

Wpływ niesteroidowych leków przeciwzapalnych na owulację i tworzenie ciała żółtego

MAŁGORZATA CHROSTOWSKA, JERZY J. JAROSZEWSKI, TOMASZ MAŚLANKA

Zespół Farmakologii Katedry Patologii i Farmakologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM,
ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn

Chrostowska M., Jaroszewski J. J., Maślanka T.

Effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) on ovulation and development of the corpus luteum

Summary

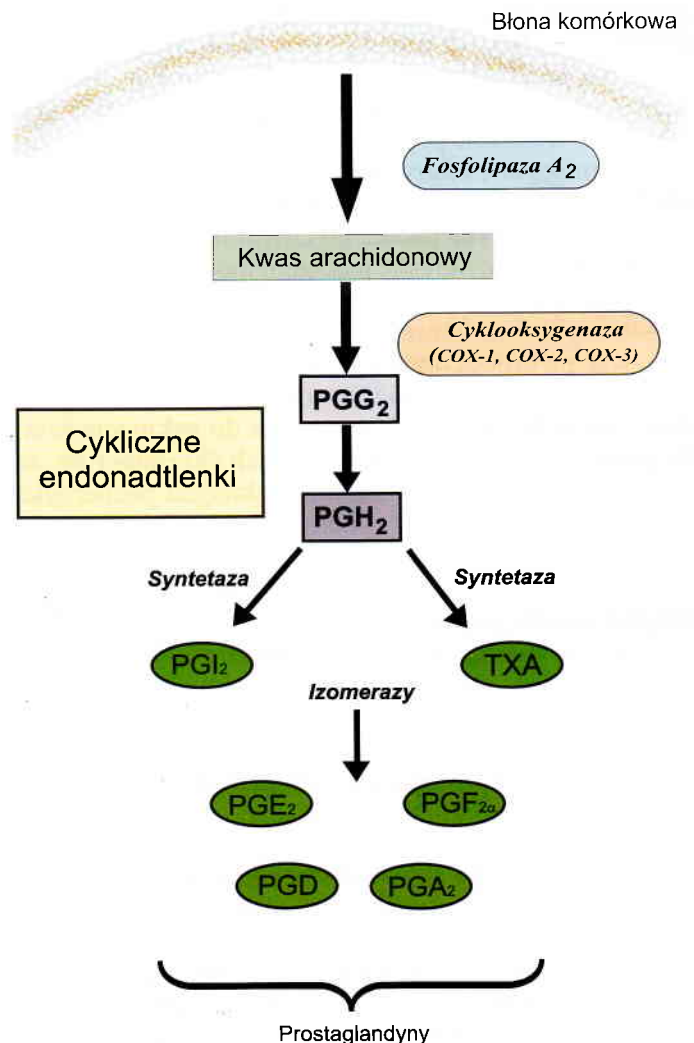
The main mechanism of non-steroidal anti-inflammatory drugs action is related to inhibiting prostaglandin synthesis. Prostaglandins play a very important role in ovulation; thus, inhibiting their synthesis by non-steroidal anti-inflammatory drug treatment may cause disorders in the ovarian cycle. The purpose of the article was to summarize the latest knowledge about the effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs on ovulation and development of the corpus luteum.

Keywords: ovulation, prostaglandins, non-steroidal anti-inflammatory drugs

Niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ) należą do jednej z najczęściej stosowanych grup leków w medycynie ludzkiej. Są one również coraz powszechniej używane u małych i dużych zwierząt. Leki te wywierają działanie przeciwzapalne, przeciwbólowe oraz przeciwgorączkowe. W 1971 r. Vane (36) wykazał, że NLPZ hamują syntezę prostaglandyn (PG) i aktualnie uważa się, że główny mechanizm działania tej grupy leków związany jest z hamowaniem aktywności cyklooksygenazy (COX), co w konsekwencji prowadzi do zmniejszenia syntezy prozapalnie działających PG (36). Ponieważ eikozanoidy pełnią bardzo ważną rolę regulacyjną w układzie rozrodczym, celem niniejszego opracowania jest przedstawienie krótkiej charakterystyki dotyczącej wpływu NLPZ na proces owulacji i tworzenie ciała żółtego.

Synteza prostaglandyn

W organizmie ssaków PG powstają z kwasu arachidonowego przy udziale COX. Schematyczny cykl przemian tego kwasu przedstawia ryc. 1. Aktualnie poznana jest rola dwóch izoform tego enzymu, tj. COX-1 i COX-2, które w różny sposób podlegają ekspresji w komórkach ssaków. Ekspresję COX-1 stwierdzono praktycznie we wszystkich tkankach ssaków, a powstające przy jej udziale PG zapewniają prawidłowy przebieg procesów fizjologicznych (np. regulują czynność błony śluzowej przewodu pokarmowego, nerkowy przepływ krwi czy agregację płytek krwi) (7, 13). Z kolei aktywność COX-2 jest indukowana między innymi przez cytokiny, mitogeny oraz endotoksyny i jest odpowiedzialna za zwiększoną produkcję PG w stanach zapalnych (17). Aktualnie stosowane leki z grupy NLPZ, w zależności od zastosowanej substancji czynnej, mniej lub bardziej se-



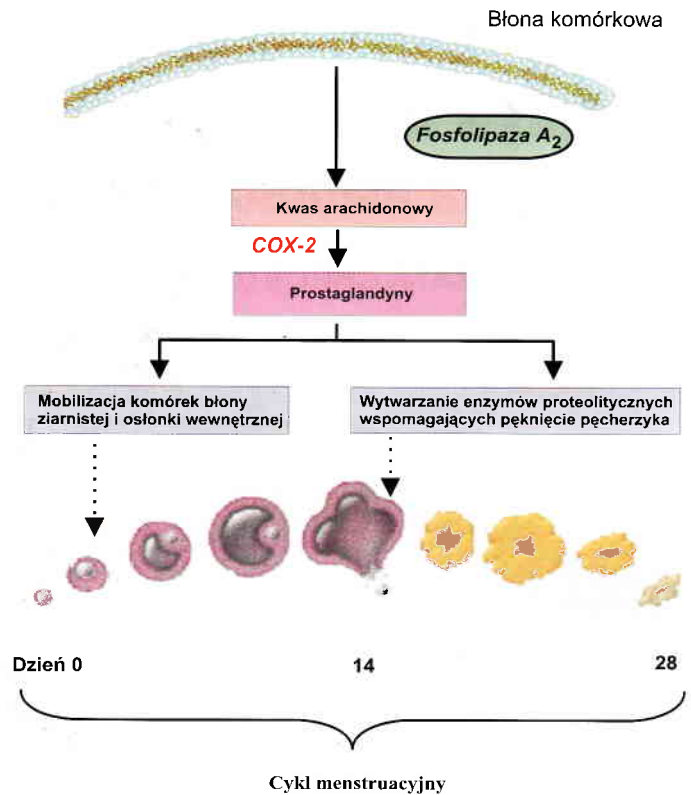
Ryc. 1. Schemat syntezy prostaglandyn z kwasu arachidonowego

lektywnie hamują aktywność COX-1 i COX-2 (37). W 2002 r. Warner i Mitchel (40) wykazali obecność izoformy COX-3 (podtypu izoformy COX-1) w mózgu psów, której aktywność była hamowana przez paracetamol i metamizol (32). Występowanie tej izoformy zostało potwierdzone również w mózgu szczurów (16), jednakże jej rola w mechanizmie działania NLPZ jest słabo poznana.

Regulacja procesu owulacji

Owulacja jest złożonym procesem, indukowanym u wielu gatunków ssaków przez przedowulacyjny wyrzut hormonu luteinizującego (LH) (1, 12, 21, 30, 35, 39), który inicjuje kaskadę przemian prowadzących do pęknięcia i luteinizacji ścianki pęcherzyka (6). Owulacja w sposób uproszczony jest opisywana jako pęknięcie w pełni rozwiniętego pęcherzyka przedowulacyjnego. Należy ją jednak postrzegać jako proces uwolnienia dojrzałych oocytów do przestrzeni okołojajnikowej, wymagający do prawidłowego przebiegu ograniczonego przestrzennie pęknięcia ściany pęcherzyka (12). Według wielu autorów proces ten wykazuje biofizyczne i biochemiczne podobieństwo do typowej reakcji zapalnej (1, 33). Przedowulacyjny wyrzut gonadotropin wzmacnia ekspresję wielu genów, między innymi genu warunkującego syntezę COX, a głównie COX-2, w komórkach warstwy ziarnistej i osłonki wewnętrznej pęcherzyka jajnikowego (6). U wielu gatunków ssaków wzrost ekspresji COX-2 powoduje podwyższenie poziomu PG w okresie poprzedzającym owulację, co wskazuje, iż mogą one odgrywać istotną rolę w tym procesie (6). Udział PG w przebiegu owulacji przedstawia ryc. 2.

Pomimo licznych badań, do chwili obecnej nie udało się jednoznacznie określić mechanizmów odpowiedzialnych za prawidłowy przebieg owulacji. Jednym z proponowanych mechanizmów, poprzez który PG mogą wpływać na proces owulacji, jest stymulacja kolagenazy poprzez pobudzenie aktywatora plazminogenu i plazminy, co w konsekwencji prowadzi do pęknięcia ściany pęcherzyka (41). Z kolei Murdoch (22) sugeruje, że miejsce, w którym dochodzi do pęknięcia pęcherzyka zaczyna się wykształcać dopiero wtedy, gdy dojrzały pęcherzyk kontaktuje się z powierzchnią jajnika, a komórki związane z formowaniem znamienia owulacji (stigmy) podlegają morfologicznym i biochemicznym zmianom wskazującym na ich apoptozę. Apoptoza jest aktywnym modelem fizjologicznej śmierci komórki, charakteryzującym się napływem wapnia, aktywacją endonukleazy, fragmentacją oligonukleosomów i kondensacją jądra. Komórki apoptotyczne kurczą się i tracą kontakt z komórkami sąsiadującymi. Fagocyty w ciągu kilku godzin resorbują ciała resztkowe degenerujących komórek (25). Przypuszcza się, że PG pochodzenia jajnikowego są mediatorami apoptozy zachodzącej na szczycie (*apex*) pęcherzyka (22). W innych badaniach Murdoch i wsp. (23) wykazali, że wzrastające stężenie LH jest skorelowane ze wzrostem przepływu krwi w przedowulacyjnym pęcherzyku owcy. Z kolei bezpośrednio przed owulacją dochodzi do stopniowego zmniejszenia przepływu krwi, któremu towarzyszy



Ryc. 2. Udział prostaglandyn w przebiegu owulacji

wzrost syntezy $\text{PGF}_{2\alpha}$. W wyniku tych zmian wierzchołek pęcherzyka staje się niedokrwiony i zaczyna pękać, co wskazuje, że PG mogą również oddziaływać na układ naczyniowy osłonki. Aktualnie sugeruje się, że zmiany naczyniowe obserwowane w owulującym pęcherzyku przypominają ostrą reakcję zapalną (23). Potwierdzają to badania, w których wykazano, że indometacyna podana w momencie wylewu LH może opóźnić pęknięcie pęcherzyka (2). Jednakże wyniki ostatnich badań wskazują, że indometacyna, stosowana nawet w wysokich dawkach, tylko częściowo zaburza proces owulacji. U szczurów po podaniu tego leku zaobserwowano zaburzenie mechanizmu pęknięcia pęcherzyka na jego wierzchołku i pęknięcie to pojawiało się przypadkowo właściwie na całej powierzchni pęcherzyka (12). W wyniku takiego działania 50% oocytów zostało uwolnionych do tkanki śródmiąższowej, 39% do przestrzeni okołojajnikowej, a 11% zostało uwięzionych wewnątrz luteinizującego pęcherzyka (12).

Wpływ NLPZ na owulację

Dostępne wyniki badań wskazują, że podanie NLPZ powoduje zablokowanie syntezy PG, co zapobiega pęknięciu pęcherzyka jajnikowego i hamuje proces owulacji (24, 35). Lekiem najczęściej stosowanym w doświadczeniach była indometacyna, niespecyficzny inhibitor COX, która hamowała owulację u szczurów, myszy, królików, owiec, świń, małą i ludzi (1, 14, 30, 31). W badaniach na myszach pozbawionych genu odpowiedzialnego za syntezę COX-2 stwierdzono różnorodne działania uboczne na układ rozrodczy, w tym na owulację, implantację i płodność (13, 18, 19). Według autorów powyższych badań opisywane działanie było skutkiem

hamowania aktywności COX-2, a nie wynikiem niedoboru gonadotropin przysadkowych lub hormonów steroidowych jajnika czy też zredukowanej wrażliwości tego organu na odpowiednie hormony (18, 19). Zatem można sądzić, że hamowanie wewnątrzpęcherzykowej produkcji PG, po podaniu indometacyny odbywa się głównie przy udziale izoformy COX-2 (1, 4, 8). Alternatywne mechanizmy działania indometacyny mogą wynikać z jej zdolności do hamowania proliferacji fibroblastów lub zdolności oddziaływania na proces proteolitycznej degradacji tkanki łącznej. Jednak taka aktywność indometacyny może być pośrednim skutkiem hamowania syntezy PG przez ten lek (8). W doświadczeniach na owcach wykazano, że systemowo podana wysoka dawka indometacyny (500 mg), zdolna do blokowania procesu owulacji, hamowała rozkład kolagenu wewnątrz ścianki pęcherzyka, o czym świadczył istotnie wyższy poziom hydroksyproliny w porównaniu z grupą kontrolną (26). Ponadto wydzielanie czynników leukotaktycznych i pozanaczyniowe nagromadzenie białych krwinek w osłonce wewnętrznej okołoowulacyjnego pęcherzyka było hamowane przez wysoką dawkę tego leku (26). Podobny hamujący wpływ indometacyny na rozkład kolagenu stwierdzono u niedojrzałych płciowo szczurów, stymulowanych gonadotropinami (29).

Espey i wsp. (9, 11) sugerują, że siła antyowulacyjnego działania NLPZ jest zależna od ich działania przeciwzapalnego. Autorzy ci wykazali, że indometacyna, diklofenak, flurbiprofen i fenylbutazon najskuteczniej hamowały owulację i wzrost poziomu PGE podczas owulacji, podczas gdy tolmetyna, ibuprofen i aspiryna nie wywierały istotnego wpływu w pęcherzyku jajnikowym królików. Nie były to wyniki zaskakujące, gdyż silniejsze hamowanie syntezy PG po podaniu indometacyny i diklofenaku, w porównaniu z działaniem innych NLPZ, stwierdzono również w nerkach (27), części gruczołowej przysadki (38) i w makrofagach (3), jakkolwiek istnieją doniesienia sugerujące, że również kwas acetylosalicylowy i naproksen mogą skutecznie blokować owulację u królików zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo* (41). Badania przeprowadzone przez Espeya (8) wskazują, że indometacyna może przerwać proces owulacji tylko wtedy, gdy w pęcherzyku zapoczątkowany został proces zwiększonej produkcji PG. Ponadto lek ten może oddziaływać na inne aspekty procesu owulacji (rozkład kolagenu, chemotaksję czy apoptozę), które uwidoczniają się po wzroście poziomu PG (8). Próbowano również ustalić, czy istnieje przedział czasowy, w którym indometacyna musi być podana, aby spełnić rolę inhibitora owulacji. Uzyskane wyniki sugerują, że optymalny czas podania tego leku u królików (w dawce 1,2 mg/kg) przypada na 7-8 godz. po stymulacji gonadotropinami. Ponadto wykazano, że wysokie dawki indometacyny (2,5-40 mg/kg) mogą hamować owulację (przynajmniej częściowo) od 5 godz. przed podaniem do 9 godz. po podaniu gonadotropiny kosmówkowej (hCG) (8). W innych badaniach wykazano, że kwas acetylosalicylowy (w dawce 100 mg/kg) hamuje owulację po podaniu 6,5-8 godz. po hCG, a naproksen (w dawce 50 mg/kg) po 6-8 godz. od podania hCG

(41). Prezentowane wyniki wskazują zatem, że istnieje krytyczny okres czasu, w którym po podaniu NLPZ może dochodzić do hamowania owulacji.

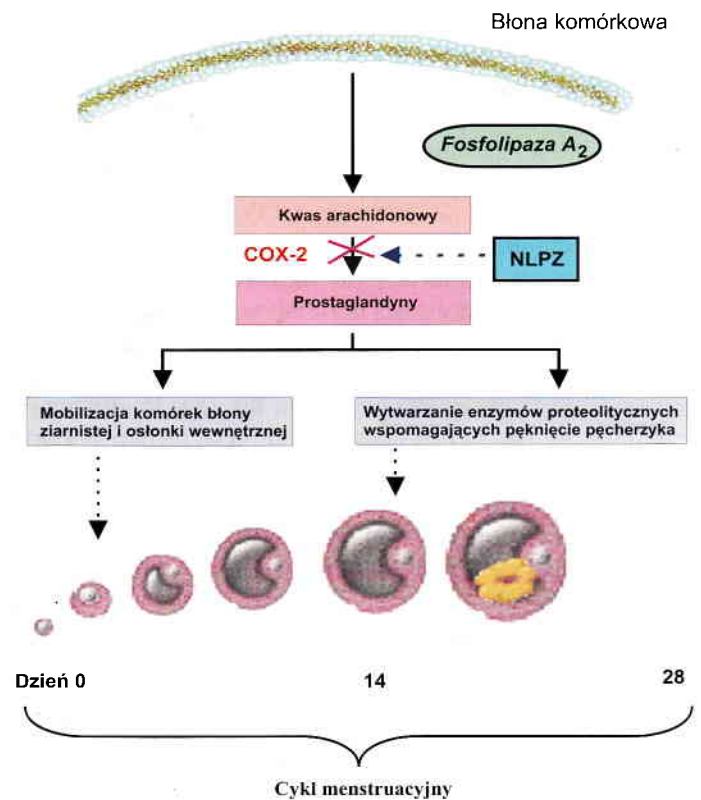
W świetle dostępnych wyników badań hamowanie procesu owulacji zależne jest również od zastosowanej dawki NLPZ. Wykazano, że 100 mg i 200 mg indometacyny podanej i.m. u owiec, co prawda, zapobiegało przedowulacyjnemu wzrostowi PG, ale nie hamowało owulacji, natomiast istotny wpływ hamujący stwierdzono po podaniu tego leku w dawce 500 mg i 800 mg (25, 26). U szczurów najniższa dawka istotnie hamująca owulację (podana 3 godz. po iniekcji hCG) wynosiła 0,1 mg/zwierzę, ale już po podaniu tego leku w dawce 0,0316 mg/zwierzę zaobserwowano zmniejszenie syntezy PGE₂ i PGF_{2α} (34). U królików systemowe podanie indometacyny w ilości 10 mg/kg w kombinacji z hCG (100 IU) i powtórzenie tej dawki po 8 godz. skutkowało 100% zahamowaniem owulacji (14). U małp (Rhesus) zahamowanie owulacji stwierdzono po rozpoczęciu podawania indometacyny 5 dni przed podaniem hCG w dawce 10 mg/kg/dzień (39). Z kolei u kobiet istotne opóźnienie owulacji obserwowano po podaniu tego leku p.o. w dawce 50 mg 3-krotnie w ciągu doby przez co najmniej 3 dni od momentu zarejestrowanego wylewu LH (2).

Poza indometacyną badano również wpływ innych NLPZ na proces owulacji. Wydłużenie odstępu czasowego pomiędzy wylewem LH a pęknięciem pęcherzyka o co najmniej 2 dni (w porównaniu z grupą kontrolną) stwierdzono u 5 z 11 badanych kobiet po stosowaniu ibuprofenu p.o. w dawce 800 mg 3 razy dziennie od momentu stwierdzenia maksymalnej średnicy dojrzewającego pęcherzyka (16 mm) przez 10 kolejnych dni (35). U królików po dootrzewnowym podaniu meloksykamu (charakteryzującego się większym powinowactwem do izoformy COX-2 niż COX-1) w 2, 5, 8 i 24 godz. po kopulacji hamowanie owulacji było uzależnione od dawki i od czasu podania w odniesieniu do czasu indukcji owulacji. Dawka 20 mg/kg całkowicie blokowała ten proces, niezależnie od czasu podania, natomiast najniższa efektywna dawka powodująca całkowite hamowanie owulacji wynosiła 10 mg/kg po podaniu w 5 godz. przed kopulacją (31). W innym doświadczeniu wykazano, że meloksykam podany królikom jednorazowo p.o. 5 godz. po kopulacji w dawce 20 mg/kg hamuje owulację w 100%, a podany w czopkach dopochwowych w dawce 14,9 mg/kg hamuje ten proces w 62,5% (30). Również rofekoksyb (selektywny inhibitor COX-2) podany p.o. w dawce 25 mg przez 9 kolejnych dni od dnia stwierdzenia pęcherzyka o największej średnicy (14-16 mm) opóźniał, o co najmniej 48 godz., pęknięcie pęcherzyka u 4 z 6 badanych kobiet (28).

NLPZ a syndrom LUF

Wielu badaczy postuluje, że NLPZ przez oddziaływanie na syntezę PG mogą zaburzać uwalnianie dojrzalego oocytu, prowadzić do nieskutecznej owulacji, a tym samym do syndromu niepękniętego, złuteinizowanego pęcherzyka (luteinized unruptured follicle – LUF) (20, 33), co schematycznie przedstawia ryc. 3. Murdoch

i Cavender (23) wykazali, że jednokrotne podanie i.m. indometacyny w dawce 750 mg w 12 godz. po wylewie LH prowadziło do przekrwienia pęcherzyka i hamowania owulacji, podczas gdy znamię pęcherzyków z grupy kontrolnej wykazywało cechy niedokrwienia. Pęcherzyki pod wpływem indometacyny gromadziły nadmierną ilość płynu i bez przerwania ciągłości ściany podlegały luteinizacji, co w konsekwencji prowadziło do powstania torbieli. Obserwowany charakter zmian wskazuje, że syndrom LUF jest procesem przypominającym zapalenie przewlekłe i rozwija się na skutek hamowania syntezy PG (23). Jednocześnie autorzy cytowanych badań sugerują, że w pęcherzyku jajnikowym indometacyna może wywierać działanie przeciwstawne tj. przeciwzapalne w stanach ostrych i prozapalne w stanach przewlekłych. Killick i Elstein wykazali, że po podaniu hCG u zdrowych kobiet syndrom LUF występował w 10,7% cykli menstruacyjnych (15). Po podaniu azapropazonu częstotliwość występowania tego syndromu wzrosła do 50%, a po zastosowaniu indometacyny do 100% (15). Choć indometacyna zdolna jest do zablokowania owulacji u szczurów, królików, małp i świń, to nie wpływa ona na transformację tkanki pęcherzykowej w tkankę lutealną. Sugeruje się zatem, że mechanizmy regulujące owulację i rozwój ciała żółtego oraz jego funkcję mogą być odmienne i niezależne, a PG są mediatorami zależnej od LH owulacji, ale nie są niezbędne dla luteinizującego działania LH (6, 24). Po dopęcherzykowym podaniu indometacyny w jajniku owiec zaobserwowano struktury, które mogły uchodzić za złuteinizowane torbiele (23, 24). Były one co najmniej dwukrotnie większe od normalnego, dojrzałego pęcherzyka, ale nie uległy pęknięciu (23, 24). Syndrom LUF wywołano eksperymentalnie również u innych gatunków zwierząt (małp, królików) przez systemowe lub dopęcherzykowe podanie indometacyny, co jednak nie zmieniało osoczowego ani wewnątrzpęcherzykowego poziomu progesteronu (P4) (4, 6, 14). Podanie indometacyny s.c. u szczurów 1 godz. przed podaniem hCG hamowało syntezę PG, ale nie wpływało na wzrastającą produkcję P4 (10), co sugeruje, że synteza steroidów w rozwijającym się ciałku żółtym jest niezależna od prostanoidów. Wykazano również, że produkcja P4 w jajniku królików pozostaje niezmienną po podaniu aspiryny i naproksenu zarówno *in vivo*, jak i *in vitro*, co z kolei wskazuje, że luteinizacja może przebiegać mimo braku pęknięcia pęcherzyka (41). Również Katz i wsp. (14) wykazali, że spadek stężenia prostaglandyn po podaniu indometacyny w okresie przedowulacyjnym u królików nie miał wpływu na produkcję P4 oraz czynnościową i morfologiczną luteinizację w 12-14 godz. po podaniu hCG. Zluteinizowane, niepęknięte pęcherzyki i prawidłowo rozwijające się ciałko żółte w grupie kontrolnej w 24 godz. po iniekcji hCG były podobne do siebie pod względem fizjologicznym i morfologicznym, pomimo tego, że nieuszkodzona błona podstawna zapobiegała wnikaniu naczyń do złuteinizowanych pęcherzyków (14). Stwierdzono, że kompletne unaczynienie prawidłowo rozwijającego się ciałka żółtego u królików rozwija się w ciągu ok. 4-5 dni po owulacji. W tym



Ryc. 3. Wpływ niesteroidowych leków przeciwzapalnych (NLPZ) na owulację

czasie tylko komórki położone na obwodzie są unaczynione, ale wystarcza to do podtrzymania lutealnej steroidogenezy w centrum CL. Autorzy tych badań postulują, że w przypadku wystąpienia syndromu LUF, dochodzi do rozwoju ciałka żółtego pomimo zapobiegania rozpadowi błony podstawnej przez indometacynę i braku prawidłowego wnikania naczyń do komórek lutealnych (14). W innych badaniach Murdoch i Dunn (24) wykazali, że stężenie P4 w krwi pobranej z żyły jajnikowej oraz żyły szyjnej zewnętrznej w 10. dniu cyklu jajnikowego u owiec nie różni się istotnie u zwierząt po dopęcherzykowym podaniu indometacyny w porównaniu z grupą kontrolną. Sugeruje to zatem, że czynniki kontrolujące powstawanie syndromu LUF są podobne do tych, które uczestniczą w tworzeniu prawidłowego ciałka żółtego.

Dostępne dane piśmiennictwa wskazują, że możliwe jest zakończenie procesu owulacji u ssaków przy braku przedowulacyjnego wzrostu produkcji jajnikowych PG, oraz że antyowulacyjne działanie NLPZ może być niezależne od ich zdolności do hamowania COX w szlaku przemian kwasu arachidonowego (26). Leki te z łatwością wnikają do warstwy lipidowej błon komórkowych, gdzie mogą wywierać wszechstronne działanie, np. wpływać na przepływ jonów przez błony, produkcję nadtlenków, fosforylację oksydacyjną i wiązanie czynników chemotaktycznych. Z badań prowadzonych na owcach wynika, że hamowanie owulacji przez indometacynę może być bardziej związane z hamowaniem pęcherzykowej kolagenolizy i chemotaksji białych krwinek niż z blokowaniem pęcherzykowej syntezy PG. Przed owulacją zaobserwowano bowiem wzrost aktyw-

ności kolagenazy w jajniku. Ponadto napływające do pęcherzyka krwinki białe aktywują enzymy proteolityczne oraz uwalniają cytokiny, metabolity kwasu arachidonowego, czynniki wzrostu oraz czynniki wpływające na angiogenezę, a wypadkowa ich działania wpływa istotnie na proces owulacji i luteinizacji (26). Ponadto wykazano, że indometacyna może hamować owulację przez hamowanie apoptozy komórek jajnikowych, indukowanej przez czynnik martwicy nowotworu TNF_{α} , który determinuje formowanie się znamienia owulacyjnego. Indometacyna, co prawda, nie wpływała na wydzielanie TNF_{α} wewnątrz pęcherzyka w miejscu spodziewanego pęknięcia, ale jej wysoka dawka (800 mg i.m.) chroniła komórki nabłonka powierzchni jajnika przed (niezależnym od PG) cytotoksycznym wpływem TNF_{α} *in vitro* (25). Wykazano także, że główną przyczyną apoptozy jest długotrwały wzrost wapnia w cytosolu. Wydaje się, że indometacyna podana w wysokich dawkach, przewyższających dawki zdolne do hamowania owulacji, blokuje akumulację wewnątrzkomórkowego wapnia, skutkiem czego chroni komórki jajnika przed autolizą (22). Sugeruje się zatem, że indometacyna hamuje owulację także przez mechanizmy antyapoptotyczne, które mogą być niezależne od regulacji związanej ze spadkiem poziomu prostanoidów (22, 25).

Pomimo postulowania różnych mechanizmów działania NLPZ, dotychczasowe wyniki badań jednoznacznie wskazują, iż leki z tej grupy są zdolne do hamowania procesu owulacji. Ze względu na szerokie zastosowanie i możliwość wywoływania zaburzeń cyklu jajnikowego celowe wydaje się prowadzenie dalszych badań, które przyczynią się do pełnego poznania wpływu NLPZ na czynność jajnika ssaków.

Piśmiennictwo

- Algire J. E., Srikandakumar A., Guilbault L. A., Downey B. R.: Preovulatory changes in follicular prostaglandins and their role in ovulation in cattle. *Can. J. Vet. Res.* 1992, 56, 67-69.
- Athanasios S., Bourne T. H., Khalid A., Okokon E. V., Crayford T. J., Hagstrom H. G., Campbell S., Collins W. P.: Effects of indomethacin on follicular structure, vascularity, and function over the periovulatory period in women. *Fertil. Steril.* 1996, 65, 556-560.
- Bray M. A., Gordon D.: Prostaglandin production by macrophages and the effect of anti-inflammatory drugs. *Br. J. Pharmacol.* 1978, 63, 635-642.
- Carvalho C. B., Yeik B. S., Murdoch W. I.: Significance of follicular cyclooxygenase and lipoxigenase pathways of metabolism of arachidonate in sheep. *Prostaglandins* 1989, 37, 553-558.
- Dannhardt G., Kiefer W.: Cyclooxygenase inhibitors – current status and future prospects. *Eur. J. Med. Chem.* 2001, 36, 109-126.
- Duffy D. M., Stouffer R. L.: Follicular administration of a cyclooxygenase inhibitor can prevent oocyte release without alteration of normal luteal function in rhesus monkeys. *Hum. Reprod.* 2002, 17, 2825-2831.
- Emery P.: Clinical aspects of COX-2 inhibitors. *Drugs Today (Barc.)* 1999, 35, 267-274.
- Espey L. L.: Optimum time for administration of indomethacin to inhibit ovulation in the rabbit. *Prostaglandins* 1982, 23, 329-335.
- Espey L. L., Khoda H., Mori T., Okamura H.: Rat ovarian prostaglandin levels and ovulation as indicators of the strength of non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Prostaglandins* 1988, 36, 875-879.
- Espey L. L., Norris C., Forman J., Siler-Khodr T.: Effect of indomethacin, cycloheximide, and aminoglutethimide on ovarian steroid and prostanoid levels during ovulation in the gonadotropin-primed immature rat. *Prostaglandins* 1989, 38, 531-539.
- Espey L. L., Stein V. I., Dumitrescu J.: Survey of antiinflammatory agents and related drugs as inhibitors of ovulation in the rabbit. *Fertil. Steril.* 1982, 38, 238-247.
- Gaytan F., Bellido C., Gaytan M., Morales C., Sanchez-Criado J. E.: Differential effects of RU486 and indomethacin on follicle rupture during the ovulatory process in the rat. *Biol. Reprod.* 2003, 69, 99-105.
- Hayes E. C., Rock J. A.: COX-2 inhibitors and their role in gynecology. *Obstet. Gynecol. Surv.* 2002, 57, 768-780.
- Katz E., Dharmarajan A. M., Sueoka K., Ghodgaonkar R. B., Dubin N. H., Wallach E. E.: Effects of systemic administration of indomethacin on ovulation, luteinization, and steroidogenesis in the rabbit ovary. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1989, 161, 1361-1366.
- Killick S., Elstein M.: Pharmacologic production of luteinized unruptured follicles by prostaglandin synthetase inhibitors. *Fertil. Steril.* 1987, 47, 773-777.
- Kis B., Snipes J. A., Isse T., Nagy K., Busija D. W.: Putative cyclooxygenase-3 expression in rat brain cells. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2003, 23, 1287-1292.
- Kurumbail R. G., Stevens A. M., Gierse J. K., McDonald J. J., Stegeman R. A., Park J. Y., Gildehaus D., Miyashiro J. M., Penning T. D., Seibert K., Isakson P. C., Stallings W. C.: Structural basis for selective inhibition of cyclooxygenase-2 by anti-inflammatory agents. *Nature* 1996, 384, 644-648.
- Lim H., Paria B. C., Das S. K., Dinchuk J. E., Langenbach R., Trzaskos J. M., Dey S. K.: Multiple female reproductive failures in cyclooxygenase 2-deficient mice. *Cell* 1997, 91, 197-208.
- Matsumoto H., Ma W., Smalley W., Trzaskos J., Breyer R. M., Dey S. K.: Diversification of cyclooxygenase-2-derived prostaglandins in ovulation and implantation. *Biol. Reprod.* 2001, 64, 1557-1565.
- Medonca L. L. F., Khamastha M. A., Nelson-Piercy C., Hunt B. J., Hughes G. R. V.: Non-steroidal anti-inflammatory drugs as a possible cause for reversible infertility. *Rheumatology* 2000, 39, 880-882.
- Murdoch W. J.: Effect of a steroidal (prednisolone) and nonsteroidal (indomethacin) anti-inflammatory agent on ovulation and follicular accumulation of prostaglandin $F_{2\alpha}$ in sheep. *Prostaglandins* 1989, 37, 331-334.
- Murdoch W. J.: Differential effects of indomethacin on the sheep ovary: prostaglandin biosynthesis, intracellular calcium, apoptosis, and ovulation. *Prostaglandins* 1996, 52, 497-506.
- Murdoch W. J., Cavender J. L.: Effect of indomethacin on the vascular architecture of preovulatory ovine follicles: possible implication in the luteinized unruptured follicle syndrome. *Fertil. Steril.* 1989, 51, 153-155.
- Murdoch W. J., Dunn T. G.: Luteal function after ovulation blockade by intrafollicular injection of indomethacin in the ewe. *J. Reprod. Fert.* 1983, 69, 671-675.
- Murdoch W. J., Lund S. A.: Prostaglandin-independent anovulatory mechanism of indomethacin action: inhibition of tumor necrosis factor α -induced sheep ovarian cell apoptosis. *Biol. Reprod.* 1999, 61, 1655-1659.
- Murdoch W. J., McCormick R. J.: Dose-dependent effect of indomethacin on ovulation in the sheep: relationship to follicular prostaglandin production, steroidogenesis, collagenolysis, and leukocyte chemotaxis. *Biol. Reprod.* 1991, 45, 907-911.
- Oliv E., Lundin I., Anggard E.: In vitro inhibition of prostaglandin synthesis in rabbit kidney by non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Acta Pharmacol. Toxicol. (Copenh.)* 1978, 48, 179-184.
- Pall M., Friden B. E., Brannstrom M.: Induction of delayed follicular rupture in the human by the selective COX-2 inhibitor rofecoxib: a randomized double-blind study. *Hum. Reprod.* 2001, 16, 1323-1328.
- Reich R. A., Tsafiri A., Mechanic G. L.: The involvement of collagenolysis in ovulation in the rat. *Endocrinology* 1985, 116, 522-527.
- Salhab A. S., Amro B. I., Shomaf M. S.: Further investigation on meloxicam contraceptive activity in female rabbits: luteinizing unruptured follicles, a microscopic evidence. *Contraception* 2003, 67, 485-489.
- Salhab A. S., Gharaibeh M. N., Shomaf M. S., Amro B. I.: Meloxicam inhibits rabbit ovulation. *Contraception* 2001, 63, 329-333.
- Simmons D. L.: Variants of cyclooxygenase-1 and their roles in medicine. *Thromb. Res.* 2003, 110, 265-268.
- Stone S., Khamastha M. A., Nelson-Piercy C.: Nonsteroidal Anti-inflammatory drugs and reversible female infertility: is there a link? *Drug Saf.* 2002, 25, 545-551.
- Tanaka N., Espey L. L., Kawano T., Okamura H.: Comparison of inhibitory actions of indomethacin and epostane on ovulation in rats. *Am. J. Physiol.* 1991, 260, 170-174.
- Uhler M. F., Hsu J. W., Fisher S. G., Zinaman M. J.: The effect of nonsteroidal antiinflammatory drugs on ovulation: a prospective, randomized clinical trial. *Fertil. Steril.* 2001, 76, 957-961.
- Vane J. R.: Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nature* 1971, 231, 232-235.
- Vane J. R.: The fight against rheumatism: from willow bark to COX-1 sparing drugs. *J. Physiol. Pharmacol.* 2000, 51, 573-586.
- Vlaskovska M., Hertting G., Knepel W.: Adrenocorticotropin and β -endorphin release from rat adenohypophysis in vitro: inhibition by prostaglandin E2 formed locally in response to vasopressin and corticotropin-releasing factor. *Endocrinology* 1984, 115, 895-903.
- Wallach E. E., Cruz A., Hunt J., Wright K. H., Stevens V. C.: The effect of indomethacin of HMG-HCG induced ovulation in the rhesus monkey. *Prostaglandins* 1975, 9, 645-658.
- Warner T. D., Mitchell J. A.: Cyclooxygenase-3 (COX-3): filling in the gaps toward a COX continuum? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2002, 99, 13371-13373.
- Zanagnolo V., Dharmarajan A. M., Endo K., Wallach E. E.: Effects of acetylsalicylic acid (aspirin) and naproxen sodium (naproxen) on ovulation, prostaglandin, and progesterone production in the rabbit. *Fertil. Steril.* 1996, 65, 1036-1043.