

Válasz Prof. Dr. Pethő Gábor egyetemi tanár MTA Doktori Értekezésemre adott opponensi véleményére

Mindenekelőtt szeretném hálás köszönetemet kifejezni Pethő Gábor professzor úrnak, hogy időt szánt az értekezésem részletes áttanulmányozására, támogató észrevételeivel és kérdéseivel fontos szempontokra mutatott rá. Valamennyi észrevételért és kérdésért hálás vagyok, melyekre az alábbiakban szeretnék reagálni, illetve válaszolni.

Kritikai megjegyzések és kérdések

- 1. A 9. oldal alsó részén nem világos, hogy milyen receptorális mechanizmus felel a magas dózisú β_2 -mimetikumok említett mellékhatásaiért. Ugyancsak a 9. oldalon kívánatos lett volna néhány β_2 -mimetikum megnevezése.*

A felsorolásban három mellékhatás, a tachikardia, a hipokalémia és a szénhidrát-anyagcsere zavar került megemlítésre. Mindhárom mellékhatás (vagy adverz hatás) főként a nagyobb dózisban alkalmazott β_2 -mimetikum nem szelektív β -adrenerg receptor agonista hatásából ered. A tachikardia egyrészt a kardiális β_1 -adrenerg receptorok stimulációja miatt jön létre, mivel nagyobb dózisban a β_2 -mimetikum β_1 -adrenerg agonista hatással is bír, ugyanakkor patkányban azt is igazolták, hogy a tachikardiában szerepet játszik a baroreflexet aktiváló hatásuk is [1]. A hipokalémia elsősorban a harántcsíktolt izmok β_2 -receptorainak izgatása miatt bekövetkező fokozott muskuláris kálium felvétellel magyarázható, ugyanakkor a renin felszabadulás miatti aldoszteron aktiváció hozzájárul a vesén keresztüli kálium vesztéshez, bár az utóbbinak lényegesen kisebb jelentősége van a folyamatban [2]. A szénhidrát-anyagcserezavar ebben az esetben anyai hiperglikémiát jelent, amelynek hátterében az áll, hogy a szimpatikus idegrendszer aktivációja a β_2 -adrenerg receptorokon keresztül növeli a vércukorszintet, így e receptorok izgalma a plazma glükóz emelkedéséhez vezet, főleg az adagolás első napján. Azt is megfigyelték, hogy 2-5 napig tartó krónikus β_2 -mimetikum adagolás esetén a glükózszint emelkedés megszűnik, feltételezhetően a receptorok deszenzitizációja miatt [3].

Elfogadom a kritikát, mely szerint több β_2 -mimetikum említése kívánatos lett volna ebben a részben, ugyanakkor szeretném megjegyezni, hogy jelenleg ezen szerek klinikai alkalmazása tokolitikumként nagyon korlátozott, Magyarországon csak a terbutalin, külföldön egyes országokban pedig még a ritodrin engedélyezett tokolitikus alkalmazásra, így elég szűk a szülészetben használható választék.

- 2. A 11. oldalon említett eNOS nem az endogén, hanem az endoteliális NOS rövidítése.*

Elismerem, hogy hibásan tüntettem fel az elnevezést, elnézést kérek érte.

3. *A 12. oldalon nincs megadva a P4 jelentése. Hasonlóképpen nincs definiálva az E2 sem a 26. oldalon.*

Sajnálom, hogy a definíció hiánya zavart okozott. A rövidítés jegyzékben mindkettő szerepel (P4: progeszteron, E2: 17 β -ösztadiol), illetve a szövegben való első megjelenésnél is a P4 definiálásra került (12. oldal 2.2.2.1 alfejezet), ugyanakkor az E2 sajnos a 12. oldal helyett csak a 24. oldalon (4.11. alfejezet) került definiálásra. A mulasztásért elnézést kérek.

4. *Az obez hangzása magyartalan, lehetett volna elhízottal helyettesíteni.*

Elfogadom, hogy az obez kifejezés magyartalan. A jövőben kerülni fogom a használatát.

5. *A 37. oldalon említett cervix rezisztencia kifejezés jelentését nem találtam meg.*

A cervix rezisztencia leírása a Módszerek fejezet 18-19. oldalán található (4.3.3. alfejezet), ahol kifejtésre került, hogy a cervixeket fokozatosan feszítettük 1 g-onként egészen 12 g-ig, és minden egyes feszítés után 5 percig hagytuk relaxálni a szöveteket. A cervix rezisztencia értékelése során a cervix gyűrű kezdeti feszülését az 5 perc utáni relaxáció függvényében ábrázoltuk. Az így kapott feszülés relaxáció görbe fűrészfog alakú volt, melyre lineáris regresszióval egyenest illesztettünk. Az egyenes meredeksége jellemezte a cervix rezisztenciát, a nagyobb meredekség nagyobb rezisztenciát jelentett.

6. *38. oldal: A G_s fehérje nem a cAMP aktiválódását, hanem annak képződését tudja elősegíteni.*

A kiigazítással egyet értek, valóban így helyes a megfogalmazás.

7. *48. oldal fölül: mi a különbség a „más hatásmechanizmus” és a „más támadáspont” között?*

Nincs alapvető különbség a támadáspont és a hatásmechanizmus között, az érintett mondatban azt szerettem volna hangsúlyozni, hogy eltérő receptoron ható adrenerg és egyáltalán nem adrenerg támadáspontú hatóanyagokat kívántuk kombinálni a β_2 -agonistákkal. Elismerem, hogy ez a mondatból nem tükröződik világosan, így a kérdés teljesen helyénvaló, elnézést kérek a nem megfelelő fogalmazásért.

8. *A 49. oldalon a 23. ábra kapcsán a szerző a terbutalin hatékonyságának növekedéséről szól az EC₅₀ csökkenése alapján. Nem inkább a hatáserősség nő meg?*

A megfogalmazás az angol szaknyelvben egyértelmű: az EC₅₀ a „potency”, a maximális hatás pedig az „efficacy” mértékét tükrözi. A „potency” kifejezésnek a magyar „hatékonyság” felel meg, míg a hatáserősség, vagy hatásosság az „efficacy” magyar megfelelője. Ezek alapján úgy

gondolom, hogy az általam használt magyar kifejezés helyes és tükrözi az EC₅₀ csökkenésben kifejeződő nagyobb hatékonyságot.

9. 50. oldal: véleményem szerint a 17OHP neve helyesen hidroxiprogeszteron-kaproát (és nem kapronát).

A helyes írásmód valóban a 17-hidroxiprogeszteron kaproát, az általam használt írásmód a magyar szakmai nyelvbe beszűrődő, de ettől még helytelen anglicizmus.

10. 26. ábra: mi lehet annak az oka, hogy a B panelen mutatott ábrán nincs EC₅₀-változás, csak az E_{max} nő meg?

A terbutalin önálló, valamint a konstans nifedipin koncentráció jelenlétében kapott koncentráció-hatás görbéi ugyanolyan lefutás mutatnak azzal a különbséggel, hogy a nifedipin minden egyes terbutalin koncentrációra adott kontrakció gátló hatást megemelte kb. 20%-kal. Így két görbének ugyanoda esik az inflexiós pontja és ebből adódóan az EC₅₀ értékek is hasonlóan adódnak.

A jelenség mechanizmusának pontos magyarázata nem ismert. A humán uterusz esetén a kombináció inkább egy additív, míg a patkány esetén egy potenciáló szinergizmus képét mutatja, habár szigorú farmakológiai értelemben a két hatóanyag között csak potenciáló szinergizmus lehetséges az eltérő támadáspontok miatt. Egy több mint 30 éves vizsgálati eredmény szerint a nicardipine és a ritodrine patkány uteruszon additív relaxáló hatását mutat [4]. Humán uteruszon hasonló additív jellegű szinergizmust mértek az általunk közölt adatok után 7 évvel a ritodrin és a nifedipin kombinációjával [5]. Ugyanakkor egyik esetben sem tértek ki a jelenség magyarázatára. Az in vitro együtthatás eredményét befolyásolhatja az alkalmazott hatóanyagok hozzáadásának sorrendisége, koncentrációja és az alkalmazott inkubációs idő is, melyek mind hatással lehetnek a receptorális és a csatorna gátlás erősségére és dinamikájára. Ennek tisztázására azonban további vizsgálatok szükségesek.

11. Az 59. oldalon a szerző azt állítja, hogy az AKAP—PKA kölcsönhatás szükséges a β -receptor mediálta relaxációhoz. Mivel nem történik említés arról, hogy ez az interakció gátló lenne, hogyan magyarázható az AKAP-PKA-gátló szer fokozó hatása a terbutalinnal kiváltott méhrelaxációra?

Az említett oldalon sajnos a megfogalmazásom körülményesre és ezáltal félreérthetővé sikeredett („A szívizom és simaizom sejtekben az AKAP-PKA kölcsönhatás szükséges a β -AR által közvetített kontraktilitást befolyásoló hatásokhoz, melyek a szívizomzatban kontrakcióhoz, a simaizomzatban pedig relaxációhoz vezetnek”). Nem azt szerettem volna állítani, hogy az AKAP-PKA kapcsolódás feltétele a β -adrenerg receptor hatásoknak, hanem azt, hogy hatással van rá. Ahogyan azt a Megbeszélés fejezet 128. oldalán leírtam, a mért szinergizmus hátterében feltehetően az AKAP150-PKA kapcsolódás gátlása áll. Patkányban késői vemhességben AKAP150-PKA kapcsolódás a β -adrenerg receptor jelátviteltől

függetlenül is fokozza az oxitocin által kiváltott kontrakciókat [6]. Ennek a mechanizmusnak a gátlása fogja növelni a terbutalin relaxációs hatását.

12. A szerző nem tesz említést arról, hogy az adrenerg ágensek kombinációinak a vizsgálata során két különböző logika érvényesült. Az 5.3.1 pontban a terápiás relevanciával bíró terbutalin relaxáló hatását vizsgálja egyéb ágensekkel kombinálva abból a célból, hogy lehet-e fokozni a terbutalin relaxáló hatását. Ezzel szemben az 5.3.2 és 5.3.3 fejezet a méhösszehúzó noradrenalin és a különböző α -antagonisták kombinációját elemzi. Itt tehát a noradrenalin csak egy tesztanyag, nem pedig tokolítikum, vagyis ez lényegében az α -antagonisták relaxáló hatásának vizsgálata csupán. Sajnálatos módon a kísérletek bevezetésében nem történik említés a noradrenalin ilyen fajta alkalmazására vonatkozóan (lásd 62. oldal), ezt az eredményekből kell kihámozni az olvasónak.

Az értekezés felépítésében elkülönül az adrenerg antagonisták és az adrenerg antagonisták kombinációs vizsgálata. Az Eredmények 5.1 alfejezete írja le az altípus szelektív α -adrenerg antagonisták noradrenalinnal szembeni hatását. Ez nem kombinációs kezelés, a noradrenalin azért volt szükséges, hogy az antagonista hatásának következményét mérni tudjuk. Az 5.3-as alfejezet tárgyalja az adrenerg hatóanyagok kombinációs kezelésének eredményeit, többek között az altípus szelektív α -adrenerg antagonisták hatásának változását ösztrogén vagy progeszteron kezelést követően. A kontrakciót kiváltó ágens itt is a noradrenalin volt, amellyel szemben mérhető az antagonista hatás, illetve annak változása a hormonkezelés kapcsán. A noradrenalin alkalmazása tokolítikumként nem merül fel, hiszen α -adrenerg agonista tulajdonsága miatt uterusz kontrakciót vált ki. Ugyanakkor el kell ismernem, hogy a noradrenalin szerepe a vizsgálatok leírásában nem került világosan feltüntetésre.

13. / A 99-100. oldalon nem található meg a HFHSD és a SD jelentése. Szintén hiányzik a GTT magyarázata.

A hiányolt rövidítések magyarázata megtalálható a Módszerek rész 28. és 29. oldalán a 4.15.4.1 és 4.15.4.2 alfejezetekben, illetve tartalmazza a Rövidítések jegyzéke is (1. fejezet). Ugyanakkor lehet, hogy szerencsésebb lett volna az Eredményeknél is feltüntetni.

14. A 73. C és D ábra paneljének tengelyfeliratában nincs feltüntetve, hogy mire vonatkozik az AUC.

A 73. ábra aláírásában feltüntettem, hogy az AUC értékek a plazma görbék alapján készültek, melyet az ábra A és B panelje mutat be. Mivel eltérő héten és eltérő csoportokban történt a mérés, így úgy gondoltam, hogy az AUC oszlopok beazonosíthatóak ennyi információ alapján. Ugyanakkor valóban jobb lett volna a vemhességi héttel együtt feltüntetni az y tengelyen, hogy plazma görbén alapuló AUC értékek kerültek bemutatásra.

15. A 110. oldalon az első mondat nehezen értelmezhető (plusz a ROS nincs definiálva). A homeosztázis és az öregedés nem tekinthető jelátviteli folyamatnak.

A mondat valóban nehezen értelmezhető, helyesen így hangzik: „A ROS számos folyamat, mint pl. a sejtproliferáció, a homeosztázis szabályozása, az antioxidáns génszabályozás, a mitokondriális oxidatív stressz, az apoptózis, az öregedés, vagy a DNS károsodási válaszreakció folyamatait kísérő jelátvitelben nélkülözhetetlen szerepet játszik”. A ROS rövidítés jelentése valóban nem szerepel a szövegben, csak a Rövidítések jegyzékében (ROS: reaktív oxigén termékek), ezért elnézést kérek.

16. A TOS, TAS és OSI magyarázata csak a 87. ábra magyarázatában található meg, helyes lett volna a szövegben is megadni.

Az említett rövidítések kapcsán ugyanúgy jártam el, mint a korábbiakban: a szövegben való első előforduláskor, valamint a Rövidítések jegyzékében definiáltam őket. Ez esetben a három rövidítés szövegben definiálása a Módszerek 4.13. alfejezetében (25. oldal) történt meg. Azonban valóban megfontolandó, hogy egy hosszabb mű esetén, a jobb megértés érdekében, ezek a teljes definíciók újra megjelenjenek, amikor szükséges.

17. Megítélésem szerint a tokoferol hatásainak elemzés során nyert adatok nem támasztják alá, hogy az ágens tényleg antioxidánsként hatott a méhre, mivel nem volt olyan kísérlet, amelyben a tokoferolnak a méhizomzat oxidatív státuszára kifejtett hatását vizsgálta volna a szerző. Ennek fényében az 5.5. fejezet címe nem egészen helytálló.

Valóban, a tokoferol esetében közvetlenül nem vizsgáltuk antioxidáns hatását az uterusban, ugyanakkor tényként kezeltük, hogy ilyen hatással bír, ezért nem tartottuk szükségesnek ezt újra igazolni, hiszen az uterus tekintetében ezt már közel 4 évtizeddel korábban megtették [7]. Azt is említettem a Megbeszélés fejezetben (150. oldal), hogy a tokoferol hatásának magyarázatához további vizsgálatok szükségesek, hogy mennyiben függ össze antioxidáns vagy esetleg egyéb más effektusával. Ugyanakkor a tokoferol elsősorban azért került a vizsgálatainkba, mert igazolt, hogy a β_2 -adrenerg hatáshoz a receptor aktivációt követően szükség van ROS felszabadulásra [8] és ennek jelentőségét csak úgy tudtuk tesztelni, hogy egy ismert antioxidáns vegyületet alkalmaztunk. Ezért maradt az alfejezet címében az antioxidáns megnevezés. Mindent egybevetve azonban el kell ismerjem, hogy az alfejezet címet ért kritika nem alaptalan.

18. 121. oldal: hogyan okozhat a β_2 -agonista szer hipertóniát? Nem inkább hipotóniáról van szó?

A β_2 -agonisták természetesen hipotóniát okoznak adverz hatásként, a szövegben ezt tévesen írtam, sajnálatos hibát vétettem.

19. 121. oldal: az 5-MU nem inkább parciális 5-HT-receptor agonista, mintsem inverz agonista?

Az említett mondatban az inverz agonista leírás az 5-MU α -adrenerg receptor hatására vonatkozik, ami bizonyított [9]. Ugyanakkor a mondat valóban félreérthető és úgy olvasható, mintha a szerotonin hatására vonatkozna, amire természetesen a parciális agonista meghatározás a helytálló.

20. 129. oldal: hogyan értelmezendő az állítás, hogy „az FMP-API-1 gátolja az AKAP—PKA interakciót, és ezáltal hatással van az adenil-cikláz aktivitására”? Az adenil-cikláz aktiválását nem inkább a Gs-protein okozza?

Az állítás azon alapul, hogy a gátlószer jelenlétében jelentősen megnőtt a 22 napos vemhes uterusban terbutalin által okozott szöveti cAMP szint. Ez két módon lehetséges: vagy a cAMP lebontás gátlódik, vagy pedig a termelődése fokozódik. Tekintettel arra, hogy az FMP-AP-1 kapcsán igazolt, hogy nincs foszfodiészteráz gátló hatása [10], így logikus, és egyben hipotetikus következtetés, hogy az AKAP-PKA interakció gátlása valamilyen módon fokozza az adenil-cikláz működését. Ugyanakkor ennek mechanizmusát nem ismerjük.

21. 142. oldal fent: az NO-közvetítette vazodilatációért nem a nNOS, hanem az eNOS felelős. Az AMPK nincs definiálva.

Általánosságban igaz, hogy az eNOS a felelős a vazodilatációért, de egy 2012-es publikációban igazolták, hogy a leptin indukálja az endoteliális nNOS expressziót, ami részben kompenzálja az eNOS NO-termelésének hiányát az endotéliumfüggő relaxáció fenntartása érdekében egér aortában [11]. Ebből adódott az említett megállapítás. Ugyanakkor a kritikát elfogadom, mert általánosságban az eNOS a felelős, részletesen ki kellett volna fejtenem, hogy miként kapcsolódik ide az nNOS. Az AMPK rövidítésének jelentését (adenozin-monofoszfát aktivált protein kináz) sajnos valóban nem adtam meg, elnézést kérek érte.

22. 147. oldal fent: a „szignálmechanizmus” szó helyett a „szignáltranszdukciós mechanizmus” lett volna használandó.

A kritikát elfogadom, valóban a szignáltranszdukció lett volna a helyes kifejezés.

Tartalmi kérdések a doktori művel kapcsolatban

1. A COX-gátlók közül miért a viszonylag sok mellékhatással bíró indometacin a leggyakrabban alkalmazott tokolitikum a klinikumban?

A COX-gátlókat általában akkor alkalmazzák a koraszülés terápiájában, amikor más tokolitikumok hatástalannak vagy nem kielégítőnek bizonyulnak. Az indometacin mellett valószínűleg a sok évtizedes klinikai tapasztalat szól. Tekintettel arra, hogy adagolása maximum 48 órán át történhet a mellékhatások elkerülése érdekében (leggyakrabban 100 mg

rektális kezdő adag, majd max. 4 óránként 25-50 mg per os, max. 48 óráig), így a súlyos mellékhatások kialakulásának kockázata relatíve alacsony. Az indometacin mellett a sulindac valamint a szelektív COX2-inhibitor celecoxib a leggyakrabban alkalmazott szerek, de az esetek 75%-ban az indometacinra esik a választás [12], mint a klinikumban széles körben elfogadott szerre. A tokolízis céljára alkalmazott szerek esetén sokszor az ismert kockázatok előnyt élveznek a valószínűleg kisebb, de nem igazolt kockázatokkal szemben. A rendelkezésre álló klinikai bizonyítékok alapján egyébként az indometacin anyai és magzati mellékhatásai nem különböznek a COX2-gátlók esetén tapasztaltakkal [12].

- 2. Az eredmények alapján feltűnő, hogy az uterusz egy speciális szerv, mivel sok hatóanyag/receptor esetében nem a tipikus jelátviteli mechanizmusok működnek, és a hatás jellege időfüggést is mutat. Mi lehet ennek a biológiai jelentősége?*

Az uterusz különlegessége a terhesség alatti változásokban rejlik, melynek a kontrakciók szempontjából a fő célja, hogy a terhesség végéig a miometrium nyugalomban legyen és a cervix tökéletesen zárjon, míg a szüléskor miometrium kontrakciókra van szükség a cervix tágulásával párhuzamosan. Ennek megfelelően az általunk vizsgált receptorális válaszok alkalmazkodtak, így pl. a β -adrenerg válaszkészség a patkány vemhesség végére romlott, ami elősegíti, hogy a fiziológiás katekolaminok relaxáló hatása csökkenjen és a kontrakciók erősödjenek. A nemi hormonszintek változása egészen biztosan az egyik karmestere ezeken a folyamatoknak. Szükséges az uterusz volumen drámai növekedése is, ami igényli a megváltozott szöveti morfológiai arányokat, melyek szintén a receptor működésben és jelátvitelben okozhatnak módosulásokat. Az is ismert, hogy a terhesség önmagában is megváltoztathatja pl. az oxitocin érzékenységet, mely egy következő terhességnél eltérő mértékű lehet [13–18]. Az egész terhesség alatti méhműködés egy rendkívül finoman összehangolt és részleteiben még mindig nem teljesen feltár folyamat, de az kijelenthető, hogy minden változásnak az a célja, hogy a fejlődő magzat optimális körülmények között lehessen és a megfelelő érettség után megszülethessen.

- 3. A noradrenalin a cervixrezisztenciát a 18. napon növelte, a 20-on csökkentette, mindkét esetben ugyanaz az α_2A receptoraltípus közvetítésével. Mi lehet ennek a hátterében? Ennek kapcsán tudna-e a szerző példát említeni az irodalomból arra, hogy egy adott receptoraltípus szerepe két különböző időpontban egymás ellentettje?*

Az okokra nagyon nehéz objektív módon megválaszolni, mivel vizsgálataink e tekintetben inkább leíró jellegűek voltak, melyekhez nem feltétlenül tudunk kapcsolni élettani okokat is. Az említett noradrenalin és az α_{2A} -receptor kapcsán valószínűsíthető, hogy a receptor a cervix optimális állapotának fenntartásban játszik szerepet: míg a 18. vemhességi napon a cervix rezisztencia hasonló a nem vemhes értékhez, addig a 20. napon már csökkent rezisztencia mérhető [19], amelyhez az α_{2A} -receptor kapcsoltsága és ezáltal a noradrenalin rajta keresztül kifejtett hatása „alkalmazkodik”. Ez természetesen egy feltevés, de az eredményeink tükrében logikus következtetés.

Ugyanazon receptoraltípus ellentétes működésére a G-protein kapcsolt receptorok esetében lehet példát találni. A G-protein kapcsolt receptorok többféle szerkezeti konformációt képesek felvenni, és közvetlen kölcsönhatások révén differenciáltan aktiválják a G-proteineket. Igazolták, hogy az inverz agonista metoprolol a β_2 -adrenerg receptoron a $G_{\alpha s}$ -fehérje C-terminusáról a $G_{\alpha i}$ -fehérje C-terminusra változtatja a jelátvitelt, ami az adenil-cikláz $G_{\alpha i}$ -fehérje által közvetített gátlását eredményezi [20]. Egy három évtizeddel ezelőtt kísérletben muszkarin és β_1 -adrenerg receptor kimérákat hoztak létre, és azt találták, hogy a β_1 -struktúra beépítésével a kiméra receptor mindenféle G-proteint képes volt aktiválni [21]. A β_2 -adrenerg receptorok esetében leírták, hogy képesek akár G_s -vagy G_q -fehérjével szignáltranszdukciós kapcsolódásra [22]. Az immunrendszerben igazolták, hogy a β -adrenerg stimulációra a receptorok G_s -fehérje kapcsoltágról G_i -fehérje kapcsoltságra válhatnak át [23]. Törekvések történtek olyan G-protein peptidomimetikumok előállítására, amivel stabilizálható lehet a β_2 -adrenerg és a dopamin1-receptor G_s -protein kapcsolódása, tekintettel arra, hogy G-protein kapcsoltságuk változhat [24]. A szerotonin receptorok 5. és 6. transzmembrán hélixén azonosítottak olyan szakaszokat, amelyek meghatározzák a receptorok G_s -vagy G_i -protein kapcsolódását, illetve lehetővé teszik, hogy akár mindkettőhöz kapcsolódjanak [25]. A melatonin 2-receptor esetében is mind a G_q - mind pedig a G_i -protein kapcsoltság lehetséges [26].

Az említett példák alátámasztják, hogy egy G-protein kapcsolt receptor többféle G-proteinnel is együttműködhet, ugyanakkor ezek a vizsgálatok nem tártak fel valós fiziológiai funkciókban való időbeli módosulásokat. Ebben a tekintetben a terhes uterusz valószínűleg egyedülállónak tekinthető, ami a terhesség során bekövetkező speciális és patkány esetében viszonylag gyors változásokhoz köthető.

4. *Milyen jelátviteli út lehet felelős az αA -receptor-antagonista WB4101 cervixrezisztenciát növelő hatásáért? Konkrétan, mi lehet a mechanizmusa egy α -receptor-antagonista szer (WB4101) esetében a fokozott G-protein-aktivációnak a cervixben (42. oldal)? Ha egy antagonistá növeli a G-protein-aktivációt, az endogén agonistának csökkenteni kell azt. Ez utóbbi hogyan jöhet létre?*

Az általános farmakológia szabályok alapján ez valóban ellentmondásosnak tűnik. Ugyanakkor ismert, hogy számos altípus szelektív α -adrenerg vegyület, köztük a WB4101 is inverz agonista [27], ami azt jelenti, hogy nem egyszerűen gátolják az agonista hatását, hanem képesek azzal ellenkező hatást eredményező jelátviteli folyamatot elindítani. Méréseink alapján a cervix esetében ez a legnagyobb valószínűséggel a G_i -protein aktiválódását eredményezte, ami feltételezhetően szöveti cAMP szint csökkenéssel vezet a simaizom tónus növekedéséhez.

Tekintettel a G-protein kapcsolt receptorok, beleértve az α -adrenerg receptorok azon képességére, hogy többféle G-proteinnel is képesek kapcsolódni, így ez a „promiszkuitás” lehetővé teszi, hogy az endogén agonista hatására egy másik G-protein aktiválódjon. A cervix esetében feltételezhetően ez a G_s -fehérje lehet, azonban ilyen irányú méréseket nem végeztünk, így ez csak hipotetikusan tudom megállapítani, de a rendelkezésre álló tények ismeretében ez elképzelhető.

5. *Milyen mechanizmusok állhatnak a β_2 -agonistákkal kapcsolatos tolerancia hátterében?*

A β_2 -agonisták által kiváltott tolerancia leggyorsabb mechanizmusa a receptor G-protein kapcsolt receptor-kinázok általi foszforilációja. A β -arrestinek receptor kötődését elősegítő szubsztrát jön létre, amely részben szétkapcsolja a receptort G-fehérjétől [28]. Ezenkívül a β -arrestinek játszanak szerepet a receptor internalizációjában is, mely során visszahúzódnak a sejtmembrán felszínéről és nem lesz elérhető az agonista számára [29]. Ezek a korai folyamatok a β_2 -receptorok kifejeződésének fokozatos csökkenését eredményezik és kialakul a down-reguláció, ami akár a sejtfelszíni receptor expresszió 90%-os elvesztésével is járhat [30]. Ezen felül azonosítottak újabb tolerancia mechanizmust is, amit a β_2 -adrenerg receptor izgalom okozta intracelluláris cAMP növekedés indít el, amely aktiválja a protein-kináz A-t és a cAMP response element-binding proteint (CREB). Az aktivált CREB miRNS-en keresztül számos cAMP response element-re (CRE) van hatással, ami a végül a β_2 -adrenerg receptor fehérje expressziójának fokozatos csökkenéséhez vezet [31].

6. *Mi lehet a terbutalin és más β_2 -receptor-agonisták cervixrezisztenciát növelő hatásának a mechanizmusa? Hogyan jön a képbe a cAMP-szint szerző által igazolt megemelkedése a cervixben? Ismert-e példa β_2 -receptor-agonista más fajta simaizmot összehúzó hatására? Mi az egyéb klinikailag használatos tokolítikumok hatása a cervixrezisztenciára?*

Azokban a vizsgálatokban, amikor a cervix rezisztencia változást összevetettük a cervix cAMP szint változásával a legtöbb esetben azt kaptuk, hogy a cAMP szint emelkedését rezisztencia csökkenés, míg csökkenését rezisztencia fokozódás kísérte. Ez teljesen egybevág a farmakológiai logikával, miszerint a cAMP emelkedése simaizom relaxációt, míg csökkenése simaizom tónus fokozódást eredményez. Az egyetlen kivétel ez alól a terbutalin-tokoferol kombináció vizsgálata volt, ahol a terbutalin és a terbutalin-progeszteron kombináció is fokozta a cervikális cAMP szintet úgy, hogy ezzel együtt nőtt a cervix rezisztencia is. A cAMP emelkedésre bekövetkező kontrakciófokozódás azonban nem a simaizomzatra, hanem a szívizomzatra jellemző [32]. A legelső, még 2005-ben, a terbutalinnal történt cervix rezisztencia vizsgálatunkban nem mértünk cAMP szintet, csak G-protein aktiválódást, aminél szokatlan csökkenést kaptunk [19]. A módszer nem volt specifikus a G_s fehérjére, hanem valamennyi G-proteint mérte, ugyanakkor ez sem magyarázhatja kielégítően a cervikális cAMP szint emelkedéssel kísért cervix rezisztencia fokozódást. A β_2 -adrenerg receptorok működésében a G-proteinen kívül számos más fehérje is dinamikusan szabályozza a jelátvitelt [33], így elképzelhető, hogy ennek az ellentmondásnak a feloldása is ebben rejlik. Azonban ilyen jellegű vizsgálatokat ezidáig nem végeztünk, így ez csupán egy lehetséges felvetés. Tavaly került publikálásra egy rendkívül érdekes kutatás patkány vas deferens kapcsán, mely során izolált szervi kísérletben izoprenalinnal végzett β -adrenerg stimulációt követően az intracellulárisan felszabadult cAMP extracelluláris kiáramlása fokozódott, ahol adenoziná alakult át, ami az adozin1-receptorok izgatásával izomtónus fokozódást eredményezett [34]. Nem ismert, hogy ez a folyamat működik-e a 22 napos vemhes patkány cervixben, de ez is egy lehetséges magyarázat az ellentmondás feloldására.

A klinikailag használt tokolitikumok cervikális hatásaival kapcsolatosan elmondható, hogy a cervix rövidege miatti koraszülés megakadályozására a használt tokolitikumok közül célzottan egyedül a progeszteron kerül alkalmazásra [35,36]. A magnézium-szulfát cervixre gyakorolt hatásáról nincs megbízható preklinikai vagy klinikai adat. A COX-gátlók esetén patkányban 5, illetve 8 napos kezelést követően nimesuliddal sikerül fokozni a cervix rezisztenciát és megnyújtani a vemhességi időt [37,38]. Saját izolált szervi méréseinkben a diklofenák és a rofecoxib egyszeri dózisa cervix rezisztencia csökkentő hatás fejttettek ki 22 napos vemhes patkányok szövetein, ugyanakkor önmagukban, a 21. napon adott egyszeri dózisban nem befolyásolták az ellés idejét [39]. Humán adatok e tekintetben megint csak nem állnak rendelkezésre. A kalcium csatorna blokkolók esetén progeszteronnal történt összehasonlító klinikai vizsgálatot végeztek és azt találták, hogy nifedipin koraszülést csökkentő hatása lényegesen elmaradt a progeszteron mellett rövid cervixhossz esetén [40]. A NO fokozza a mátrix metalloproteinázok aktivitását a cervixben és elősegíti az érési folyamatot [41]. A nitrodilatátorokkal eddig elvégzett állatkísérletes cervix vizsgálatok azonban azt mutatják, hogy önmagukban nincs hatásuk a cervix érésére [38]. Egy 2021-es humán vizsgálatban alkalmazott transzdermális nitroglicerint kapcsán azt tapasztalták, hogy jobb hatékonyságú és kevesebb mellékhatással rendelkező tokolitikum, mint a per os alkalmazott nifedipin, különösen azokban az esetekben, ahol a cervix tágulása meghaladta a 3 cm-t [42]. Ezek alapján sem valószínű, hogy tovább rontanák a cervix rezisztenciát. Az oxitocin antagonisták kismértékben fokozhatják a cervix rövidülését a tokolitikus terápia során [43], ugyanakkor egy másik, multicentrikus, placebo kontrollos humán vizsgálatban azt találták, hogy nem volt hatással a cervix dilatációra [44].

7. *A 94. ábra áttekintése során nem egészen világos, hogyan tudja a kívülről adott CGRP helyreállítani a nocistatin hatását. Ha kapszaicinnal depletáljuk a szenzoros idegvégződésben levő neuropeptideket, gátlódik a nocistatin relaxáló hatása (mivel kiesik a közvetítő mediátor, a CGRP). Ha ezután kívülről viszünk be CGRP-t, akkor mi annak a saját hatása, kivált relaxációt? Ha igen, akkor hogyan értelmezhető a nocistatin további relaxáló hatása: a kívülről bevitt CGRP már hat, de nincs endogén neuropeptid, amit a nocistatin fel tudna szabadítani. Megítélésem szerint nem zárható ki egy további nocistatin hatás lehetősége: pozitív interakció a nocistatin és a CGRP között (ez működhet alaphelyzetben az endogén, és peptid depléción után a kívülről beadott CGRP-vel is). Mi erről a szerző véleménye?*

Az általunk leírt hatásmechanizmus azon alapul, hogy korábban igazolták a kapszaicin szenzitív idegvégzésekben a CGRP felvételi mechanizmusát kapszaicin depléciót követően [45]. Ennek megfelelően mi is depletáltuk a CGRP-t az uterusz mintáinkban, ami a nociceptin hatásának megszűnésével járt. Ezután a mintákat inkubáltuk CGRP-vel 20 percig, majd a szerfűdőt kimostuk, így csak olyan CGRP maradhatott a rendszerben, amelyet az uteruszban lévő kapszaicin érzékeny idegelemek felvettek. Nociceptin hozzáadását követően újra tapasztaltuk a relaxáló hatást, így szinte kizárt, hogy a CGRP felszabaduláson kívül az exogén, fel nem vett CGRP is szerepet játszhat a hatás kialakulásában. Ugyanakkor lehetséges, hogy a CGRP és a nociceptin együttes adása is fokozott relaxációval járhat, de ilyen irányú vizsgálatokat nem végeztünk.

8. *A szerző egy kísérletsorozatban alkalmazott kapszaicint, amely számos neuropeptid felszabadítására/depletálására képes. Milyen adatok állnak rendelkezésre a szenzoros neuropeptidok uterinális hatásaira vonatkozóan?*

Mivel a terhesség során az uterusz egy denervációs folyamaton megy keresztül, ezért sokáig azt gondolták, hogy a neuropeptidoknak nem sok jelentősége lehet az uterusz kontrakciókban. Később aztán világossá vált, hogy a denerváció részleges és kevésbé érinti a szenzoros idegeket [46], sőt, a cervixben alig történik denerváció. Ezért a szenzoros neuropeptidok szerepet játszanak a cervix éréseben is [47]. A CGRP (az uteruszban legnagyobb mértékben jelenlevő neuropeptid) vagy a VIP uterusz relaxáló hatással bír, míg a substance P, galanin, vagy a neurokinin A kontrakciót vált ki [48]. A PACAP kapcsán igazolták, hogy relaxálja a miometriumot, bakteriális gyulladásban pedig a PACAP1 receptorok száma csökken, ami a kontrakciók erősödéséhez vezet [49].

9. *Van-e irodalmi adat a teofillin esetleges uterinális hatásaira vonatkozóan?*

A teofillin uteruszra gyakorolt hatását régebben részletesen vizsgálták, azonban a szelektív foszfodiészteráz gátlók megjelenése háttérbe szorította a teofillinre irányuló vizsgálatokat, bár nem hagyható figyelmen kívül az adenzin-receptor antagonistá hatása sem. Patkányban saját vizsgálatunkban (mely nem került bele az értekezés anyagába) a vemhesség előrehaladtával a teofillin gyengülő relaxáló hatását mértük [50]. Más vizsgálatok alapján a vegyület koncentráció függően gátolja az okadainsav indukálta méhkontrakciókat [51], illetve gátolja a CaCl_2 -indukált kontrakciókat is [52]. Hatásosnak találták császármetszésből származó izolált humán miometriumon is [53], ugyanakkor sosem vált széles körben elfogadott tokolitikummá.

Még egyszer tisztelettel és hálásan köszönöm Pethő Gábor professzor úrnak az értekezésem bírálatát, támogató javaslatát és elgondolkodtató, további ötleteket adó kérdéseit. Tisztelettel kérem válaszaim elfogadását.

Szeged, 2025. február 14.



Dr. Gáspár Róbert PhD

egyetemi tanár

Irodalomjegyzék

- [1] B.J.A. Janssen, J.A.W.M. van Zijl, G.G.M. Essed, J.F.M. Smits, Role of the baroreflex in beta2-sympathomimetic induced tachycardia in male rats, *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reprod Biol* 51 (1993). [https://doi.org/10.1016/0028-2243\(93\)90190-N](https://doi.org/10.1016/0028-2243(93)90190-N).
- [2] G.L. Braden, P.T. Von Oeyen, M.J. Germain, D.J. Watson, B.L. Haag, Ritodrine- and terbutaline-induced hypokalemia in preterm labor: Mechanisms and consequences, *Kidney Int* 51 (1997). <https://doi.org/10.1038/ki.1997.255>.
- [3] M. Hirai, I. Yasuhi, T. Ishimaru, T. Yamabe, K. Kubota, Effect of prolonged intravenous ritodrine tocolysis on diurnal glucose profiles in pregnant women with normal carbohydrate tolerance, *Acta Obstet Gynaecol Jpn* 48 (1996). PMID: 8754389.
- [4] M. Doret, G. Mellier, P. Gaucherand, G.R. Saade, M. Benchaib, J. Frutoso, J.C. Pasquier, The in vitro effect of dual combinations of ritodrine, nicardipine and atosiban on contractility of pregnant rat myometrium, *BJOG* 110 (2003). <https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2003.02443.x>.
- [5] J.A. Carvajal, M.J. Zambrano, N.M. Theodor, L.E. Moreno, T.R. Olguín, P.S. Vanhauwaert, N.B. Rojas, A.M. Delpiano, The synergic in vitro tocolytic effect of nifedipine plus ritodrine on human myometrial contractility, *Reproductive Sciences* 24 (2017). <https://doi.org/10.1177/1933719116667221>.
- [6] S.B. Moss, G.L. Gerton, A-kinase anchor proteins in endocrine systems and reproduction, *Trends in Endocrinology and Metabolism* 12 (2001). [https://doi.org/10.1016/S1043-2760\(01\)00493-3](https://doi.org/10.1016/S1043-2760(01)00493-3).
- [7] S. Mukherjee, M. Nag, T. Nayyar, I. Maitra, P. Chakrabarti, P.R. Dasgupta, Hydrogen peroxide formation and lipid peroxidation in rat uterus-effect of hormones and vitamin E, *J Biosci* 10 (1986). <https://doi.org/10.1007/BF02716647>.
- [8] N.H. Moniri, Y. Daaka, Agonist-stimulated reactive oxygen species formation regulates β 2-adrenergic receptor signal transduction, *Biochem Pharmacol* 74 (2007). <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2007.03.016>.
- [9] O. Rossier, L. Abuin, F. Fanelli, A. Leonardi, S. Cotecchia, Inverse agonism and neutral antagonism at α (1a)- and α (1b)-adrenergic receptor subtypes, *Mol Pharmacol* 56 (1999). <https://doi.org/10.1124/mol.56.5.858>.
- [10] F. Christian, M. Szaszák, S. Friedl, S. Drewianka, D. Lorenz, A. Goncalves, J. Furkert, C. Vargas, P. Schmieder, F. Götz, K. Zühlke, M. Moutty, H. Göttert, M. Joshi, B. Reif, H. Haase, I. Morano, S. Grossmann, A. Klukovits, J. Verli, R. Gáspár, C. Noack, M. Bergmann, R. Kass, K. Hampel, D. Kashin, H.-G. Genieser, F.W. Herberg, D. Willoughby, D.M.F. Cooper, G.S. Baillie, M.D. Houslay, J.P. Von Kries, B. Zimmermann, W. Rosenthal, E. Klussmann, Small molecule AKAP-Protein Kinase A (PKA) interaction disruptors that activate PKA interfere with compartmentalized cAMP signaling in cardiac myocytes, *Journal of Biological Chemistry* 286 (2011). <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.160614>.
- [11] S. Benkhoff, A.E. Loot, I. Pierson, A. Sturza, K. Kohlstedt, I. Fleming, H. Shimokawa, O. Grisk, R.P. Brandes, K. Schröder, Leptin potentiates endothelium-dependent relaxation by inducing endothelial expression of neuronal NO synthase., *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 32 (2012). <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.112.251140>.
- [12] H.E. Reinebrant, C. Pileggi-Castro, C.L.T. Romero, R.A.N. dos Santos, S. Kumar, J.P. Souza, V. Flenady, Cyclo-oxygenase (COX) inhibitors for treating preterm labour, *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2015 (2015). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD001992.pub3>.
- [13] A.P. Petrenko, C. Castelo-Branco, D.V. Marshalov, A.V. Kuligin, Y.S. Mysovskaya, E.M. Shifman, A.M.R. Abdulaev, Physiology of intra-abdominal volume during pregnancy, *J Obstet Gynaecol (Lahore)* 41 (2021). <https://doi.org/10.1080/01443615.2020.1820470>.
- [14] N.P.M. Kuijsters, W.G. Methorst, M.S.Q. Kortenhorst, C. Rabotti, M. Mischi, B.C. Schoot, Uterine peristalsis and fertility: current knowledge and future perspectives: a review and meta-analysis, *Reprod Biomed Online* 35 (2017). <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2017.03.019>.

- [15] A. Banciu, D.D. Banciu, C.C. Mustaciosu, M. Radu, D. Cretoiu, J. Xiao, S.M. Cretoiu, N. Suci, B.M. Radu, Beta-estradiol regulates voltage-gated calcium channels and estrogen receptors in telocytes from human Myometrium, *Int J Mol Sci* 19 (2018). <https://doi.org/10.3390/ijms19051413>.
- [16] F.W. Bazer, G. Song, J. Kim, K.A. Dunlap, M.C. Satterfield, G.A. Johnson, R.C. Burghardt, G. Wu, Uterine biology in pigs and sheep, *J Anim Sci Biotechnol* 3 (2012). <https://doi.org/10.1186/2049-1891-3-23>.
- [17] D.M. Fodera, S.R. Russell, J.L.L. Jackson, S. Fang, X. Chen, J. Vink, M.L. Oyen, K.M. Myers, Material properties of nonpregnant and pregnant human uterine layers, *J Mech Behav Biomed Mater* 151 (2024). <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2023.106348>.
- [18] M. Porta, A. Boening, J. Tiemann, A. Zack, A. Patel, K. Sondgeroth, The contractile response to oxytocin in non-pregnant rat uteri is modified after the first pregnancy, *Reprod Sci* 30 (2023). <https://doi.org/10.1007/s43032-023-01163-6>.
- [19] R. Gáspár, Z. Kolarovszki-Sipiczki, E. Ducza, E. Páldy, S. Benyhe, A. Borsodi, G. Falkay, Terbutaline increases the cervical resistance of the pregnant rat in vitro, *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 371 (2005) 61–71. <https://doi.org/10.1007/s00210-004-1010-x>.
- [20] S. Sivaramakrishnan, R.U. Malik, Tracking GPCR promiscuity at the source: How receptor conformation is translated to differential function, *The FASEB Journal* 27 (2013). https://doi.org/10.1096/fasebj.27.1_supplement.559.5.
- [21] S.K.F. Wong, E.M. Ross, Chimeric muscarinic cholinergic: β -adrenergic receptors that are functionally promiscuous among G proteins, *J Biol Chem* 269 (1994). [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(17\)32261-5](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(17)32261-5).
- [22] M. Sandhu, A.M. Touma, M. Dysthe, F. Sadler, S. Sivaramakrishnan, N. Vaidehi, Conformational plasticity of the intracellular cavity of GPCR–G-protein complexes leads to G-protein promiscuity and selectivity, *Proc Natl Acad Sci U S A* 116 (2019). <https://doi.org/10.1073/pnas.1820944116>.
- [23] M. Magocsi, E.S. Vizi, Z. Selmeczy, A. Brózik, J. Szelenyi, Multiple G-protein-coupling specificity of β -adrenoceptor in macrophages, *Immunology* 122 (2007). <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2007.02658.x>.
- [24] M. Mannes, C. Martin, S. Triest, M. Pia Dimmito, A. Mollica, T. Laeremans, C.J. Menet, S. Ballet, Development of generic g protein peptidomimetics able to stabilize active state Gs protein-coupled receptors for application in drug discovery, *Angew Chem* 133 (2021). <https://doi.org/10.1002/ange.202100180>.
- [25] S. Huang, P. Xu, D.D. Shen, I.A. Simon, C. Mao, Y. Tan, H. Zhang, K. Harpsøe, H. Li, Y. Zhang, C. You, X. Yu, Y. Jiang, Y. Zhang, D.E. Gloriam, H.E. Xu, GPCRs steer Gi and Gs selectivity via TM5-TM6 switches as revealed by structures of serotonin receptors, *Mol Cell* 82 (2022). <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2022.05.031>.
- [26] M. Chen, E. Cecon, A. Karamitri, W. Gao, R. Gerbier, R. Ahmad, R. Jockers, Melatonin MT1 and MT2 receptor ERK signaling is differentially dependent on Gi/o and Gq/11 proteins, *J Pineal Res* 68 (2020). <https://doi.org/10.1111/jpi.12641>.
- [27] M. Pallavicini, R. Budriesi, L. Fumagalli, P. Ioan, A. Chiarini, C. Bolchi, M.P. Ugenti, S. Colleoni, M. Gobbi, E. Valoti, WB4101-related compounds: New, subtype-selective α 1- adrenoceptor antagonists (or inverse agonists?), *J Med Chem* 49 (2006). <https://doi.org/10.1021/jm060358r>.
- [28] S.B. Liggett, Phosphorylation barcoding as a mechanism of directing GPCR signaling, *Sci Signal* 4 (2011). <https://doi.org/10.1126/scisignal.2002331>.
- [29] A.C. Hanyaloglu, M. Von Zastrow, Regulation of GPCRs by endocytic membrane trafficking and its potential implications, *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 48 (2008). <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.48.113006.094830>.

- [30] R.J. Lefkowitz, Arrestins come of age: A personal historical perspective, in: *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2013. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394440-5.00001-2>.
- [31] D. Kim, S. Cho, J.A. Woo, S.B. Liggett, A CREB-mediated increase in miRNA let-7f during prolonged β -agonist exposure: a novel mechanism of β 2-adrenergic receptor down-regulation in airway smooth muscle, *FASEB Journal* 32 (2018). <https://doi.org/10.1096/fj.201701278R>.
- [32] R.P. Xiao, H. Cheng, Y.Y. Zhou, M. Kuschel, E.G. Lakatta, Recent advances in cardiac β 2-adrenergic signal transduction, *Circ Res* 85 (1999). <https://doi.org/10.1161/01.RES.85.11.1092>.
- [33] J.L. Benovic, Novel β 2-adrenergic receptor signaling pathways, *J Allerg Clin Immun* (2002). <https://doi.org/10.1067/mai.2002.129370>.
- [34] E.S.A. Pacini, R. de Paula Moro, R.O. Godinho, Extracellular cAMP elicits contraction of rat vas deferens: Involvement of ecto-5'-nucleotidase and adenosine A1 receptors., *Toxicol Appl Pharmacol* 491 (2024) 117070. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2024.117070>.
- [35] F. Facchinetti, P. Vergani, M. Di Tommaso, L. Marozio, B. Acaia, R. Vicini, L. Pignatti, A. Locatelli, M. Spitaleri, C. Benedetto, B. Zaina, R. D'Amico, Progestogens for maintenance tocolysis in women with a short cervix, *Obstet Gynecol* 130 (2017). <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000002065>.
- [36] M. Tajima, S. Yanazume, Y. Orita, Y. Tazaki, M. Shinya, H. Kobayashi, Cervical pessary plus vaginal progesterone versus long-term tocolysis for the prevention of preterm birth: An observational retrospective study, *Int J Gynecol Obstet* 150 (2020). <https://doi.org/10.1002/ijgo.13164>.
- [37] R. Bukowski, L. MacKay, C. Fittkow, L. Shi, G.R. Saade, R.E. Garfield, Inhibition of cervical ripening by local application of cyclooxygenase 2 inhibitor, in: *Am J Obstet Gynecol*, 184 (2001). <https://doi.org/10.1067/mob.2001.115121>.
- [38] R. Bukowski, L. McKay, S.Q. Shi, G.R. Saade, R.E. Garfield, The effects of cervical application of inhibitors of inducible nitric oxide synthase, cyclooxygenase-1, and cyclooxygenase-2 on delivery in rats, in: *Am J Obstet Gynecol*, 185 (2001). <https://doi.org/10.1067/mob.2001.116723>.
- [39] A. Kothencz, J. Hajagos-Tóth, K.F. Szucs, A. Schaffer, R. Gáspár, A-tocopherol potentiates the cervical resistance decreasing effects of COX inhibitors in pregnant rats: The putative role of cyclooxygenase-2 inhibition, *J Pharm Exp Ther* 368 (2019). <https://doi.org/10.1124/jpet.118.251850>.
- [40] M. Fahmy, A. Abdelgayed, R. Dawood, E. Abdelaty, The role of progesterone in comparison with calcium channel blockers in the prevention of preterm birth in women with a short cervix, *Menoufia Med J* 30 (2017). <https://doi.org/10.4103/1110-2098.215447>.
- [41] M. Yoshida, N. Sagawa, H. Itoh, S. Yura, D. Korita, K. Kakui, N. Hirota, T. Sato, A. Ito, S. Fujii, Nitric oxide increases matrix metalloproteinase-1 production in human uterine cervical fibroblast cells, *Mol Hum Reprod* 7 (2001). <https://doi.org/10.1093/molehr/7.10.979>.
- [42] M. Jamil, A. Basharat, S. Ayub, Transdermal nitro-glycerine versus oral nifedipine for acute tocolysis in preterm labour: a randomised controlled trial, *J Soc Obstet Gynaecol Pak* 10(1), 26-29, (2020).
- [43] I. V. Ignatko, E.A. Shvyreva, V.A. Lebedev, A.A. Churganova, N.A. Bogacheva, V.M. Sorokina, Tactics of the management of premature deliveries: to what patients tocolysis is indicated and should help, *V.F.Snegirev Arch Obstet Gynecol* 5 (2018). <https://doi.org/10.18821/2313-8726-2018-5-1-49-54>.
- [44] J. Snidow, H. Miller, G. Valenzuela, S. Thornton, B. Stier, L. Clayton, M. Fossler, T. Montague, K. Beach, P. Williams, A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled phase 2 trial of retosiban, a selective oxytocin receptor antagonist, for the management of preterm labor, *Am J Obstet Gynecol* 208 (1), S155, (2013).
- [45] A. Sams-Nielsen, C. Orskov, I. Jansen-Olesen, Pharmacological evidence for CGRP uptake into perivascular capsaicin sensitive nerve terminals, *Br J Pharmacol* 132 (2001). <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0703910>.

- [46] H. Traurig, A. Saria, F. Lembeck, Substance P in primary afferent neurons of the female rat reproductive system, *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 326 (1984). <https://doi.org/10.1007/BF00501440>.
- [47] J.J. Collins, S. Usip, K.E. McCarson, R.E. Papka, Sensory nerves and neuropeptides in uterine cervical ripening, *Peptides (N.Y.)* 23 (2002). [https://doi.org/10.1016/S0196-9781\(01\)00593-9](https://doi.org/10.1016/S0196-9781(01)00593-9).
- [48] A. Klukovits, R. Gáspár, P. Sántha, G. Jancsó, G. Falkay, Role of capsaicin-sensitive nerve fibers in uterine contractility in the rat, *Biol Reprod* 70 (2004) 184–190. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.103.017699>.
- [49] B. Jana, J. Całka, K. Witek, Investigation of the role of pituitary adenylate cyclase-activating peptide (PACAP) and its type 1 (PAC1) receptor in uterine contractility during endometritis in pigs, *Int J Mol Sci* 23 (2022). <https://doi.org/10.3390/ijms23105467>.
- [50] A. Klukovits, J. Verli, G. Falkay, R. Gáspár, Improving the relaxing effect of terbutaline with phosphodiesterase inhibitors: Studies on pregnant rat uteri in vitro, *Life Sci* 87 (2010) 733–737. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2010.10.010>.
- [51] M.L. Candenás, E. Arteché, M. Norte, C. Advenier, J.D. Martín, Influence of calcium on the effects of okadaic acid and its interaction with caffeine and theophylline in rat myometrium, *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 350 (1994). <https://doi.org/10.1007/BF00175038>.
- [52] J.B. Calixto, S. Loch, Ketamine-inhibition of calcium-induced contractions in depolarized rat uterus: a comparison with other calcium antagonists, *Br J Pharmacol* 85 (1985). <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1985.tb08846.x>.
- [53] M. Bardou, J. Cortijo, C. Loustalot, S. Taylor, A. Perales-Marín, F.J. Mercier, M. Dumas, C. Deneux-Tharoux, R. Frydman, E.J. Morcillo, C. Advenier, Pharmacological and biochemical study on the effects of selective phosphodiesterase inhibitors on human term myometrium, *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 360 (1999). <https://doi.org/10.1007/s002109900092>.