-111, 1955.
338. WERLE, E. und K. SEMM - Über die oxytocinase des Schwangerenblutes. Arch. Gynäk. 187: 449 - 457, 1956.
339. WINTERSBERGER, E. und H. TUPPY - Zonen - Elektrophorese von Amino-peptidasen in Stärkegel. Mh. F. Chem. 91: 407-412, 1960.
340. WINTERSBERGER, E.; W. MÜLLER-HARTBURG und H. TUPPY - Eine einfache Methode zur Chemischen Bestimmung der Oxytocinaseaktivität in Schwangerenseren. Clin. Chim. Acta. 14: 786-792, 1966.

341. WIKVIST, N.; I. WIKVIST; C.A. FIELITZ and R. CALDEY - RO-BARCIA - Effects of oxytocin on the uterine response to electrical stimulation. Acta Endocrinol. (Copenhagen) 41: 161-169, 1962.
342. WOODBURY, R.A.; R.P. AHLQUIST; B. ABREU; R. TORPIN and W.G. WATSON - The inactivation of pitocin - and pitressin by human pregnancy blood. J. Pharmacol. Exp. Ther. 86: 359-365, 1946.
343. YMAN, L. and I. SJÖHOLM - Some physico-chemical properties of oxytocinase (cystine aminopeptidase). Acta Pharm. Suec. 4: 13-22, 1967.
344. YMAN, L. and B. KULLING - A convenient method for purification of an aminopeptidase fraction, including oxytocinase (cystine aminopeptidase), from retroplacental serum. Acta Pharm. Suec. 6: 313-319, 1969.
345. YMAN, L. - Composition of oxytocinase (cystine aminopeptidase): amino acid and sugar analysis - and some studies on the carbohydrate polipeptide linkage and orientation of sialic acid. Acta Pharm. Suec. 7: 29-36, 1970.
346. ZIMMERMAN, E.A.; A.G. ROBINSON; M.K. HUSAIN; M. ACOSTA; A.G. FRANTZ and W.H. SAWIER - Neurohypophysial peptides in the bovine hypothalamus: the relation-ship of neurophysin I to oxytocin, and neurophysin II to vasopressin in supraoptic and paraventricular regions. Endocrinology 95: 931-936, 1974.
347. ZSOLNAI, B.; J. SOMOGYI; Z. SZARVAS und E. PUSKÁS - Über die Rolle der eiweisspaltenden Enzyme in der Schwangerschaft. Acta Chir. Acad. Sci. Hung. 5: 207-218, 1964.