



Bírálat dr. Gáspár Róbert „Régi és új támadáspontok a korai fájástevékenység gátlására”  
című MTA-doktori értekezéséről

### **Formai értékelés és megjegyzések**

A doktori mű 185 oldal terjedelmű, ebből 8 oldal a bevezetés, 1 oldal a célkitűzés, 14 oldal a módszertani leírás, 86 oldal az eredményleírás, 30 oldal a megbeszélés, 5 oldal az összefoglalás. A téziseit 14 pontban foglalta össze a szerző. Az értekezés 30 saját közlemény anyagára épül, az irodalomjegyzék 284 referenciát tartalmaz. A doktori mű a tudományos disszertációk formai követelményeinek teljes mértékben megfelel. Egyetlen hiányérzetem a formai vonatkozásokban, hogy hiányoltam a 94. ábrához hasonló, további sémás ábrákat, amelyek segíthették volna az eredmények áttekintését.

### **A doktori mű témaválasztása, fontosabb eredményei és általános értékelése**

Az értekezés témaválasztása korszerű, mivel a koraszülés ma is jelentős klinikai probléma, amelynek gyógyszeres megelőzése, illetve akut kezelése csak részben megoldott. Különösen a hosszú távú hatékony és biztonságos profilaktikus terápia területén vannak még hiányosságok. A szerző elsősorban a méhizomzat mozgástevékenységét mérte in vitro rendszerben, patkány, illetve humán uteruszmintákon. Kiemelendő, hogy nemcsak a méhtest, hanem a cervix motilitását is vizsgálta; ugyanis ez utóbbira jóval kevesebb irodalmi adat áll rendelkezésre. A metodikai arzenált kiegészítette többek között reverz transzkripciós PCR-rel, Western blottal, radioimmun méréssel, immunhisztokémiával és az oxidatív státusz meghatározásával. Ez a komplex metodikai megközelítés jelentős erénye a munkának, mivel nagyban elősegítette számos mozgásválasz mechanizmusának a felderítését.

A szerző részletesen vizsgálta az adrenerg  $\alpha$ - és  $\beta$ -receptorok altípusainak szerepét mind a méhtest, mind a cervix területén különböző korú vemhességben. Patkányban a vemhesség végén  $\beta$ 2-receptor-agonista hatására nemcsak méhelernyedés, hanem a cervixrezisztencia fokozódása is kialakul. Ez utóbbi háttérében a  $G_i$ -protein aktiválódása áll. Kimutatta, hogy a vemhesség előrehaladtával az  $\alpha$ 1A-receptor-gátlók uteruszrelaxáló és cervixrezisztencia-növelő hatása erősödik. Igazolta, hogy a vemhesség végén az  $\alpha$ 2B-receptorok gátlása

uterorelaxáns és cervixrezisztencia-növelő hatással bír. A kontrakciók gátlására az  $\alpha 2A$ - és  $\alpha 2C$ -receptor-izgatók is alkalmasak, az egyes  $\alpha 2$ -AR altípusok G-protein kapcsoltsága a vemhesség utolsó napjain számottevő változatosságot mutat. Hiánypótló része a munkának a gyógyszerkombinációk vizsgálata. Sikerült kimutatni, hogy a progeszteron, a feszültségfüggő Ca-csatornák gátlása, a PDE4-gátlás, az AKAP-PKA interakció gátlása, valamint  $\alpha 1A$ -receptor-antagonisták egyaránt fokozzák a  $\beta 2$ -receptor-agonisták méhellazító hatását. Értékes része a munkának a peptidmediátorok hatásainak vizsgálata is. A fájdalomérzésben szerepet játszó peptidok közül mind a nociceptin, mind a nocistatin expresszióját és méhellazító hatását sikerült kimutatni. Mindkét peptid hatásában a cAMP-emelkedése játszik szerepet. A nociceptin az ORL1-receptorok aktiválásával, míg a nocistatin CGRP közvetítésével hat a méhben. Ez utóbbi forrása a kapszaicinérzékeny érzőneuronok végződése. A kisspeptin, leptin és adiponectin uterusrelaxáló hatását is sikerült kimutatni, azzal együtt, hogy a vemhesség előrehaladásával ez a hatás csökken. A kisspeptin és az adiponectin a vemhesség végén csökkenti a cervix-rezisztenciát. Gyulladásos koraszülés-modellben a szerző kimutatta, hogy a megnövekedett TNF $\alpha$ -szint hozzájárul a terbutalin megnövekedett relaxációs hatásához, melynek hátterében a fokozott cAMP-termelődés valószínűsíthető. Igazolódott, hogy az antioxidáns tokoferol a terbutalin cervixrezisztenciát fokozó hatását gyengíti. A vemhes méhben mindkét COX-enzim kimutatható, és a gátlásuk relaxáló hatást eredményez, amit a tokoferol fokoz. Nem várt eredmény, hogy a COX-1/COX-2 gátlása a vemhes cervix rezisztenciáját csökkenti, és ezt a hatást is felerősíti a tokoferol.

Összességében elmondható, hogy a szerző értékes adatokat szolgáltatott a tokolítikumok kutatásának terén. Nagy mennyiségű eredményt mutat be az értekezésében, ez is fontos erénye a doktori műnek. Megítélésem szerint Gáspár Róbert fentiekben összefoglalt eredményei tudományos szempontból jelentősek, és érdemben gyarapítják ismereteinket a méhizomzatra, beleértve a cervixet is, ható ágensek farmakológiájáról. Eredményeinek gyógyszerfejlesztési szempontból is lehet relevanciája új típusú tokolítikum-kombinációk kipróbálásának vonatkozásában. A doktori mű szövege jól követhető, de egyben olvasmányos is. Kiemelendő a szerző precíz fogalmazásmódja. A doktori mű ábraanyaga bőséges, az ábrák kiváló minőségűek. Kiemelendő pozitívum, hogy a szerző az összes ábra feliratát magyarosította, ami igen jelentős többletmunka volt. Ritka pozitív jelenség, hogy a szerző tizedesvesszőt használt a magyar szaknyelvet elárasztó angol eredetű tizedesponthelyett. Hasonlóan kiemelendő a szerző szakirodalmi tájékozottsága, amit a 284 irodalmi hivatkozás is igazol. Helyesírási hiba alig fordul elő a szövegben.

## Új, fontos eredményként a szerző összes téziséét elfogadom

1. Patkányban a vemhesség végén  $\beta$ 2-AR agonista hatásra fokozódik a cervix rezisztencia, melynek háttérében a  $\beta$ 2-AR Gi-protein kapcsoltságának dominanciája áll.
2. Patkányban a vemhesség előrehaladtával az  $\alpha$ 1A-AR gátlók uterus relaxáló és cervix rezisztencia növelő hatása erősödik. A szerotonerg hatással nem rendelkező  $\alpha$ 1A-AR-blokkolók relaxáló hatása erősebb.
3. Patkány uterusban a vemhesség végén  $\alpha$ 2B-AR gátlása uterorelaxáns és cervix rezisztencia növelő hatással bír. A kontrakciók gátlására az  $\alpha$ 2A- és  $\alpha$ 2C-AR izgatók is alkalmasak, az egyes  $\alpha$ 2-AR altípusok G-protein kapcsoltsága a vemhesség utolsó napjain jelentős diverzitást mutat.
4. A P4 előkezelés jelentősen megnöveli a  $\beta$ 2-AR agonisták uterorelaxáns hatását, melynek háttérében a vemhesség utolsó napján a Gs-protein kapcsoltság fokozása áll.
5. A  $\beta$ 2-AR agonisták uterorelaxáns hatása patkányban Ca-csatorna blokkolók jelenlétében nagymértékben fokozódik, koraszüléssel modellen a kombináció a normál vemhességi terminus végéig nyújtja a gesztációs időt.
6. A  $\beta$ 2-AR agonisták PDE4 gátlókkal kombinálva elsősorban gyulladáscsökkentő patkány koraszülés modellben, illetve koraszülésből származó humán mintákon hatékonyak. Utóbbi szövetekben PDE4B izoenzim dominancia mérhető.
7. A  $\beta$ 2-AR agonisták AKAP-PKA gátlóval való kombinációja során a vemhes patkány uterusban nagymértékben fokozódik a  $\beta$ 2-AR-okon keresztüli cAMP termelés és relaxáció.
8. A  $\beta$ 2-AR agonisták  $\alpha$ 1A-AR antagonistákkal való kombinációja patkányban növeli az uterorelaxáns hatást, mely előnyös lehet preeclampsia és terhességi hipertónia esetén.
9. A P4 előkezelés feltételezhetően a receptorok csökkent Gq/11-protein kapcsoltságán keresztül fokozza a  $\alpha$ 1A- és  $\alpha$ 1D-AR antagonisták uterorelaxáns hatását.
10. Valamennyi  $\alpha$ 2-AR altípus expressziója csökken E2 előkezelés következtében, ami csökkenti az  $\alpha$ 2B-AR mediált kontrakciót, melynek háttérében feltehetően a Gi-protein alegységek változó aktiválása állhat. A P4 előkezelés hatására valamennyi receptor altípus expressziója fokozódik és kontrakció csökkenés tapasztalható, melynek háttérében a megváltozott G-protein kapcsoltság és a megemelkedett szöveti cAMP szint igazolható.
11. A nociceptin és a nocistatin a gesztációs időszakban mind a patkány, mind pedig a humán uterusban szintetizálódik és szerepet játszik a méhkontrakciók gátlásában. A nociceptin az ORL1 receptoron, míg a nocistatin a CGRP felszabadulásán keresztül emeli az uterusban cAMP szintet.

12. A kisspeptin, leptin és adiponectin gátolják a vemhes patkány uterusz kontrakciókat, mely hatásuk a vemhesség előrehaladtával gyengül, szerepük valószínűleg az uterusz nyugalmi állapotának fenntartásában van. A cervixen a kisspeptin és az adiponectin a vemhesség végén csökkenti a rezisztenciát. Patkány vemhességi obezításban a megemelkedett P4 és gyulladáscsökkentő citokin szint következtében a spontán kontraktilitás csökken, a vizsgált adipokinek relaxáló hatása nagymértékben függ a kontrakciót kiváltó ágensztől, a cervix rezisztenciára pedig egyedül a leptin van hatással, melyet csökkent.

13. Gyulladásos koraszülés modellben igazoltuk, hogy a megnövekedett TNF $\alpha$ -szint szerepet játszik a  $\beta$ 2-AR agonista terbutalin megnövekedett relaxációs hatásában, melynek hátterében a fokozott cAMP termelődés állhat.

14. Az antioxidáns tokoferol a terbutalin cervix rezisztenciát fokozó hatását gyengíti, míg a COX-gátlók cervix rezisztenciát csökkentő hatást erősíti, ami patkányban a gesztációs idő rövidüléséhez vezet.

### **Kritikai megjegyzések és kérdések**

1./ A 9. oldal alsó részén nem világos, hogy milyen receptorális mechanizmus felel a magas dózisú  $\beta$ 2-mimetikumok említett mellékhatásaiért. Ugyancsak a 9. oldalon kívánatos lett volna néhány  $\beta$ 2-mimetikum megnevezése.

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

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

4./ Az obez hangzása magyartalan, lehetett volna elhízotttal helyettesíteni.

5./ A 37. oldalon említett cervixrezisztencia kifejezés jelentését nem találtam meg.

6./ 38. oldal: A G<sub>s</sub> fehérje nem a cAMP aktiválódását, hanem annak képződését tudja elősegíteni.

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

8./ A 49. oldalon a 23. ábra kapcsán a szerző a terbutalin hatékonyságának növekedéséről szól az EC<sub>50</sub> csökkenése alapján. Nem inkább a hatásereőség nő meg?

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

10./ 26. ábra: mi lehet annak az oka, hogy a B panelen mutatott ábrán nincs EC<sub>50</sub>-változás, csak az E<sub>max</sub> nő meg?

11./ Az 59. oldalon a szerző azt állítja, hogy az AKAP–PKA kölcsönhatás szükséges a  $\beta$ 2-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?

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  $\alpha$ -antagonisták kombinációját elemzi. Itt tehát a noradrenalin csak egy tesztanyag, nem pedig tokolítikum, vagyis ez lényegében az  $\alpha$ -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.

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

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

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

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

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.

18./ 121. oldal: hogyan okozhat a  $\beta$ 2-agonista szer hipertóniát? Nem inkább hipotóniáról van szó?

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

20./ 129. oldal: hogyan értelmezendő az 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?

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

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

### **Tartalmi kérdések a doktori művel kapcsolatban**

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

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

3./ A noradrenalin a cervixrezisztenciát a 18. napon növelte, a 20-on csökkentette, mindkét esetben ugyanaz az  $\alpha_2A$  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?

4./ Milyen jelátviteli út lehet felelős az  $\alpha_1A$ -receptor-antagonista WB4101 cervixrezisztenciát növelő hatásáért? Konkrétan, mi lehet a mechanizmusa egy  $\alpha$ -receptor-antagonista szer (WB4101) esetében a fokozott G-protein-aktivációnak a cervixben (42. oldal)? Ha egy antagonisták növeli a G-protein-aktivációt, az endogén agonistának csökkenteni kell azt. Ez utóbbi hogyan jöhet létre?

5./ Milyen mechanizmusok állhatnak a  $\beta_2$ -agonistákkal kapcsolatos tolerancia hátterében?

6./ Mi lehet a terbutalin és más  $\beta_2$ -receptor-agonisták cervixrezisztenciát növelő hatásának a mechanizmusa? Hogyan jön a képbe a cAMP-szint szerző által igazolt megemelkedése a cervixben? Ismert-e példa  $\beta_2$ -receptor-agonista más fajta simaizmot összehúzó hatására? Mi az egyéb klinikailag használatos tokolítikumok hatása a cervixrezisztenciára?

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,

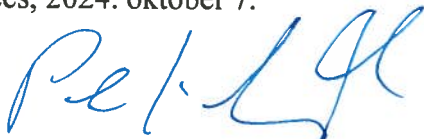
a CGRP). Ha ezután kívülről viszünk be CGRP-t, akkor mi annak a saját hatása, kivált relaxációt? Ha igen, akkor hogyan értelmezhető a nocistatin további relaxáló hatása: a kívülről bevitt CGRP már hat, de nincs endogén neuropeptid, amit a nocistatin fel tudna szabadítani. Megítélésem szerint nem zárható ki egy további nocistatinhatás lehetősége: pozitív interakció a nocistatin és a CGRP között (ez működhet alaphelyzetben az endogén, és peptiddepléción után a kívülről beadott CGRP-vel is). Mi erről a szerző véleménye?

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

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

A fentiekben felsorolt kritikai megjegyzéseim nem érintik a dolgozat fő állításainak és következtetéseinek a validitását. Meg vagyok győződve arról, hogy a jelölt értékes munkássággal rendelkezik, és az írásmű megfelel az MTA doktori disszertáció formai és tartalmi követelményeinek. A doktori műben felsorolt eredményeket hitelesnek és az MTA doktora cím megszerzéséhez elegendőnek tartom, a doktori művet nyilvános vitára bocsátását javaslom.

Pécs, 2024. október 7.



Dr. Pethő Gábor

egyetemi tanár

MTA doktora

