

BIRÁLAT

Gáspár Róbert

Régi és új támadáspontok a korai fájástevékenység gátlására című MTA Doktori Értekezésének

Témaválasztás

A disszertáció témaválasztása kiemelkedő fontosságú több szempontból is:

Demográfiai vonatkozások.

A korai fájástevékenység gátlása és a koraszülések megelőzése demográfiai jelentőséggel is bír. Ismeretes ugyanis, hogy Magyarország népessége évek óta csökkenő tendenciát mutat, amelyet a gyermekvállalást támogató intézkedések sem tudtak visszafordítani. A koraszülés, mint a disszertáció bevezetőjében is olvashatjuk, magas halálozással jár. A korai fájástevékenység gátlása a koraszülések számának csökkenése csökkenti a perinatális mortalitást és így hozzájárul a népességfogyás mérsékléséhez.

Ezzel párhuzamosan említendő, hogy a korai fájástevékenység következtében kialakuló koraszülés és annak esetleges következményei, az újszülöttet érintő hátrányok mellett súlyos, eseteként egész életre kiható traumát, életmód változást, fokozott anyagi terhet okozhatnak a szülőknek, a családnak.

A koraszülés okozta problémák megelőzése, mérséklése szorosan összefügg az újszülött osztályok kellő műszerezettségével, mely felétele annak, hogy a koraszülés okozta hátrányok, komplikációk megfelelő kezelése megtörténjen. Mindez jelentős anyagi ráfordítást igényel.

A disszertáció általános értékelése

Mindenekelőtt hangsúlyozandó, hogy a disszertáció eredményei és következtetései igen jelentős kísérletes munkán alapulnak. A jelölt 20 év kutatómunkáját foglalta össze, melyet Falkay professzorral kezdett, aki a reprodukciós farmakológiai kiemelkedő képviselője volt.

A disszertáció terjedelme 180 oldal, az irodalmi hivatkozások nélkül 157. Az olvasó jól követheti azt a logikai folyamatot, ahogy a jelölt a kísérleteket felépítette és így a nagy volumenű munka jól követhető, és egy szellemi kaland, ahogy az újabb és újabb kérdés felvetésre a kísérleti eredmények választ adnak.

A disszertáció könnyen olvasható, igényes fogalmazással, jó stílusban megírt munka, 94 ábrát és 3 táblázatot tartalmaz. Az ábrák áttekinthetők, igényesek, néhány ábrán a betű nagyság indokolatlanul kicsi, nehezen olvasható (pl. 33, 39, 42, 43 ábrák).

Külön kiemelendő és dicséretes a disszertáns törekvése a magyar szakmai nyelv használatra.

A disszertáció három fő témakört ölel fel:

1. Adrenerg receptorok (alfa1, alfa2, beta2 receptorok és szubtypusaik) mediált hatások vizsgálata vemhes patkány méhkontrakciókra és cervikális rezisztenciára, valamint császármetszésből származó humán uterusz szöveten. A kísérleteket kiterjesztették különböző kombinációk vizsgálatára is.
2. Peptidek hatása a méhkontrakciókra. A fejezet tárgyalja továbbá az obezitás és gyulladás hatását a méhkontrakciókra.
3. Tokoferol és COX-gátlók hatása a méhkontrakcióra és a cervix rezisztenciára.

A dolgozat tagolása a klasszikus formát követi:

Bevezetés (8 oldal), Célkitűzések (1 oldal), Módszerek (14 oldal), Eredmények (90 oldal), Megbeszélés (30 oldal), Összefoglalás (5 oldal), Új megállapítások (2 oldal), amit követ Az értekezés alapjául szolgáló közlemények listája, a Tudományometriai táblázat, Irodalom jegyzék (21 oldal) és a Köszönetnyilvánítás.

Bevezetés: Viszonylag rövid, melyben a koraszüléssel kapcsolatos egyéni és társadalmi problémák, a rizikó faktorok mellett a fenyegető koraszülés akut kezelésére, ill. a megelőzésre használatos vegyületeket foglalja össze.

Módszerek: A disszertáns a célkitűzés megvalósításához nagyszámú módszert használ, az in vitro izolált szervi (humán, patkány uterus csíkok, patkány cervix gyűrű) és patkányon in vivo vizsgálatok (pl. koraszülés modellek, uterusz kontraktilitási vizsgálatok, ellési idő mérése) mellett számos molekuláris mechanizmus vizsgálatára alkalmas módszert is alkalmazott, mint pl. GTP γ S kötési vizsgálatok, Western blot analízis, Real Time PCR vizsgálatok, radioimmun mérések, fluoreszcens immunhisztokémiai vizsgálatok, stb.

Eredmények: Több alfejezetben az eredmények ismertetése előtt bevezetesként az adott témakör legfontosabb jellemzőit, irodalmi hátterét és a méhtevékenységre irányuló vizsgálatának indokoltságát összegzi röviden. Bár tradicionálisan a vizsgálandó témakör tárgyalása a Bevezetés része szokott lenni, ez a felépítés szerencsésnek mondható a nagy

számú kísérlet miatt, mivel így szerves egységet képez az elméleti háttér, a kérdés felvetés és a válasz.

A **Megbeszélés** fejezet jól áttekinthető, tagolt, a célkitűzések alapján, pontokba szedve diszkutálja a kapott eredményeket a jelölt.

Az **Összefoglalásban** kiemelném a 3. Táblázatot, mely összegzi a disszertációban leírt lehetséges tokolitikus célpontokat, hatásmechanizmusokat és kombinációs lehetőségeket.

Az **Új megállapítások** fejezet 14 pontban foglalja össze a kísérletek alapján nyert új eredményeket.

A közlemények jegyzéke és a tudománymetriai mutatók

A jelölt cikkeinek száma 120, ebből 51 esetben első vagy utolsó szerző. A disszertáció alapjául szolgáló közlemények száma 30, 27 esetben első vagy utolsó szerző, és a folyóiratok melyekben a cikkek publikációra kerültek 9 esetben D1-es és 8 esetben Q1-es minősítésűek.

Összes hivatkozások száma 1161, független hivatkozások száma 804.

Hissch index: 19, g index:18.

Legfontosabb eredmények:

Előrebocsátom, hogy a kísérletek alapján lényegesen több eredmény is kiemelhető lenne, és a felsorolt eredményeknek is számos vonzata van, melyeket a disszertáns tárgyalt. Azonban terjedelmi okok miatt csak a legfontosabbnak ítélt eredményeket emelem ki.

1. Béta2-AR agonisták és alfa1A-AR-blokkolók fokozzák a cervix rezisztenciát és az uterus relaxációt vemhes patkányokon.
2. Az alfa2B-AR gátlók szintén potenciális gyógyszerfejlesztési célpontok lehetnek uterus relaxáló és cervix rezisztencia növelő hatásuk miatt.
3. Kombinációk közül kiemelendő a *béta2-AR agonisták P4-el való kombinációja, mely jelentősen fokozta a béta2-AR agonisták uterorelaxáns hatékonyságát, részben a béta2-AR expresszió növekedése, másrészt az intracelluláris cAMP emelkedése révén.*
4. Igéretes kombinációk továbbá a *béta2-AR agonisták kalcium csatorna blokkolókkal (legjelentősebb uterorelaxáns hatás fokozódás) ill. PDE4 gátlóval (gyulladás miatt bekövetkező koraszülés gátlására).*

Két adrenerg rendszerre ható vegyület kombinációja, a *béta2-AR agonista és alpha1A-AR antagonist*a kombinációja szintén jelentősen növelte az uterorelaxáns

hatást (preeclampsia, valamint terhességi hipertónia esetén javallt).

Végül a *béta2-AR agonisták+AKAP-PK* gátló, FMP-API-kombináció nagy mértékben fokozta a *béta2-AR*-okozta relaxációt a fokozott cAMP képződés révén.

5. P4 és E2 kezelés vizsgálata az adrenerg receptor szubtypusaira azt mutatta, hogy az E2 előkezelés valamennyi alfa2-AR szubtypus expresszióját csökkentette, ugyanakkor a P4 előkezelés hatására valamennyi receptor szubtypus expressziója fokozódott és jelentős kontrakció csökkentő és cAMP szint emelő hatást eredményezett.
6. Peptidek közül a *nociceptin* és a *nocistatin* mind a patkány, mind pedig humán uterusban termelődik és szerepet játszik a méhrelaxációs folyamatokban a cAMP fokozott képződése révén, részben az ORL1 receptor mediált úton (nociceptin), részben indirekt módon, a CGRP felszabadulásán keresztül.
7. A *kisspeptin*, *leptin* és *adiponectin* a vemhesség korábbi szakaszában gátolják patkány méh kontrakciókat, mely hatás a későbbiekben gyengül. A cervixen a kisspeptin és az adiponectin a vemhesség végén csökkenti a rezisztenciát, ami esetleges tokolitikus terápia során kedvezőtlen lehet.
8. Gyulladásos koraszülés modell igazolta, hogy a LPS kezelést követően megnövekedett a TNFalfa szint a szérumban, mely szerepet játszik a béta2-AR agonista terbutalin fokozott relaxációs hatásában, köszönhetően a fokozott cAMP termelésnek.
9. A COX gátlók vemhes uteruson relaxáló hatással rendelkeztek a KCl-al kiváltott kontrakciókkal szemben, amit az antioxidáns tocoferol nem befolyásolt. Ezzel szemben a terbutalin cervix rezisztenciát fokozó hatását a tokoferol gyengíti, míg a COX-gátlók cervix rezisztenciát csökkentő hatását erősíti. Tehát a tokoferol terhesség alatti használata gyengítheti más tokolitikus szerek hatékonyságát.
10. (Új eredményeknek fogható fel enzimek (PDE4B és PDE4D), adrenerg receptor szubtypusok, peptidek, peptid receptorok expressziójának meghatározása *humán császármetszből származó uterus mintékban és patkány uterusban*).

Megjegyzések

1. A Bevezetésben az adrenerg receptorokról, különösen az alfa1 és alfa2 szubtypusokról célszerű lett volna egy rövid áttekintést adni.

2. Gesztagén vegyület és béta2 receptor izgató együttes adása rutinszerű volt fenyegető koraszülés kezelésében a hetvenes években. Célszerű fokozottan hangsúlyozni, hogy a kísérletek alapján a béta2 agonista dózisa jelentősen csökkenthető. Ez nem csak a mellékhatások csökkenését eredményezheti, de késleltetheti a béta2 receptorszám down regulációját is. Azonban kérdéses a gesztagének esetleges magzati hatása, ill. melyik gesztagén alkalmazása lenne optimális.
3. Bevezetésben a koraszülés számos rizikó faktora közt nincs megemlítve a korábbi művi abortuszok okozta kockázat.
4. Az alfa1A-, 1B-, 1D-, valamint alfa2A-, 2B- és -2C-adrenoceptorok nomenklaturája szubtípus, nem altípus.
5. Az adrenerg kombinációk vizsgálatára irányuló eredményeket bemutató ábrák egy részénél hiányzik a kombinációkban vizsgált vegyületek egyikének önmagában kifejtett hatása. Lehetséges, hogy egy másik ábrán ez demonstrálva van, de erre vagy utalni kellett volna, vagy az adott ábrán is feltüntetni.

Néhány példa:

25. ábra: a panel salmeterol +17OHP kombinációnál a 17OHP önmagában kifejtett hatása nincs feltüntetve.

26. ábra: terbutalin+nifedipine kombinációban a nifedipine önmagában kifejtett hatása nincs feltüntetve.

27. ábra: nifedipin-salmeterol kombinációban a salmeterol önmagában kifejtett hatása nincs feltüntetve (a salmeterol hatása önmagában a 25. ábrán látható).

29. 32 ábrák: a cAMP szint az uterus szövetben a kontroll (kezeletlen/vehiculummal kezelt) csoportban nincs feltüntetve.

28, 33. ábra: terbutalin+rolipram kombinációban a rolipram önmagában kifejtett hatása nincs feltüntetve.

55. ábra: a nociceptin+nocistatin kombináció mellől hiányzik a nociceptin hatása önmagában a 22 napos vemhes uterus cAMP szintre. Az 52. ábra szerint a nociceptin önmagában hatástalan volt a cAMP szintre. Tehát potencirozó szinergizmus áll fenn a két vegyület között?

Kérdések

1. A Bevezetésben a koraszülés akut fázisában alkalmazott vegyületek valamennyien tocolytikus hatásúak. Ismeretes-e, hogyan hatnak a cervikális rezisztenciára?
2. Célkitűzések: “1. Az alfa-adrenerg receptorokon (alfa-AR) (alfa1- és alfa2-AR altípusok) keresztüli uterusz és cervix, valamint a béta2-AR-on keresztüli cervix hatások vizsgálata vemhes patkányban.” A béta2 adrenoceptor agonisták hatásának vizsgálatát miért csak a cervixen tervezték, miért nem volt cél az uterus kontrakciókra gyakorolt hatás vizsgálata ebben a fejezetben, márcsak didaktikus okok miatt is. A későbbiekben számos kísérlet

- demonstrálja a béta2-AR agonista vegyület (terbutalin) tocolytikus hatását, csak az olvasóban van hiányérzet a fent említett okok miatt.
3. In vitro a patkány uterus kontrakciókat különböző módon váltották ki, elektromos field stimulációval, noradrenallinnal, oxytocinnal, KCl-al, vagy PGF₂alfával.
Milyen megfontolás alapján választották egyik vagy másik módszert?
 4. 20. ábra, a panel: Az ábraszöveg szerint az NA indukált cAMP csökkenés megszűnik ARC239 jelenlétében, Az ábra szerint mind a NA, mind az ARC239 szignifikánsan csökkentette cervix rezisztenciát.
 5. Az oxitocinnal kiváltott kontrakciókat a nocistatin nem gátolta, a KCl által kiváltott kontrakciókat azonban igen. Hogyan magyarázható?
 6. 50. ábra: A naloxon, tetraetilammónium és paxillin önmagukban hogyan befolyásolták az oxitocin kiváltotta uterus kontrakciókat? Az ábra csak a nociceptinrel való kombinatív hatásukat mutatja. Az 50. ábra: b panel nociceptin+naloxon kombináció hatását mutatja be, hol a nociceptin önmagába kifejtett uterus relaxáló hatása nincs feltüntetve. Az a panelen feltüntetett nociceptin hatás vonatkozik-e a b panelre is?
 7. Az elhízás rizikó faktor a koraszülésre (ld. Bevezetés). Ugyanakkor a jelen eredmények szerint csökken az uterus spontán motilitása HFHSD esetén (76. ábra). Összefüggene-e a fokozott kockázat a HFHSD cervix rezisztenciát csökkentő hatásával (79. ábra)?
 8. 5.4.4. Fejezet: Fertőzés, gyulladás, gyulladáskeltő citokinek plazmaszint emelkedése kockázati tényezők a koraszülésre (ld. Bevezetés). A bemutatott kísérleti eredmények szerint azonban a lipopoliszaharid-indukálta gyulladás, melyet a TNF-alfa emelkedett szintje is jelez, balra tolta terbutalin hatás görbéjét (82. ábra), azaz fokozta az uterus relaxációt, valamint emelte a P4 szintet (80. ábra), ami szintén az uterus relaxációját segíti.
 9. Vizsgálták-e, hogy a LPS kezelés önmagában, terbutaline nélkül hogyan befolyásolja a field-stimuláció okozta méhkontrakciókat?
 10. Mi az oka, hogy a HFHSD hatását a PGF₂alfa indukált méh kontrakciókra vizsgálták, míg a LPS méhkontrakciókra gyakorolt hatás elemzésére a kontrakciókat EFS-val váltották ki?
 11. 84. ábra: P4 előkezelés önmagában befolyásolta-e a vemhes uterus spontán kontrakcióját? A 85. ábra szerint a P4 önmagában szignifikánsan növelte a cervix rezisztenciát.

12. A cervix rezisztencia és a cAMP szint közti összefüggést több kísérletben is elemezte a jelölt. Az adatok közt ellentmondás van, ami betudható a különböző kísérleti körülményeknek. Ezzel kapcsolatban kérem a jelölt véleményét.

A terbutalin (10-6 M) a vemhesség végén jelentős mértékben fokozta a cervix rezisztenciát (10. ábra) és a “a késői vemhes cervixeken a vemhesség előrehaladtával csökkenő G-protein aktiváció volt mérhető (11. ábra). Ez azt jelenti, hogy a terbutalin csökkenti a cAMP keletkezését és ezáltal növeli a cervikális simaizom tónusát (38. oldal).”

A 123. oldalon a 13-14 sor: “A 18. napon az ARC239 jelenlétében csak az alfa-2A-adrenoceptorok maradtak szabadon; ennek az altípusnak a stimulálása a cAMP-szint csökkenésével együtt növelte cervix rezisztenciát.”

Másrészt a 85. ábra szerint a terbutalin fokozta a cervix rezisztenciát, és ezzel párhuzamosan emelte a cAMP szintet a cervixben (86. ábra).

13. 89. ábra: Hogyan hat a tocoferol önmagában a KCl-indukálta-kontrakciókra vemhes uteruson? A cervix rezisztenciát szignifikánsan csökkentette vemhes uteruson, mint azt a 92. ábra mutatja.

14. 92. ábra: Hogyan magyarázható, hogy a nem szelektív és szelektív COX-2 gátlókat alkalmazták koraszülés megelőzésére (ld. Bevezetés), ugyankkor a jelen eredmények szerint diclofenac és rofecoxib csökkentik a cervix rezisztenciát.

15. Hogyan látja egy kalcium csatorna blokkoló és progeszteron származék kombinációját a koraszülés megelőzésére? Nifedipin helyett nem lenne célszerűbb egy tartósabb hatású kalcium csatorna blokkolót alkalmazni, pl. amlodipint?

Összefoglalva

Gáspár Róbert disszertációjának téma választása kiemelkedően fontos, hisz a koraszülés farmakoterápiája nem megoldott. Farmakológiai megfontolások alapján több potenciális célponton ható vegyületet és kombinációjukat vizsgált a disszertáns tocolytikus ill. cervix rezisztenciát növelő hatás szempontjából. A kísérleti anyag imponálóan gazdag. A disszertáció szerkesztése körültekintő, az új tudományos eredmények fontosak és előremutatóak. A felvetett kérdések, megjegyzések nem érintik a dolgozat következtetéseit és az új eredményeket. A dolgozatban leírt eredmények nagyobb részét rangos nemzetközi folyóiratokban (D1, Q1) közölte. **A fentiek alapján javaslom az MTA Doktori Értekezés nyilvános vitára bocsátását és sikeres védelem esetén az MTA Doktora c. odaítélését.**

Budapest, 2024. december 19.

Dr. Gyires Klára
professor emerita
az MTA Doktora