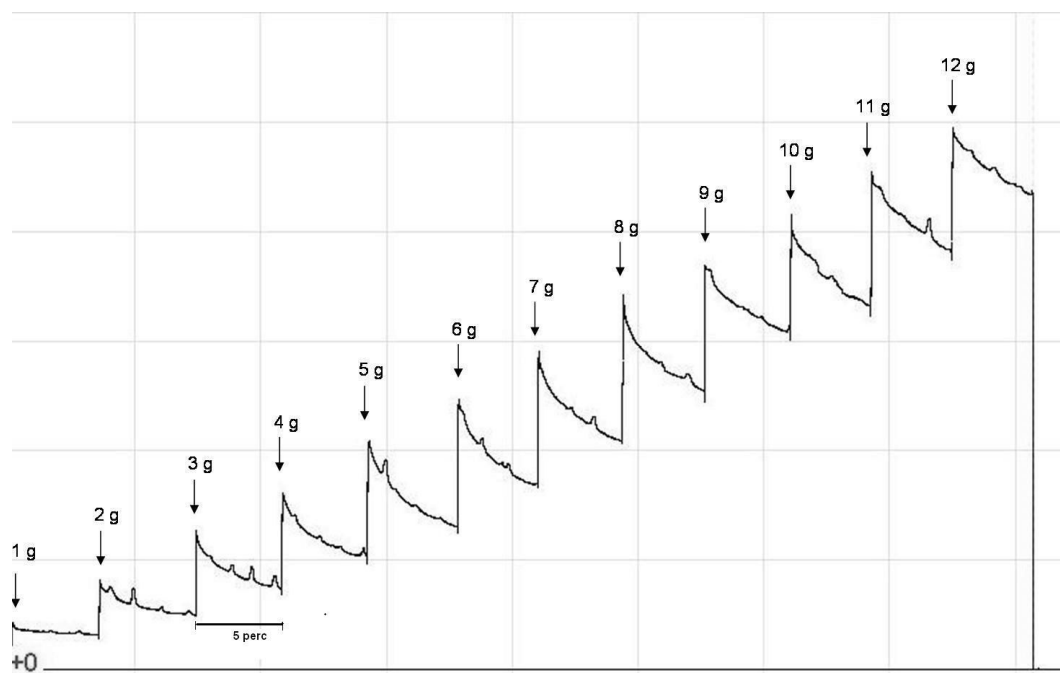


Zárójelentés

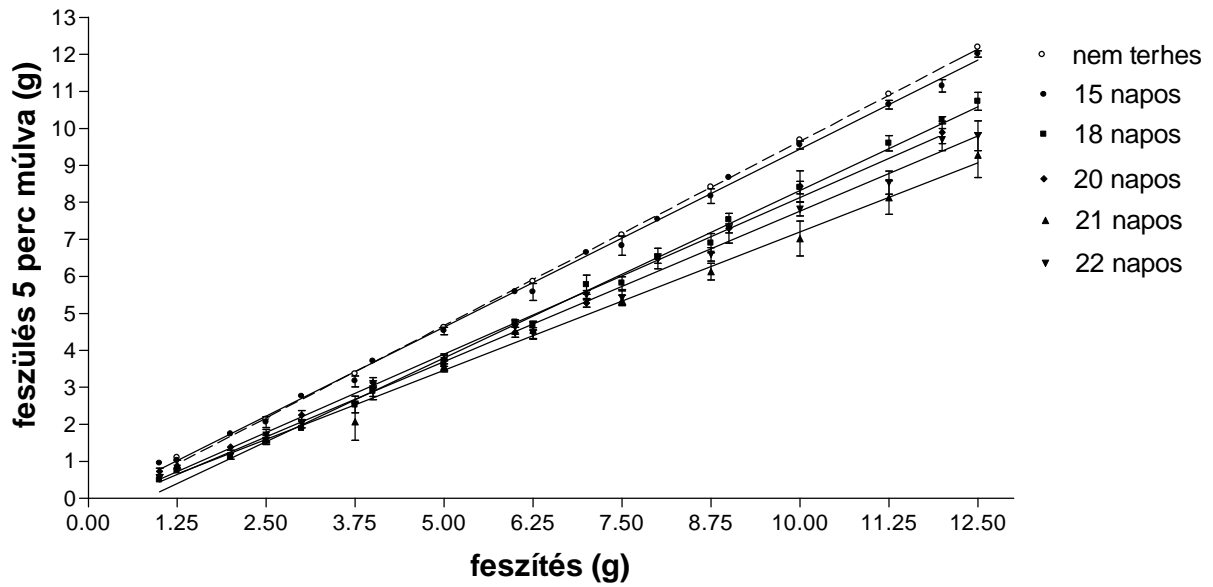
A kutatás fő célkitűzése a β_2 agonisták és altípus szelektív α_1 antagonisták hatásának vizsgálata a terhesség során a patkány cervix éréseire összehasonlítva a corpusra gyakorolt hatásokkal.

A) A cervix nyújthatóságának (rezisztencia) állatkísérletes meghatározása terhes és nem terhes patkányban.

A nem terhes és terhes állatokból a cervix szövetminták kimetszését követően izomgyűrűket preparáltunk és izolált szervfürdőbe helyeztük. A preparátumokat lépcsőzetesen 1 g-onként feszítettük és minden egyes lépésben mértük a feszítésre kapott relaxációs választ (1. ábra). A kezdeti, valamint a relaxációs időt (5 perc) követő feszülési értékeket koordináta rendszerben ábrázoltuk és egyenest illesztettünk rá. Az egyenes meredekségével arányos a cervix rezisztenciája (2. ábra).



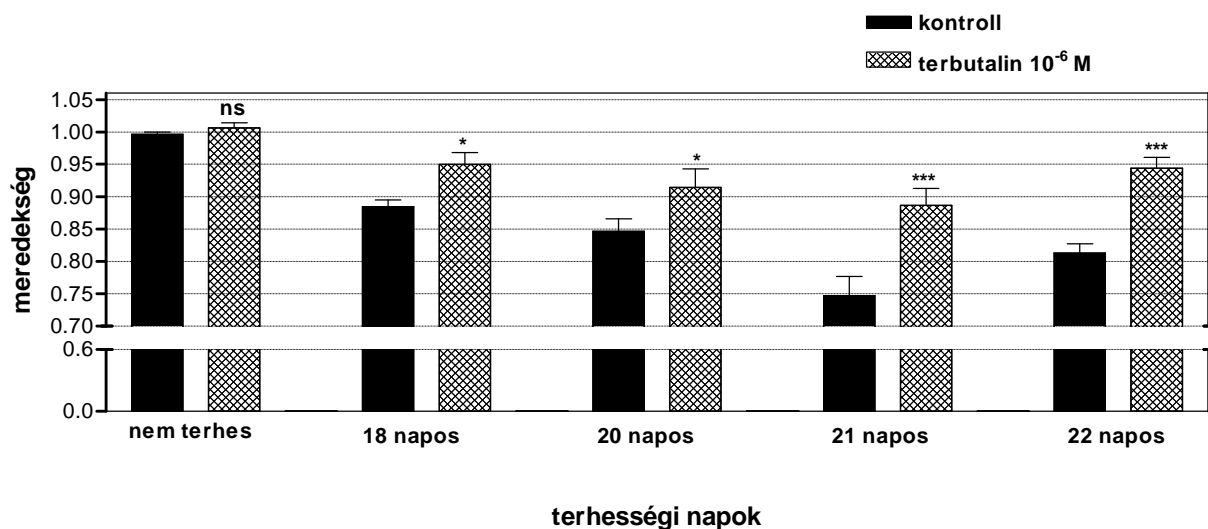
1. ábra. Cervix rezisztencia vizsgálat reprezentatív regisztrátuma



2. ábra Cervix rezisztenciát jellemző regressziós egyenesek nem terhes és terhes patkányban.
Az egyenesek meredeksége arányos a cervix rezisztencia értékével.

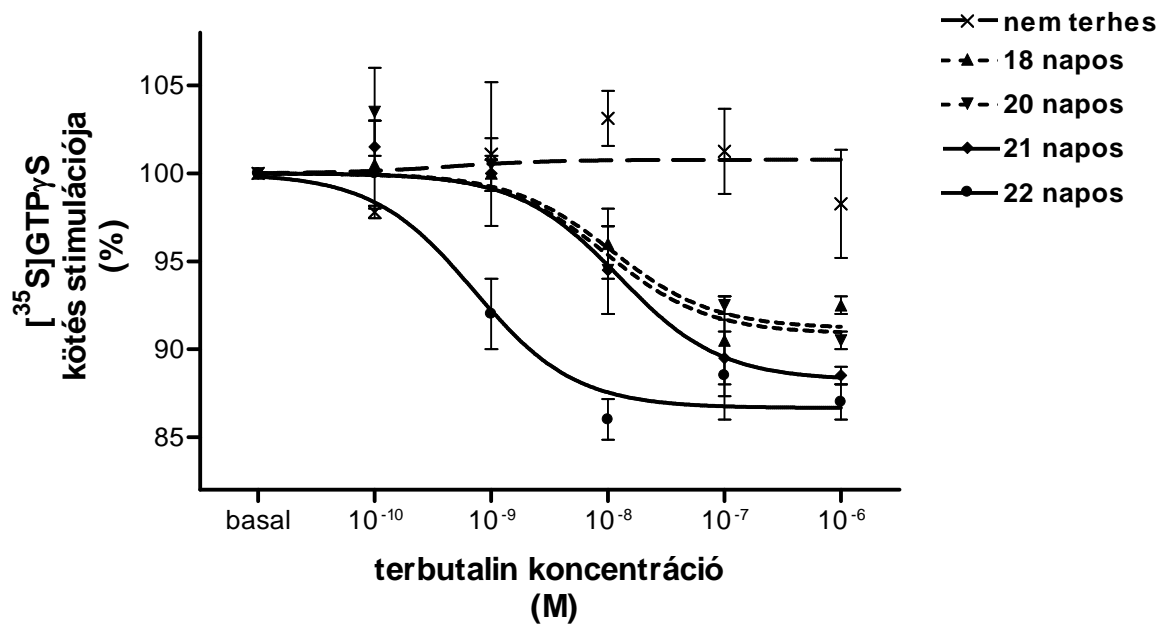
B) Adrenerg hatóanyagok hatása a corpusra és cervixre

Az eredményeink alapján megállapítható, hogy a terbutalin a terhesség 18. napjától a cervix rezisztenciáját fokozza (3. ábra).



3. ábra A terbutalin patkány cervix rezisztenciát fokozó hatása
A terbutalin nyújtással szembeni rezisztenciát fokozó hatása nem terhes cervixen nem mutatható ki, míg a terhesség 18. napjától jelentős fokozás tapasztalható

A mechanizmus feltárása érdekében meghatároztuk a β_2 adrenerg receptor fehérje változást (Western blot) és azt találtuk, hogy a 18. napon szignifikáns emelkedés mutatható ki, mely a terminusig fennáll. A fokozott receptor szintézist PCR technikával is igazoltuk. GTP γ S kötési vizsgálatokkal igazoltuk, hogy terbutalin hatására a cervix β_2 adrenerg receptorainak G-protein kapcsoltsága csökken (4. ábra), mely magyarázza a cervix rezisztenciájának növekedését.

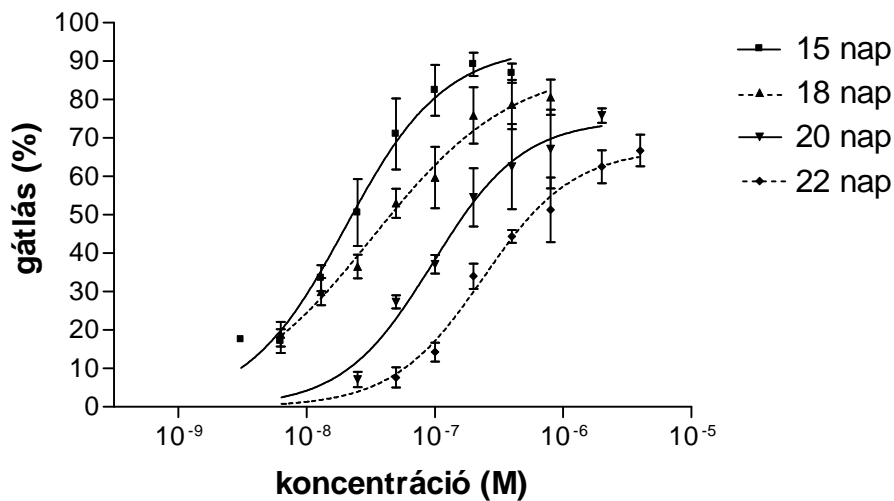


4. ábra Az aktivált G-protein változása terbutalin hatására patkány cervix preparátumon
A nem terhes cervixben lényegében nincs kapcsoltság a receptor és a G-protein között, míg a 18. naptól a terhesség végéig a terbutalin dóziszfüggően csökkenti az aktivált G-protein mennyiségét.

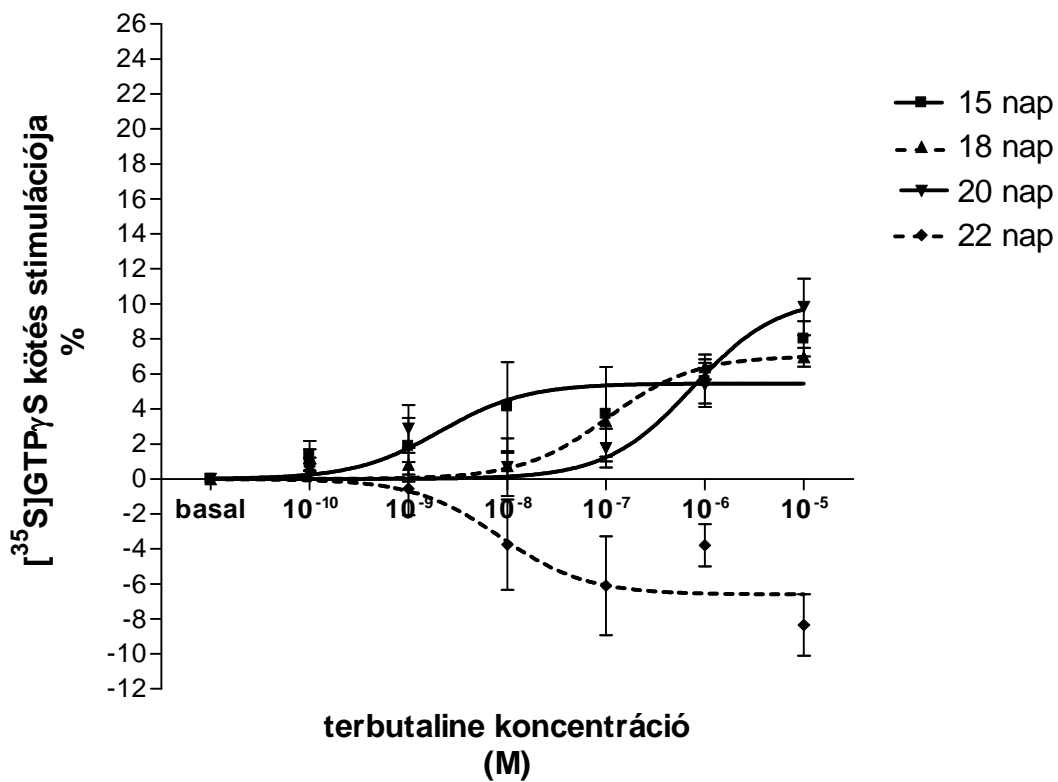
A terbutalin ezen hatása teljesen ellentétes más szervek símaizomra gyakorolt eddig ismert hatásával. A feltárt jelenség a klinikai tokolízis során jótékony hatású lehet, amennyiben az állatkísérletben igazolt mechanizmus humán vonatkozásban is érvényesül.

C) Terbutalin hatása a corpus kontraktilitásra

Eredményeink alapján a corpus terbutalin érzékenysége csökken a terhesség előrehaladtával (5. ábra), melynek molekuláris szintű magyarázata szintén a G-protein kapcsoltságban keresendő (6. ábra).



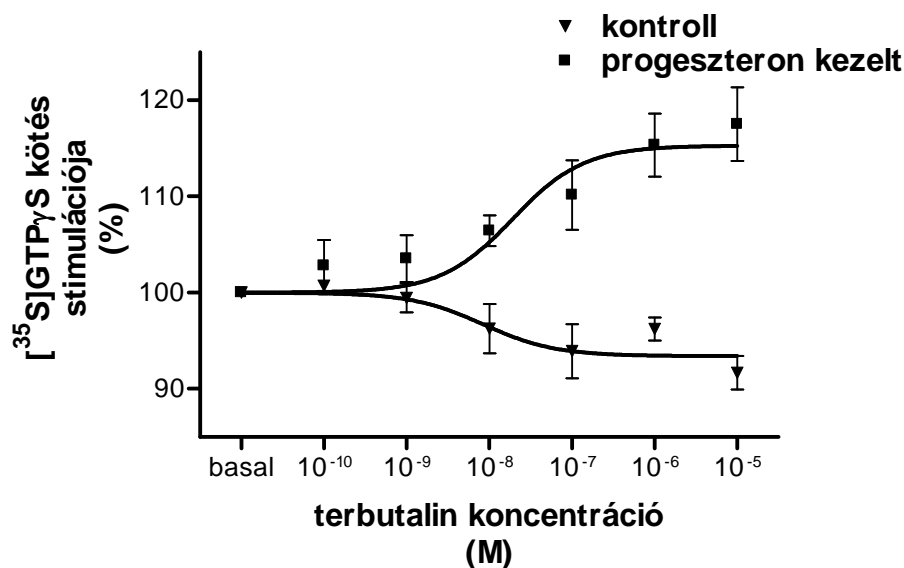
5. ábra A terbutalin elektromos erőter stimulált uterusz kontrakciót gátló hatása
A terhesség előrehaladtával a terbutalin maximális hatása folyamatosan csökken, ezzel párhuzamosan a dózishatás görbék egyre inkább jobbra tolódnak, mely szintén jelzi a hatékonyság csökkenését.



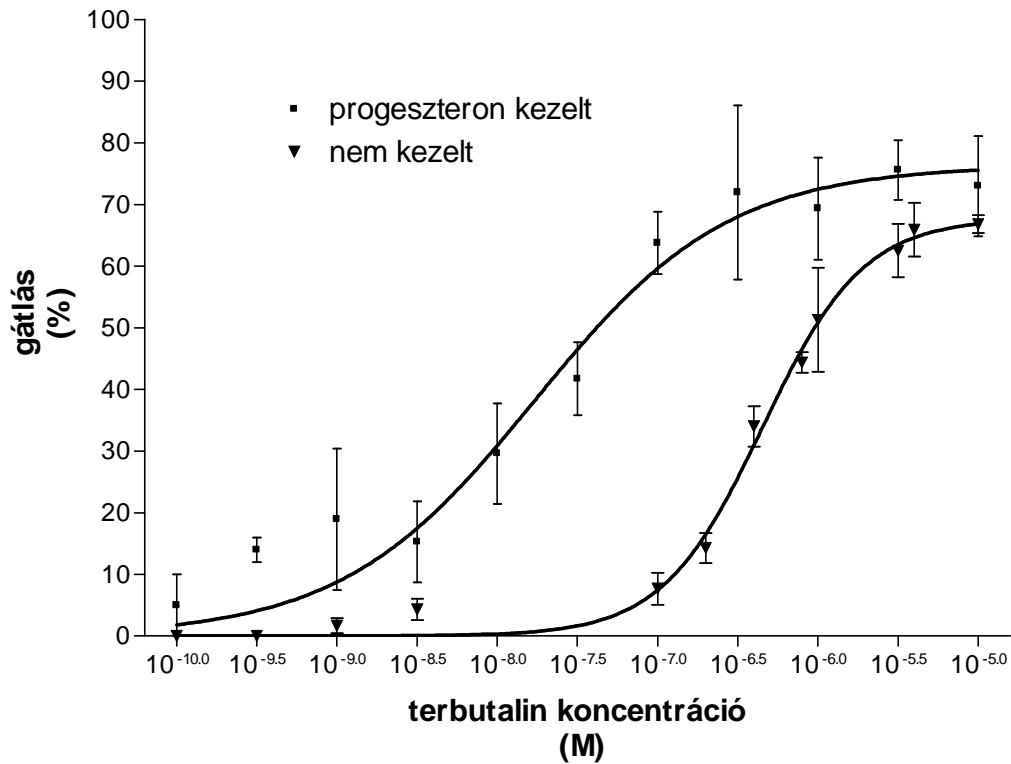
6. ábra A terbutalin aktivált G-protein befolyásoló hatása terhes patkány corpus preparátumon
A terhesség előrehaladtával a terbutalin G-protein aktiválódást kiváltó hatása mindinkább jobbra tolódik, a 22. napon pedig kifejezett aktivált G-protein szint csökkenés figyelhető meg.

A corpusban a cervix-szel ellentétben betamimetikumok hatására a G-protein kapcsoltság fokozódik, melynek eredményeképpen a corpus relaxál. Ennek mértéke azonban markánsan csökken a terminushoz közeledve, mely megmagyarázza a betamimetikumra adott csökkent farmakológiai reaktivitást. Ez a jelenség magyarázatot adhat a betamimetikumok klinikumban észlelt hatástalanságára is.

Mivel az adrenerg rendszer a terhes uterusban a szteroid hormonok szabályozása alatt áll, további kísérleteinkkel igazoltuk, hogy a terhesség 15. napjától adott gesztagén szubsztitúció szignifikánsan megnöveli a corpus beta agonista érzékenységét, azaz fokozza a G-protein kapcsoltságot (7.-8. ábra).

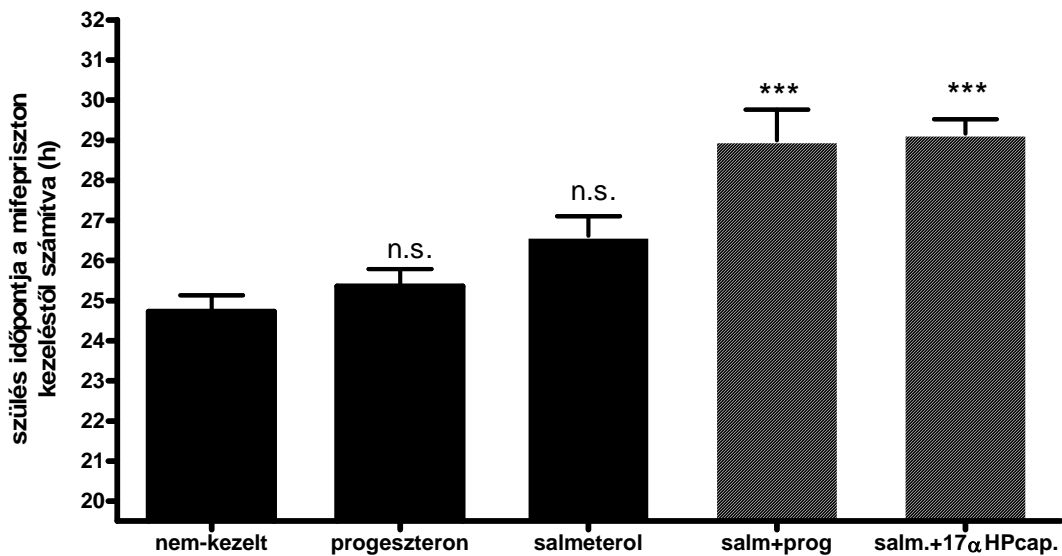


7. ábra Progeszteron kezelés hatása a terbutalin aktivált G-protein szintet befolyásoló hatására 22 napos terhes corpus preparátumon
A 7 napos progeszteron előkezelés megfordította a terbutalin hatását és jelentős mértékben fokozta a terbutalin G-proteint stimuláló hatását.



8. ábra Progeszteron kezelés hatása a terbutalin corpus relaxáló hatására 22 napos terhes patkányban in vitro. A 7 napos progeszteron kezelés a terbutalin kontrakciót gátló dózishatás görbéjét balra tolta, a maximum értékét pedig fokozta.

A feltárt mechanizmusnak klinikai-terápiás jelentősége is lehet a jövőben. Ennek érdekében vizsgálatainkat kiterjesztettük in vivo patkány koraszülés modellre is, melyben a gesztagén szubsztitúció potencírozó hatását bizonyítottuk (8. ábra).

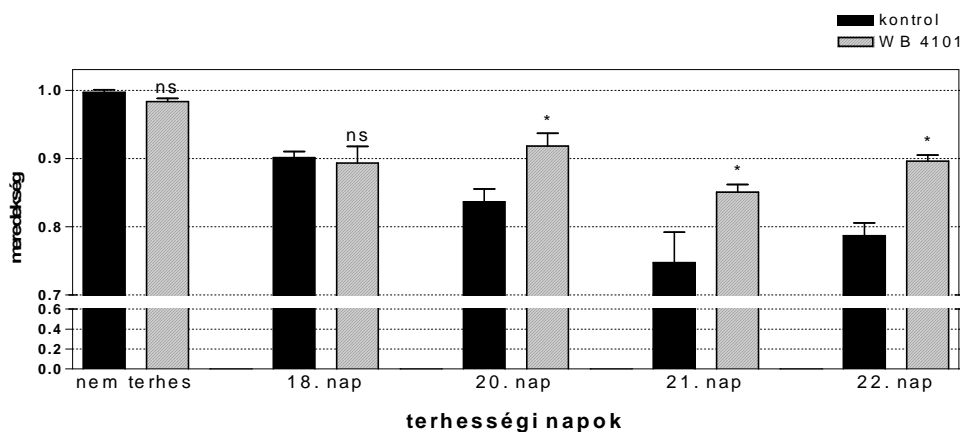


8. ábra A gesztagén-betamimetikus kombináció hatása patkány koraszülés modellen. Sem a gesztagén, sem a betamimetikus kezelés önmagában nem nyújtotta ki az indukált koraszülés időpontját, ugyanakkor a salmeterol kombinációja progeszteronnal és 17-hidroxiprogeszteron-kapronáttal mintegy 5-6 órával késleltette a koraszülést, ami ebben a modellben igen jelentős hatásnak számít.

Mindezen experimentális evidenciák elégségesnek bizonyultak arra, hogy a gesztagén + betamimetikum kombinációs terápia humán kivizsgálására javaslatot tegyünk a Richter G. RT-nek.

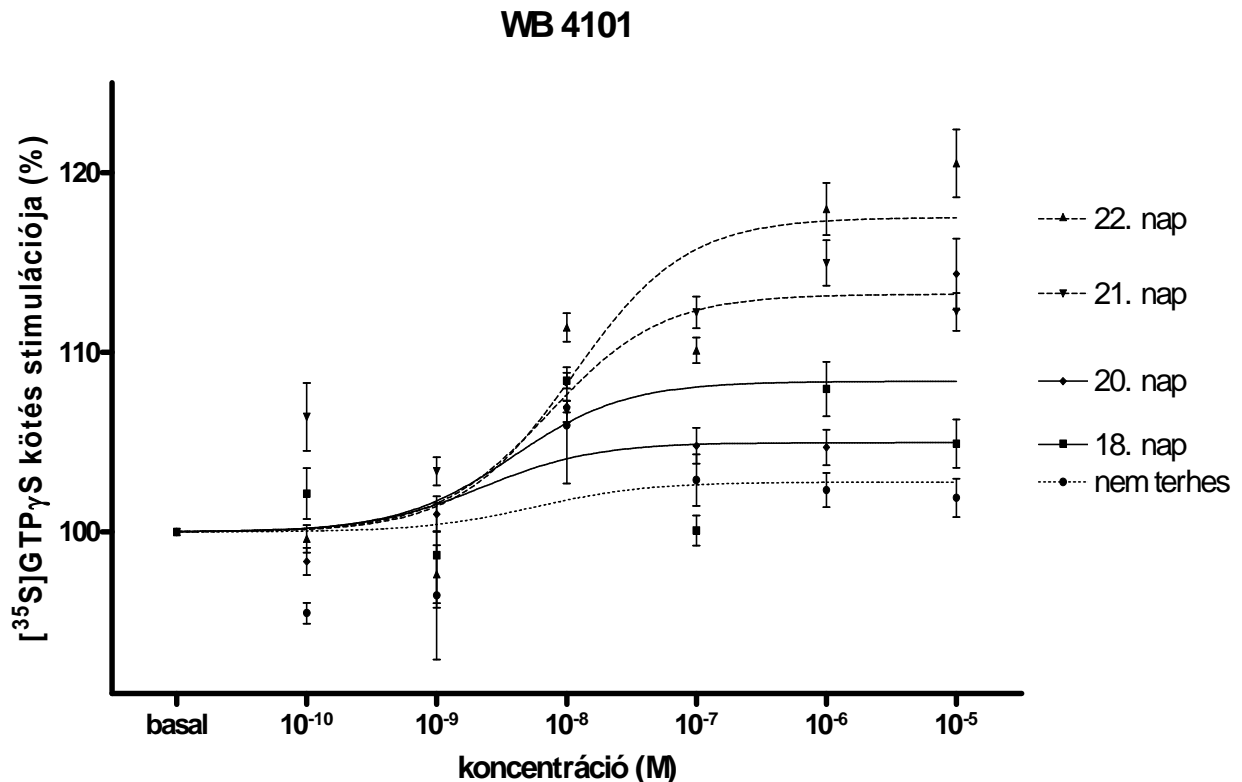
D) α_1 -adrenerg receptor altípus szelektív antagonisták hatása a cervix rezisztenciára terhes patkányban

A program egyik fő célja annak bizonyítása volt, hogy az α_1 -adrenerg receptor blokkolók ún. uterusz szelektív hatásai (corpus relaxáció, cervix rezisztencia fokozás) új támadáspontot jelenthetnek a koraszülés terápiájában. Az altípus szelektív blokkolók tokolitikus hatását korábban kimutattuk és publikáltuk. A programnak megfelelően az altípus szelektív blokkolók hatását vizsgáltuk a cervix rezisztenciára a korábban kidolgozott in vitro módszerünk segítségével. Meghatároztuk az α_1 -adrenerg receptorok altípusainak mRNA expresszióját PCR technikával. Megállapítottuk, hogy az α_{1A} és α_{1B} mRNA expresszió jelentős, még az α_{1B} expressziója elhanyagolható. Megvizsgálva az altípusszelektív antagonisták cervix rezisztenciát fokozó hatását, azt találtuk, hogy az α_{1A} antagonistá WB4101 szignifikánsan fokozta a cervix nyújtással szembeni rezisztenciáját a terhesség 20-22. napján (9. ábra).



9. ábra A WB4101 α_{1A} adrenerg receptor szelektív antagonistá hatása a cervix rezisztenciára patkányban
A vegyület a terhesség 20. napjától szignifikánsan fokozta a patkány cervix nyújtással szembeni rezisztenciáját.

Ezzel további bizonyítékot szolgáltatunk arra, hogy az α_1 altípus szelektív antagonisták potenciális tokolitikumok, melyek a corpus relaxációval egyidőben képesek a cervix érési folyamatait lassítani. Az α_{1B} és α_{1D} antagonisták nem bizonyultak hatásosnak e tekintetben. A hatásmechanizmussal kapcsolatban kimutattuk, hogy a WB4101 GTP γ S kötési vizsgálatban fokozza az aktivált G-protein mennyiségét (10. ábra), melyet a vegyület inverz agonista hatásával magyarázhatunk.



10. ábra A WB4101 α_{1A} adrenerg receptor szelektív antagonistá hatása a G-protein aktivációra patkány cervix preparátumon

A vegyület a terhesség 20. napjától jelentős mértékben fokozta a keletkező aktivált G-protein mennyiségét.