

La terapia tocolitica con isossisuprina per via orale: efficacia clinica e sicurezza nella madre e nel feto

F.L. GIORGINO

RIASSUNTO: La terapia tocolitica con isossisuprina per via orale: efficacia clinica e sicurezza nella madre e nel feto.

F.L. GIORGINO

L'attuale trattamento del Parto Pretermine (PP) è basato sull'uso dei Tocolitici (T), farmaci inibitori della motilità uterina, tra i quali i β -simpaticomimetici emergono per efficacia nel protrarre le gravidanze minacciate da PP. L'Isoxisuprina (I) rappresenta il prototipo dei T ed è stato il primo T ad essere stato impiegato nel trattamento della minaccia di PP con risultati confortanti. Anche se numerosi studi hanno dimostrato l'efficacia clinica dell'I, somministrata per via parenterale in acuto, seguita da somministrazione di mantenimento per os, polemiche, ormai datate, ne hanno messo in dubbio la reale efficacia nel prolungare la gravidanza e salvaguardare l'integrità del nascituro. Una recente metanalisi di alcuni degli studi più importanti, che ha incluso 479 pazienti in trattamento T con I con PP o Minaccia d'Aborto (MA), ha tuttavia dimostrato come il 55,2% delle donne con MA avesse un prolungamento della gravidanza di almeno 1 Settimana Gestazionale (SG) e come nel 97,4% di queste pazienti l'età gestazionale dei neonati alla nascita fosse superiore o uguale a 30 SG, ciò che induce a pensare che sarebbero necessari ulteriori studi per differenziare le cause di MA da quelle di PP nelle quali si includono cause come quelle infettive, in almeno un terzo dei casi, che avrebbero bisogno in primis di trattamento specifico. L'efficacia clinica della tocolisi con I è risultata particolarmente evidente nel caso del PP: l'87,1% delle donne ha ritardato il parto di almeno 1 SG ed il 97,3% ha raggiunto almeno la 30^a SG. È stato anche valutato il giudizio globale del medico, che è risultato positivo per il 76,3% delle donne con MA e per l'89,1% delle donne con PP. Pertanto, i risultati di questa metanalisi e dei numerosi studi pubblicati negli ultimi 40 anni dimostrano l'indubbia efficacia clinica e sicurezza della terapia con I: in oltre il 50% delle quasi 2.000 donne trattate si è infatti osservato un effetto T e un significativo prolungamento della gravidanza.

SUMMARY: Oral tocolytic therapy with isoxsuprine: clinical efficacy and safety in mother and fetus.

F.L. GIORGINO

The current treatment of preterm labor (PL) is based on the use of tocolytics, drugs inhibiting uterine motility. β -sympathomimetics are the most effective tocolytics used to prolong pregnancies threatened by PL. Isoxsuprine is the prototype of this class of drugs, and it was the first tocolytic used with encouraging results for the treatment of threatened PL. Although several studies have demonstrated the clinical efficacy of isoxsuprine administered parenterally in the acute phase and followed by oral administration for maintenance therapy, recent controversies have questioned the actual efficacy of this drug in prolonging pregnancy and preserve the integrity of the unborn child. However, a recent meta-analysis of some of the most important studies, which included 479 patients with PL or risk of abortion (RA) treated with isoxsuprine, has demonstrated that 55.2% of women with RA had a prolongation of pregnancy of at least 1 week and that in 97.4% of these patients the gestational age of infants at birth was greater than or equal to 30 weeks. The clinical efficacy of tocolysis with isoxsuprine was particularly evident for women with PL: 87.1% of these women delayed the delivery of at least 1 week and 97.3% achieved at least the 30th week of pregnancy. The overall doctor's evaluation was also verified, which tested positive for 76.3% of women with RA and for 89.1% of women with PL. Thus the results of this meta-analysis and of the dozens of studies published over the past 40 years undoubtedly demonstrate the clinical efficacy and safety of isoxsuprine treatment: in more than 50% of nearly 2,000 treated women, a tocolytic effect and a significant prolongation of pregnancy has been observed.

KEY WORDS: Gravidanza - Parto pretermine - Minaccia d'aborto - Terapia tocolitica - Isoxisuprina.
Pregnancy - Preterm labor - Risk of abortion - Tocolytic therapy - Isoxsuprine.

Introduzione

Il Parto Pretermine (PP), definito come l'espulsione o l'estrazione di un feto e dei suoi annessi a partire dalla 20^a fino alla 37^a Settimana di Gestazione (SG), ed il basso peso alla nascita (1,2) sono le cause più importanti di mortalità e morbilità neonatale, essendo responsabili, direttamente o indirettamente, di circa la metà delle morti neonatali e di sequele patologiche a distanza. La ricerca di una soluzione terapeutica efficace dura da tempo (3). L'incidenza del PP oscilla tra il 6 e il 15% di tutti i parti, con una discreta variabilità a seconda dell'area geografica. Negli USA sono quasi mezzo milione i bambini nati prematuri passando, dal 1990 al 2005, dal 10,6% al 12,7% dei casi (4). In Europa, le percentuali sono più basse e si attestano intorno al 6%, con una prevalenza minima in Islanda (3,1%) e massima in Grecia (8,3%), e la mortalità infantile, legata in gran parte alla prematurità, colpisce il 4,2% dei nati. L'Italia è in linea con la media europea, con circa 30.000 nati prematuri – 6,1% (5). Nello specifico, il 5,2% dei bambini nasce tra la 32^a e la 37^a SG e lo 0,9% prima della 32^a SG. Del mezzo milione di bambini che nascono nel nostro Paese ogni anno, circa 5,6 su 1.000 non sopravvivono al primo anno di vita, circa 4,2 su 1.000 muoiono nel primo mese di vita, il periodo più critico: purtroppo l'80% di queste morti è legato alla prematurità.

La frequenza specifica del PP aumenta con l'aumentare dell'età gestazionale (6,7). Al contrario, il rischio di mortalità neonatale diminuisce col crescere dell'età gestazionale, ma non in modo uniforme: è elevatissimo fino a 27 SG, comincia a decrescere da 28 a 32 SG, decresce ancora, ma rimane significativo, fino a 34 SG, poi si abbassa bruscamente fino a diventare paragonabile a quello della popolazione dei nati a termine, quando il parto avviene a 37 SG.

Il PP è quasi sempre interpretabile come condizione patologica ad eziologia multifattoriale, dove convergono in varia misura componenti materne, fetali o collegate con gli annessi fetali. Le conoscenze sul meccanismo patogenetico sono tuttora incomplete, tanto quanto lo sono quelle sul meccanismo che scatena il parto fisiologico spontaneo a termine di gestazione. Circa i 3/4 di tutti i PP iniziano spontaneamente in circostanze indesiderate dopo un episodio idiopatico di minaccia di PP, dopo rottura prematura delle membrane, in associazione con un episodio flogistico-infettivo (infezione cervico-vaginale, corion-amnionite, ecc.), fattore di rischio di gran lunga il più frequente (8), in associazione con incontinenza cervicale o con altre evenienze meno comuni.

Pertanto la minaccia di PP è un concetto forzatamente indefinito, che comprende tutte le circostanze

nelle quali è verosimile possa iniziare intempestivamente il travaglio di parto.

Il miometrio è costituito da tessuto muscolare in grado di contrarsi aritmicamente (9); non possiede un plesso neuromuscolare intrinseco, come l'intestino, ma è innervato da fibre nervose eccitatorie ed inibitorie appartenenti al sistema simpatico e da fibre del parasimpatico che non avrebbero alcun ruolo nella regolazione della motilità uterina, mentre sembra che la stimolazione simpatica abbia effetti misti, inibitori o eccitatori, sul miometrio. La risultante di questi effetti dipende dalla specie animale e, soprattutto, dall'influenza degli ormoni sull'utero.

In gravidanza, il fenomeno delle contrazioni uterine è sempre presente, ma poco avvertibile fino alla 20^a SG circa, quando compaiono le contrazioni di Braxton-Hicks che sono irregolari, intervallate anche di ore, con una pressione endouterina di 10-15 mmHg. Nella seconda metà della gravidanza compaiono anche contrazioni localizzate e incoordinate – onde di Alvarez – con frequenza di circa 10 ogni 10 minuti e con una pressione endouterina di 3-5 mmHg, che con l'inizio del travaglio diminuiscono fino alla frequenza di 4-5 ogni 10 minuti, mentre aumenta la loro intensità a circa 10 mmHg (10-11). Nel fondo dell'utero, che svolge la funzione di coordinare le contrazioni uterine, sono presenti delle cellule miometriali funzionanti come *pacemakers*, la cui attività è regolata dagli ormoni sessuali. La quiescenza e la relativa ineccitabilità delle fibre miometriali durante la gravidanza sono dovute all'azione inibente del progesterone, soprattutto di quello prodotto a livello del sito di impianto del feto. Nelle ultime 2-3 SG si verifica un significativo aumento della concentrazione di estrogeni nel plasma e nel liquido amniotico ed una diminuzione dei livelli sierici di progesterone, probabilmente a causa della produzione fetale di una proteina che "sequestra" il progesterone. È verosimile, pertanto, che il progesterone giochi un ruolo chiave anche nella minaccia di PP.

Uno dei primi studi condotti in pazienti con minaccia di PP (22) dimostrò che l'Isossisuprina (I) era in grado di aumentare significativamente ($p < 0.001$) le concentrazioni plasmatiche di progesterone a differenti età gestazionali rispetto a soggetti con PP non trattate. I risultati ottenuti dimostrarono che i livelli di progesterone plasmatico passarono da 121,8 ng/ml \pm 2,9 rispetto al consistente numero del gruppo placebo-controllo (136 pz) con solo 63,3 ng/ml \pm 4,9 di progesterone circolante. Gli Autori ipotizzarono che l'effetto fosse mediato da un incremento del flusso ematico utero-placentare indotto dal farmaco, con secondaria azione sulla produzione di progesterone placentare.

Anche l'asse ipotalamo-ipofisario svolge un ruolo importante nella regolazione della motilità uterina.

Nella donna non gravida e nei primi periodi di gestazione, l'utero è più sensibile sia alla vasopressina che all'ossitocina. La sensibilità ai due ormoni tende a bilanciarsi nel corso della gravidanza e ad invertirsi con l'approssimarsi del parto, grazie all'effetto stimolante degli estrogeni sulla sintesi di recettori dell'ossitocina nel miometrio e nella decidua. L'ossitocina stimola in modo intenso e selettivo il miometrio, inducendo contrazioni che si propagano dal fondo verso la cervice.

Gli eventi biochimici ed elettrofisiologici che governano la contrazione del miometrio richiedono l'interazione tra le miofibrille di actina e di miosina, che dipende dalla fosforilazione delle catene leggere della miosina, mediata da specifiche chinasi. Il rilasciamento del miometrio, invece, è regolato da due diversi sistemi mediati dal cAMP. Infatti, da un lato il cAMP inibisce la fosforilazione delle catene leggere della miosina, dall'altro promuove la captazione del calcio dai depositi del reticolo sarcoplasmatico, con conseguente diminuzione dei livelli citoplasmatici di questo ione. La sintesi del cAMP è mediata dall'enzima adenilciclasi, mentre la sua demolizione è a carico della fosfodiesterasi. La stimolazione dei recettori β -adrenergici, posti sulla superficie delle fibrocellule miometriali, determina la stimolazione dell'adenilciclasi e l'aumento dei livelli intracellulari di cAMP. Sulla base di questi processi, si conoscono molti farmaci in grado di indurre il rilasciamento della muscolatura uterina (12).

Esistono varie ipotesi che spiegano la difficoltà terapeutica dei Tocolitici (T), riguardo all'attivazione del PP, che comprendono: a) il deficit di progesterone; b) l'insuccesso della produzione di ossitocina; c) l'attivazione prematura della decidua; d) la produzione aumentata di prostaglandine (13-18).

Le infezioni, ad esempio, attraverso il rilascio di citochine e di prostaglandine, sono ritenute responsabili di almeno 1/3 di tutti i casi di PP; non sarebbero sempre ascendenti, ma possono essere causate da patogeni presenti nell'endometrio prima del concepimento e rimasti clinicamente silenti. Un recente studio (13), su un campione di donne che ha partorito spontaneamente entro la 32^a SG, ha dimostrato la presenza di lesioni placentari compatibili con lo sviluppo di flogosi acuta o cronica delle membrane corio-deciduali, più frequentemente nelle pazienti con storia ostetrica di pregressi PP, rispetto a quelle con anamnesi negativa per PP. Ciò ha fatto ipotizzare il passaggio di citochine, rilasciate da granulociti neutrofili o da leucociti mononucleati, dai vasi della decidua al versante fetale delle membrane stesse. Sembra essere ormai ad un passo la dimostrazione della correlazione tra PP ricorrenti e/o PP precoce (prima delle 32 SG) e vasculiti ombelicali acute e amniositi acute (più probabile conseguenza di un'invasione diretta del liquido amniotico da parte degli agenti patogeni); ciò suggerisce che in

queste pazienti una diffusa flogosi endometriale sia il *primum movens* dell'infiammazione acuta o cronica delle membrane stesse. L'infiammazione endometriale, a sua volta, potrebbe essere indotta dalla permanenza di batteri nella mucosa del tratto genitale superiore da un'epoca precedente il concepimento e spiegare quindi il rischio di ricorrenza dei PP. Ciò spiegherebbe perché le citochine nel fluido cervicale si associno al PP. La relazione causale tra infezioni intrauterine precedenti la gravidanza ed il PP è suggerita, inoltre, da una effettiva riduzione di ricorrenza di PP ottenuta con trattamento profilattico antibiotico delle donne con positività colturale per *Mycoplasma* prima della gravidanza, con batteriuria asintomatica in gravidanza precoce, o con vaginosi batterica nel primo trimestre della gravidanza e storia di pregressi PP.

La terapia tocolitica

La non precisa definizione di minaccia di PP (molteplicità di fattori eziologici, definizione clinica, ampio range di età gestazionali) si ripercuote sulle strategie terapeutiche da adottare e ha rappresentato, e rappresenta tuttora un limite per una corretta valutazione delle scelte farmacologiche. Numerosi sono i farmaci testati ed utilizzati come agenti T; in particolare negli studi comparativi, i β -simpaticomimetici sono risultati efficaci nel protrarre l'età gestazionale in gravidanze con minaccia di PP (19-22). Sarebbe opportuno, pertanto, prevedere nei percorsi clinico-terapeutici valutazioni per la flogosi, dal momento che essa è presente in almeno 1/3 dei casi.

Il prototipo dei farmaci T è l'I (Fig. 1), primo T ad essere impiegato nel trattamento della minaccia di PP in USA con risultati molto positivi e, per lungo tempo, il farmaco maggiormente utilizzato. Si tratta

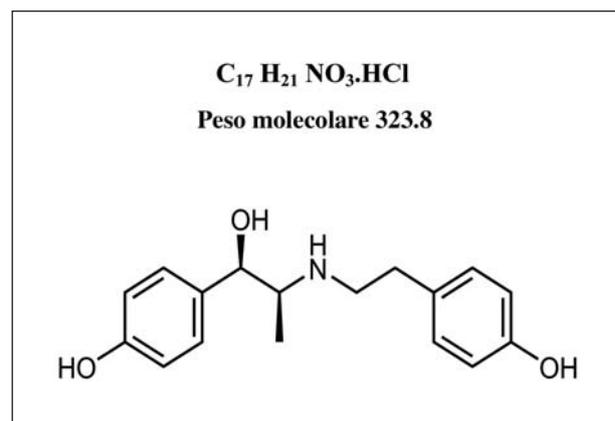


Fig. 1 - L'isossisuprina (Vasosuprina) è un composto epinefrino-simile [1-(*p*-idrossifenil)-2-(1'-metil-2'-fenossietilamina)propanol-1 idrocloride].

di un composto epinefrino-simile [1-(p-idrossifenil)-2-(1'-metil-2'-fenossietilamina) propanol-1 idrocloride] (21), con attività vasodilatante al pari del suo prototipo, ma con minori effetti tachicardizzanti; efficace anche se somministrata per via orale (24), induce un rilasciamento della muscolatura liscia di diverse specie, incluso il miometrio umano, con azione mediata prevalentemente dal legame con i recettori β -adrenergici.

È stato dimostrato (25) che l'I su *strips* di tessuto miometriale umano esplica una progressiva riduzione dose-dipendente della contrattilità miometriale attraverso un triplice meccanismo d'azione: a) stimolazione dei recettori β -adrenergici, largamente predominanti a livello miometriale e connessi con le risposte inibitorie rilassanti delle fibre muscolari lisce; b) inibizione degli α -recettori, prevalenti a livello di alcuni vasi arteriosi e connessi con le risposte di tipo eccitatorio e vasocostrittive; c) spasmolisi diretta sui muscoli lisci e sul miometrio di tipo papaverino-simile (24-25).

L'attività inibitrice dei β -simpaticomimetici sul miometrio si manifesta sul tono, sulle contrazioni normali e sullo spasmo indotto da vari agenti spasmogeni; l'inibizione interessa la muscolatura longitudinale e quella circolare, e ciò indipendentemente dallo stato ormonale. L'I esercita, nello stesso tempo, un'intensa inibizione sul miometrio e un'attività dilatante e anti-spastica sui vasi uterini (26). L'I appartiene alla categoria dei farmaci agonisti β_2 -adrenoceptor (ADRB2). I recettori ADRB2 si accoppiano ai $G\alpha_s/ADCY$ e i loro effetti vengono mediati dal cAMP e, sebbene il loro esatto meccanismo d'azione sia ancora sconosciuto, si pensa che dipenda dall'attivazione del PKA e dalla fosforilazione di proteine coinvolte nel rilasciamento del muscolo liscio. La stimolazione del recettore ADRB2 determina desensibilizzazione e *down-regulation*. Recenti metanalisi hanno confermato che i farmaci β -mimetici sono efficaci per ritardare di almeno 48 ore il PP (27); pertanto è assolutamente acquisito che la tocolisi endovenosa con β -mimetici renda possibile il trasferimento in utero ad un reparto di terzo livello ed offra il tempo per l'utilizzazione dei glucocorticoidi per l'induzione della maturità polmonare fetale (28). Non c'è ancora l'indicazione per un particolare β -mimetico (29).

Nelle gravide al 3° trimestre, tuttavia, i recettori β non sono del tipo ADRB2, ma β_3 -adrenoceptor (ADRB3) (30), la cui stimolazione rilascerebbe le fibre miometriali, probabilmente mediante l'apertura dei canali del potassio (31-32).

Numerosi studi, per lo più in aperto, avevano dimostrato l'efficacia clinica dell'I, somministrata per via endovenosa o intramuscolare in acuto, seguita da somministrazione di mantenimento *per os* (33-57). Per la prima volta (33) furono descritti gli effetti della somministrazione di I nel trattamento sintomatolo-

gico del PP in 156 pazienti selezionate sulla base dell'età gestazionale, compresa tra la 20^a e la 36^a SG; evidenza di segni di PP, quali dilatazione della cervice, perdite ematiche, contrazioni uterine anomale per l'epoca gestazionale; dilatazione cervicale inferiore a 4 cm; integrità delle membrane; assenza di ulteriori complicanze che rappresentassero indicazione ad interruzione della gravidanza. Il trattamento è consistito nella infusione endovenosa, alla velocità di 40-50 gocce al minuto, di 20 mg di I diluiti in 200 cc di soluzione glucosata al 5%; ad essa era seguita la somministrazione per via intramuscolare di 10 mg del farmaco ogni 3 ore per 24 h consecutive. Infine, se non ci fossero state contrazioni per 48 h consecutive, la paziente sarebbe stata dimessa con terapia di mantenimento con 10 mg *per os* per 4 volte al dì, per almeno 2 settimane; in caso contrario si sarebbe prolungata la somministrazione intramuscolare. In definitiva il farmaco si dimostrò efficace nel protrarre i tempi del parto nel 75% delle pazienti, delle quali il 42,3% con parto a termine di feti del peso minimo di 2.500 g, il 21,2% con il guadagno di più di 1 SG e solamente l'11,5% giunto al parto entro 1 SG dalla somministrazione della terapia (Tab. 1). Il campione preso in esame venne selezionato ulteriormente, includendo quindi nell'analisi statistica solo le pazienti che avevano manifestato contrazioni uterine regolari, progressive e associate a dilatazione della cervice. Su 50 pazienti, il 68% rispose positivamente alla terapia ed in particolare: il 44% partorì un feto di peso pari o superiore ai 2.500 g a termine di gravidanza, il 6% superò 7 giorni di attesa, mentre nel 12% dei casi il parto sopraggiunse entro una settimana.

Successivamente, venne dimostrata l'efficacia nell'impiego *in vivo* dell'I (36) sul rilasciamento uterino, sia in casi di insorgenza spontanea delle contrazioni che in casi di induzione secondaria ad infusione continua di ossitocina, e la buona tollerabilità cardiovasco-

TABELLA 1 - EFFICACIA DELLA TERAPIA CON ISOSSISUPRINA IN 156 DONNE CON PP E 50 DONNE CON CONTRAZIONI REGOLARI E PROGRESSIVE ASSOCIATE A DILATAZIONE CERVICALE (33, RIPRODOTTA CON PERMESSO).

Gruppo di pazienti (tutti i casi)	n (%)
Parto non arrestato	39 (25.0)
Parto arrestato in 1-7 giorni	18 (11.5)
Parto arrestato in più di 7 giorni, neonato prematuro	33 (21.2)
Parto arrestato, neonato a termine	66 (42.3)
Gruppo di pazienti (casi selezionati)	n (%)
Parto non arrestato	19 (38.0)
Parto arrestato in 1-7 giorni	6 (12.0)
Parto arrestato in più di 7 giorni, neonato prematuro	3 (6.0)
Parto arrestato, neonato a termine	22 (44.0)

lare del prodotto (34,58). In uno studio condotto su 25 pazienti (36), non si riportarono casi di manifestazioni cardiovascolari severe, a suggerire che il dosaggio e le modalità di somministrazione influivano in maniera determinante sugli effetti farmacologici del farmaco stesso.

Una rassegna degli studi più significativi condotti negli ultimi decenni (33-57) è riportata nella Tabella 2: sono state incluse globalmente nei vari studi 1.189 donne con PP e 662 donne con MA. Nonostante la discreta eterogeneità dei criteri di inclusione, soprattutto per quanto riguarda l'età gestazionale, è possibile riassumere i risultati dei vari studi nel modo seguente: a) l'utilizzo di I ha portato ad un arresto del PP con feto a termine in media nel 54% dei casi (*range* medio 23-93%); b) il PP è stato prolungato di almeno 7 giorni in media nel 49% dei casi (*range* medio 18-88%); c) la

frequenza di gravide con prolungamento del PP oltre 1 SG è risultato simile nelle donne con membrane intatte (media 48%) o rotte (media 56%). Per quanto riguarda la MA, l'I si è dimostrata in grado di evitare l'aborto in media nell'80% dei casi (*range* medio 67-96%). Il differente peso nel successo tra MA e PP conferma l'ipotesi che nella MA entrino in gioco dei fattori ormonali progesterone-mediati e meno spesso infiammazione-mediati.

Materiali e metodi

Una parte degli studi sopra elencati per i quali erano disponibili i dati individuali delle pazienti (34,36,43,44,47,48,50,51,55) sono stati oggetto di una metanalisi da noi effettuata. Sono stati analizzati

TABELLA 2 - EFFICACIA CLINICA DELLA TOCOLISI CON ISOSSISUPRINA SUL PP O SULLA MA IN VARI STUDI IN APERTO SENZA CONTROLLO (A) O CON CONTROLLO PLACEBO (AP) E RETROSPETTIVI CON CONTROLLO PLACEBO (RP).

Autore, (rif.)	Anno	Disegno studio	n	Tipologia pazienti	Trattamento	Risultati
Bishop (33)	1961	A	156	PP (20-36 settimane)	e.v. 20 mg i.m. 10 mg ogni 3h per 24h os 10 mg x 4/die (dopo 48 h per 2 settimane)	Efficacia nel protrarre il parto: 75% Arresto di PP con feto nato a termine: 42% PP arrestato >7 gg. con feto prematuro: 21%
Hendricks (34)	1961	A	13	PP (20-34 settimane, 31% con rottura delle membrane)	e.v. 20-67 mg nelle prime 12 ore i.m. 10-30 mg nelle prime 12 ore os 20-40 mg nelle prime 12 ore	Arresto di PP con feto nato a termine: 23% PP arrestato >7 gg. con feto prematuro: 23%
Chieri (35)	1962	A	62	MA (7-24 settimane)	i.m. o rettale 30-60 mg per almeno 10 gg.	Aborto evitato nel 71% dei casi, con risultati migliori tra 10-15 settimana
Okatomi (36)	1962	A	40	MA + PP (8-36 settimane)	i.m. 5-10 mg x 3-4/die os 10 mg x 3-4/die	Arresto di PP >7 gg.: 73%
Karim (37)	1963	A	6 15	PP (28-32 settimane) MA (12-20 settimane)	i.m. 10 mg x 3/die os 10 mg x 4/die per 10 gg.	Arresto di PP >7 gg: 33% Aborto evitato nel 73% dei casi
Klurfan (38)	1963	A	60	PP (>24 settimane, in gran parte con rottura delle membrane)	e.v. 40 mg i.m. 10-30 mg	Attività contrattile uterina cessata nel 90% dei casi con feti alla nascita >2.200 g (1 aborto)
Leep (39)	1963	AP	108	MA (<24 settimane)	os 20-60 mg die per almeno 1 mese	Aborto evitato: 93% dei casi con isossisuprina vs. 46% placebo
Allen (40)	1965	A	144	PP (<20 - 37,5 settimane)	e.v. 80 mg os 30-80 mg ogni 3h per 24h quindi 30-60 mg x 4/die sino a 25 gg.	Arresto di PP con feto nato a termine: 41% PP arrestato >7 gg. con feto prematuro: 18%
Renaud (41)	1965	A	9 3	PP (>24 settimane) MA (20-24 settimane)	e.v. 10 mg i.m. 10 mg x6	Arresto PP con feto a termine: 78% Arresto PP >7 gg.: 67% Aborto evitato: 67%
Lucisano (42)	1967	A	37	PP (28-36 settimane, 19% con rottura delle membrane)	e.v. 40 mg i.m. 10 mg ogni 4h per 24h os 20 mg x 4/die	Arresto di PP con feto nato a termine (membrane intatte): 43% PP arrestato >7 gg. (membrane intatte): 20% PP arrestato >7 gg. (membrane rotte): 71%

continua

segue TABELLA 2 - EFFICACIA CLINICA DELLA TOCOLISI CON ISOSSISUPRINA SUL PP O SULLA MA IN VARI STUDI IN APERTO SENZA CONTROLLO (A) O CON CONTROLLO PLACEBO (AP) E RETROSPETTIVI CON CONTROLLO PLACEBO (RP).

Autore, (rif.)	Anno	Disegno studio	n	Tipologia pazienti	Trattamento	Risultati
Stefanini (43)	1967	A	74	MA (<16 settimane)	os 20-40 mg/die per 18-40 gg.	Aborto evitato nell'88% dei casi
Cazzola (44)	1967	A	15 32	PP (24-32 settimane) MA (8-24 settimane)	i.m.40-80 mg/die os 40-80 mg/die	Arresto di PP con feto nato a termine: 80% Aborto evitato nell'81% dei casi
Benfatto (45)	1968	A	27 18	PP (28-30 settimane, membrane intatte) PP (27-29 settimane, membrane rotte)	e.v. 50 mg i.m. 10 mg x4 per 7 gg. os 10 mg x 4/die	Arresto PP con feto a termine (membrane intatte): 26% PP arrestato >10 gg. (membrane intatte): 52% PP arrestato >10 gg. (membrane rotte): 67%
Julitta (46)	1969	A	75	MA (8-15 settimane)	os 7,5-15 mg x 3/die	Aborto evitato nell'81% dei casi
Scillieri (47)	1971	A	25 30	PP (>24 settimane) MA (<24 settimane)	e.v. 60 mg os 10 mg x 3-4/die	Arresto PP: 72% Aborto evitato: 73% dei casi
Signorelli (48)	1972	A	12 43	PP (28-34 settimane) MA (6-24 settimane)	i.m. 10 mg per 2-22 gg. os 10 mg x 3/die per 7 gg.	Arresto PP: 83% Aborto evitato: 77% dei casi
Ballestrin (49)	1973	A	188 150	PP (24->32 settimane) MA (<20 settimane)	e.v. 40-80 mg i.m. 10-20 mg os 10 mg x 3/die os 10 mg x 2-4/die sino a 4 mesi (MA)	Arresto PP >5 gg: 73% Aborto evitato: 96% dei casi
Tomassini (50)	1974	A	50	PP (28-35 settimane)	e.v. 20-80 mg os 15 mg x 4/die per 15 gg.	Arresto PP con feto a termine: 52% Arresto PP >7 gg.: 46%
Sola (51)	1974	A	10 30	PP (27-38 settimane) MA (7-25 settimane)	e.v. 50 mg per 48h os 10 mg x 3/die	Arresto di PP con feto nato a termine: 30% PP arrestato >7 gg.: 60% Aborto evitato: 80% dei casi
Verrocchi (52)	1975	A	80	PP (24-36 settimane)	e.v 50 mg i.m. 10 mg x 2-3/die per 5 gg. os 10 mg x 3/die per 7 gg.	Arresto di PP con feto a termine: 45%
Polito (53)	1975	A	50	PP (28-36 settimane)	e.v. 50-100 mg in 48h	Arresto PP con feto a termine: 32%
Moggian (54)	1976	A	71	PP (15-38 settimane)	e.v. 20-40 mg per 12 gg. os 10-20 mg per max 20 gg.	Arresto di PP con feto a termine: 93%
Oliva (55)	1976	A	40	PP (23-37 settimane)	e.v. acuta os 30 mg x 2/die per 2-7 settimane	Arresto PP >7 gg.: 88%
Csapo (22)	1977	RP	36	PP (26-36 settimane)	e.v. 0,2-1,0 mg/min per 10 min e.v. 0,1,0,3 mg/min per 24h os 20 mg x 4/die per 26 gg.	Arresto PP con feto a termine: 84% isossisuprina vs. 29% placebo
Schenken (56)	1980	A	72	PP (25-36 settimane)	e.v. 0,5-0,8 mg/min per circa 5h i.m. 10 mg x 8/die per 1 g os 10-20 mg x 4/die	Arresto PP con feto a termine: 68% Arresto PP >7 gg.: 21%
Brazy (57)	1981	A	70	PP (24-36 settimane, 86% con membrane intatte)	e.v. 5 mg per 15 min e.v. 0,25-0,5 mg/min per 22-22 ore os 20-30 mg x 6-8/die	PP arrestato >7 gg. (tutte): 41% PP arrestato >7 gg. (membrane intatte): 44% PP arrestato >7 gg. (membrane rotte): 30%

i dati di 479 pazienti in trattamento T con I, di cui 294 (61,4%) con MA e 172 (37,2%) con PP. L'età gestazionale media all'arruolamento era di 18,3±10,6 settimane. Il 55,2% delle gravide con MA ha mostrato un prolungamento della gravidanza di almeno 1

SG e nel 97,4% di queste pazienti l'età gestazionale dei neonati alla nascita era superiore o uguale a 30 SG (effetto favorevole particolarmente evidente nelle gravide, con un'età gestazionale all'arruolamento inferiore a 22 SG).

Risultati

L'efficacia clinica della tocolisi con I è risultata evidente anche nel caso delle gravide con PP: l'87,1% ha ritardato il parto di almeno 1 SG ed il 97,3% ha raggiunto almeno la 30^a SG.

È stato anche valutato il giudizio globale del medico, che è risultato positivo per il 76,3% delle donne con MA e per l'89,1% delle donne con PP. È interessante notare come fosse più probabile osservare un risultato positivo nelle età gestazionali più basse, in particolare in caso di MA, a conferma che nelle MA ci siano cause più spesso ormonali-vascolari e nei PP, invece, intervengano fattori che in almeno 1/3 dei casi siano di tipo infiammatorio-infettivo. L'esito positivo della gravidanza si associava anche ad un beneficio per i neonati: l'83,3% dei neonati di madri con MA e il 73,4% dei neonati di madri con PP pesavano infatti più di 2.500 g.

Grazie a questa metanalisi è stato possibile dimostrare come la tocolisi non solo sia in grado di prolungare la gravidanza, ma come questo effetto porti ad un beneficio per il neonato.

Attualmente il protocollo d'uso dell'I in Italia prevede: a) nella minaccia di PP: infusione venosa continua alla velocità di 0,2-0,5 mg/min fino all'arresto delle contrazioni; si passa quindi alla somministrazione intramuscolare di 1 fiala ogni 3-8 ore ed alla terapia orale di mantenimento, fino al momento del parto o al termine della 35^a-36^a SG; b) nella minaccia di aborto: 1 fiala ogni 4-12 ore per via intramuscolare, oppure 1-3 compresse *retard* al giorno; c) nella profilassi dell'aborto: 1-2 compresse-*retard* al giorno, a partire dal 2° mese di gravidanza e per 1-2 mesi o più.

L'I è risultata ben tollerata nei vari studi, sia dalla madre che dal feto, con minimi effetti, non significativi, sul sistema cardiovascolare ai dosaggi medi, rispetto al placebo (59). Ad alte dosi, particolarmente per via parenterale, l'I può causare tachicardia ed ipertensione arteriosa, accompagnata da nausea, vomito, vampate e tremori; effetti che tuttavia svaniscono rapidamente con la sospensione del farmaco o con la somministrazione di un β -bloccante.

I dati più recenti di farmacovigilanza indicano un numero contenuto di reazioni avverse all'I rispetto a pazienti non esposte: le pazienti trattate per almeno un mese con la formulazione orale sono state oltre un milione e mezzo tra il 2000 ed il 2008, mentre quelle trattate con la formulazione iniettabile oltre 400.000. In nessuna delle pazienti trattate sono state registrate reazioni avverse al farmaco. Pertanto il numero di casi di reazioni avverse con I è trascurabile in relazione al numero di pazienti, particolarmente con la forma orale, utilizzata in genere

come mantenimento, quindi preferibile alla forma iniettabile.

Sebbene vi sia un'ampia casistica di soggetti studiati con I, di recente sono stati sollevati da alcune metanalisi dubbi sulla reale efficacia e sicurezza dei T, in particolare delle formulazioni orali (55). Per quanto riguarda l'efficacia dei T, sono stati effettuati numerosi studi di farmacologia e di efficacia clinica, questi ultimi sia in aperto che randomizzati controllati con placebo. Particolarmente numerosi sono gli studi in aperto con I somministrata per via endovenosa in fase acuta e per via orale come mantenimento, che hanno dimostrato un'efficacia media del 50% nel portare a termine la gravidanza e dell'80% nell'arresto della MA. Sebbene le metanalisi degli studi randomizzati mostrino più spesso un'efficacia simile della terapia T e del placebo nel ritardare il PP (56-58), è doveroso sottolineare che in esse siano stati considerati farmaci T tra loro differenti e quasi mai abbiano incluso studi condotti con I. Ci sono ancora evidenze insufficienti per supportare o negare l'uso profilattico dei β -mimetici per via orale per la prevenzione del PP in donne ad alto rischio in gravidanze singole (59). Quindi, sulla base di queste evidenze, non è ragionevole affermare che la "tocolisi non ha effetto", ma piuttosto "che in molti casi è stato riscontrato un effetto certo" nel prolungare la gravidanza.

Per quanto riguarda poi gli effetti sulla mortalità e morbilità perinatale, è vero che anche in questo caso non vi sono evidenze definitive, ma una metanalisi di 12 studi randomizzati con 1.590 soggetti trattati con T e 735 controlli, che non ha dimostrato differenze sostanziali tra T e placebo nel prolungare la gravidanza, ha dimostrato un *trend* favorevole, anche se non significativo, della tocolisi sulla sopravvivenza e sullo stato di salute del neonato (Tab. 3) (63). Anche in questo caso non si può affermare che la tocolisi sia inutile. Altrimenti non si spiegherebbe l'ampio utilizzo di terbutalina come T *off-label* negli Stati Uniti, farmaco che nella metanalisi (63) non si è dimostrato più efficace di altri T, in particolare di altri β -mimetici.

TABELLA 3 - IMPATTO DELLA TOCOLISI SULLA MORTALITÀ E MORBILITÀ PERINATALE (63, riprodotta con permesso).

	Odds ratio (intervallo di confidenza 95%)
Insufficienza respiratoria	1.06 (0.72-1.55)
Emorragia intraventricolare	1.36 (0.07-2.64)
Enterocolite necrotizzante	1.90 (0.64-5.61)
Ricovero in terapia intensiva neonatale	1.03 (0.75-1.42)
Morte perinatale	1.73 (0.08-3.72)

Probabilmente l'eterogeneità dei criteri di inclusione degli studi (soprattutto l'ampio *range* di età gestazionali) ha reso sino ad ora difficile trarre conclusioni definitive sull'efficacia dei T.

Per quanto riguarda i dati farmacologici, ci sembra opportuno citare un recente lavoro (65), volto alla valutazione degli effetti *in vitro* dell'I sull'attività contrattile miometriale. Sono state utilizzate a tale scopo strisce di muscolatura uterina longitudinale prelevate da 12 ratti albini Sprague Dawley di peso compreso tra i 180-200 g, su cui il farmaco veniva testato a dosi da 10^{-8} a 10^{-4} M, valutando le contrazioni spontanee delle strisce miometriali. Un set di 12 strisce di miometrio fungeva da controllo. Come si può notare dalla Figura 2, l'I ha indotto un chiaro ed evidente effetto inibitorio dose-dipendente dell'ampiezza e frequenza delle contrazioni spontanee di strisce di miometrio di ratto gravida, tessuto questo che risulta del tutto simile, in

termini istofisiologici, a quello umano anche per quanto concerne la presenza recettoriale (Figg. 3 e 4). È interessante notare come l'I mantenga il suo effetto inibitorio sulle contrazioni spontanee nel tempo, non mostrando tachifilassi: ciò può essere messo in relazione ad un meccanismo di azione dell'I differente dalla sola β_2 -stimolazione. È utile ricordare che i farmaci attivi sulle ciclo-ossigenasi si collocano ad un gradino precedente della cascata patogenetica, agendo sulla inibizione/rallentamento della sintesi delle PGs.

È inoltre da sottolineare come la formulazione orale retard di I abbia un grande volume di distribuzione che ne riduce molto rapidamente le concentrazioni nel plasma e ne aumenta la concentrazione nei siti d'azione. Ciò è stato ribadito da un recente studio di biodisponibilità della forma orale (30, 60 e 90 mg) e della forma parenterale (10 mg i.m.) condotto in 12 donne (66). Il disegno dello studio prevedeva quattro fasi di

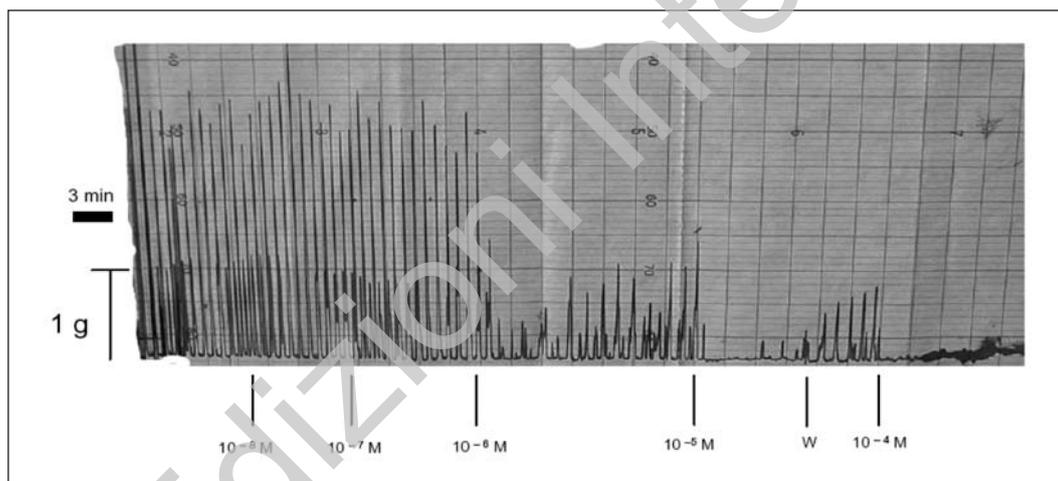


Fig. 2 - Effetto di concentrazioni da 10^{-8} a 10^{-4} M di isoxisuprina sulla ampiezza e sulla frequenza delle contrazioni di strisce di utero gravido isolato di ratto. W=lavaggio del preparato (65).

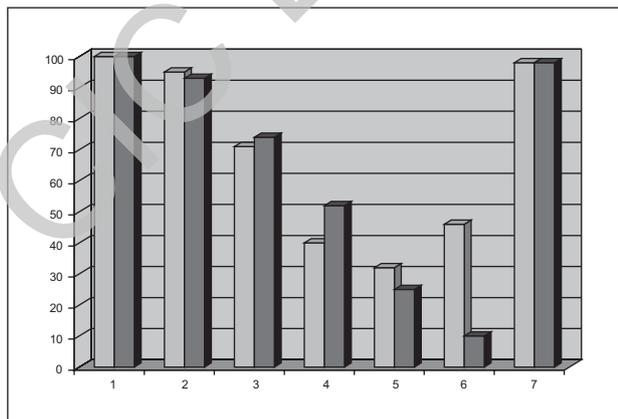


Fig. 3 - Effetto (espresso in percentuale) di concentrazioni da 10^{-8} a 10^{-4} M di ritodrina e di isossisuprina sulla ampiezza delle contrazioni di strisce di utero gravido isolato di ratto (65).

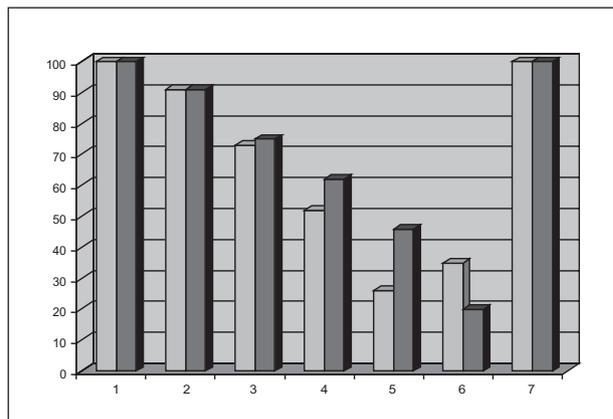


Fig. 4 - Effetto (espresso in percentuale) di concentrazioni da 10^{-8} a 10^{-4} M di ritodrina e di isossisuprina sulla frequenza delle contrazioni di strisce di utero gravido isolato di ratto (65).

trattamento separate da almeno 14 giorni di *wash-out*. Sono state valutate le concentrazioni plasmatiche dell'I totale e libera, prima e a distanza di 24 ore dalla somministrazione. L'I totale (libera più coniugata) era presente nel plasma sia dopo somministrazione orale che parenterale, mentre la forma libera era presente solo nel plasma dopo somministrazione parenterale (Fig. 5). Ciò è stato attribuito all'elevato volume di distribuzione dell'I libera (2,5 volte superiore a quello dell'I totale), a dimostrazione della buona penetrazione della forma libera nei tessuti e della validità della formulazione orale.

Conclusioni

Si potrebbero esporre (1) tre ordini di argomentazioni per confutare l'efficacia della tocolisi: il primo è inerente alla popolazione candidata alla somministrazione di questi farmaci ed, in particolare, alla mancata corrispondenza tra l'incremento di agenti T in commercio ed un'effettiva riduzione di PP; il secondo si fonda su ragioni di carattere individuale e sull'assenza di miglioramento degli esiti neonatali (non definitivamente dimostrato, come abbiamo precedentemente visto); il terzo, infine, con il miglioramento delle cure neonatali, postula che la terapia farmacologica potrebbe assumere solo un ruolo di secondaria importanza rispetto alle stesse. Tuttavia, in contraddizione a quest'ultimo punto, è stato dimostrato che, proprio a dispetto dello sviluppo delle terapie neonatali, la prematurità continua ad essere associata a gravi complicanze neonatali prima, e a lungo termine poi. Tali complicanze risultano essere estremamente invalidanti quali ad esempio leucomalacia periventricolare, malformazioni cerebrali, infarti focali o paralisi cerebrali con negativi esiti motori e cognitivi. Circa il 5-9% delle paralisi cerebrali è dovuto a PP spontaneo con prevalenza del 12% in neonati con peso < 2.000 g. I T potrebbero avere un beneficio nel ridurre i casi di complicazioni neonatali attraverso il mantenimento in utero del feto con una generale maturazione degli organi fetali ed evitando un PP che comporterebbe sicuramente, in un elevato numero di casi, conseguenze patologiche gravi per il neonato e con risvolti familiari e socio-economici notevoli (67-85).

I dati elaborati in Australia ci indicano che l'incidenza del PP ha subito un incremento negli ultimi anni, salendo dal 6,2% al 7,1% (67); anche le statistiche belghe dello *Study Centre for Perinatal Epidemiology* hanno mostrato un aumento dell'1% nell'ultima decade (0,1% l'anno) (68). Andando ad esaminare questo fenomeno nello specifico, è importante sottolineare che è riferito per lo più a gravidanze multiple, a casi

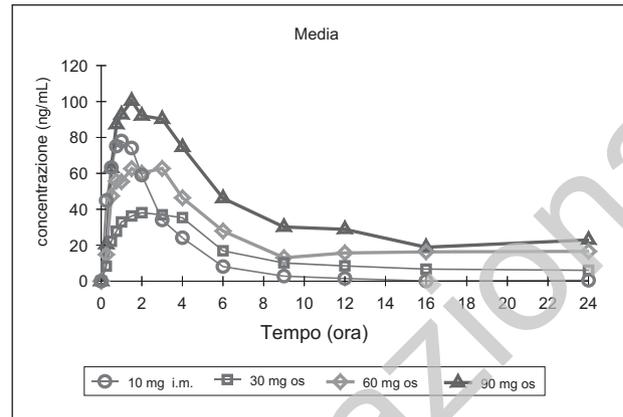


Fig. 5 - Profili sovrapposti di concentrazione-tempo plasmatici medi di isossisuprina misurata in tutti i volontari dopo somministrazione orale di T1 (dose = compressa 30 mg), T2 (dose = 2 compresse x 30 mg = 60 mg), T3 (dose = 3 compresse x 30 mg = 90 mg) (Vasosuprina Retard®) o somministrazione i.m. di confezione R (dose = 10 mg) (Vasosuprina®). Scale lineari (66).

con gravidanze medicalmente assistite, con età materna avanzata, con l'esecuzione di interventi ostetrici, soprattutto effettuati in epoche gestazionali precoci; ciò esprime una non implicabilità diretta della tocolisi sull'incidenza del PP (1).

Infatti la domanda da porsi è se abbiamo la possibilità di valutare gli effetti della terapia T sul PP, in assenza delle suddette condizioni confondenti.

Se concentriamo la nostra osservazione sulle gravidanze con feto vivo senza malformazioni letali, notiamo che le nascite multiple ed i parti elettivi da gravidanze patologiche sono le due condizioni maggiormente incidenti sul PP e, conseguentemente, che le gravidanze spontanee di un singolo feto hanno uno scarso impatto sul fenomeno stesso. Mentre la metà delle nascite pretermine di feti singoli è legata alla presenza di patologie materne o fetali, condizioni che, in ogni caso, non favoriscono il prolungamento della gravidanza e per le quali non è indicata una terapia T, la restante parte, in assenza di patologie, è costituita, per metà, da casi in cui avviene una rottura prematura delle membrane. Da ciò emerge l'esiguità della popolazione eleggibile per la valutazione dell'efficacia della terapia farmacologica T e che, con tutta probabilità, assume significato discutere dei benefici della stessa sui singoli casi, piuttosto che sulla popolazione coinvolta dalla minaccia di PP nel senso più ampio del termine.

Infine i parametri utilizzati per valutare l'efficacia della terapia T, se riferiti agli esiti neonatali, possono risultare di difficile valutazione, se si considera che gli effetti della terapia, in relazione all'intrinseca definizione di tocolisi, sono finalizzati al prolungamento della gestazione e non al miglioramento dello stato fetale, che si raggiunge solo come effetto collaterale.

Uno scarto di 3 settimane assume significati di gran lunga differenti se riferito ad epoche gestazionali diverse: l'acquisizione di un tempo di latenza tra le 34 e le 37 SG, ad esempio, si tradurrà in effetti meno importanti ed evidenti rispetto ad un prolungamento della gravidanza dalle 24 alle 27 SG. Interessanti sono i risultati dello studio (22) effettuato su 36 pazienti con minaccia di PP e bassi livelli di progesterone basali, trattate con I o con placebo e confrontate con un campione di 137 soggetti con normali concentrazioni plasmatiche di progesterone. Nelle pazienti trattate con I, con l'aumentare dell'età gestazionale si evidenziava un analogo aumento delle concentrazioni plasmatiche di progesterone rispetto al gruppo placebo, in linea con quanto osservato nel campione di riferimento. L'aumentata produzione di progesterone è probabilmente legata ad un incremento del flusso ematico utero-placentare indotto da I che si traduce in un secondario aumento di ormone circolante, con positive ripercussioni sullo sviluppo embrio-fetale.

Un altro aspetto emerso negli studi pubblicati è l'effetto protettivo indotto da I nella MA (Figg. 6-8).

È noto che prima della 20^a SG vi è assenza o scarsissima presenza di recettori β_2 miometrali; pertanto i β_2 -agonisti quali l'I avrebbero scarse o nulle attività T. È possibile che gli effetti T di I siano mediati o dalla stimolazione di altri recettori tipo β_3 , solo di recente individuati e presenti sia nel miometrio che nelle arterie placentari, o dall'azione miolitica diretta indotta da I di tipo papaverino-simile (87-89).

Dall'analisi dei dati dello studio del *Canadian Group* è emerso un altro dato importante e cioè che solo un neonato di quelli trattati in utero con ritodrina aveva manifestato paralisi cerebrale alla nascita nei confronti dei 5 del gruppo placebo di controllo (90). Lo stesso *Canadian Investigators Group*, sempre in risposta a questo rilievo, fu d'accordo con quanto rilevato e si riproponeva una serie di studi di controllo che, tuttavia, non sono stati eseguiti. Ci ritroviamo, così, a quasi 20 anni dalla segnalazione del *Canadian Group*, con un blocco insensato delle conoscenze su una famiglia di farmaci che avrebbe procurato probabilmente dei grandi benefici (91).

Altri studi hanno evidenziato che, sebbene la mortalità neonatale per PP si sia ridotta notevolmente ne-

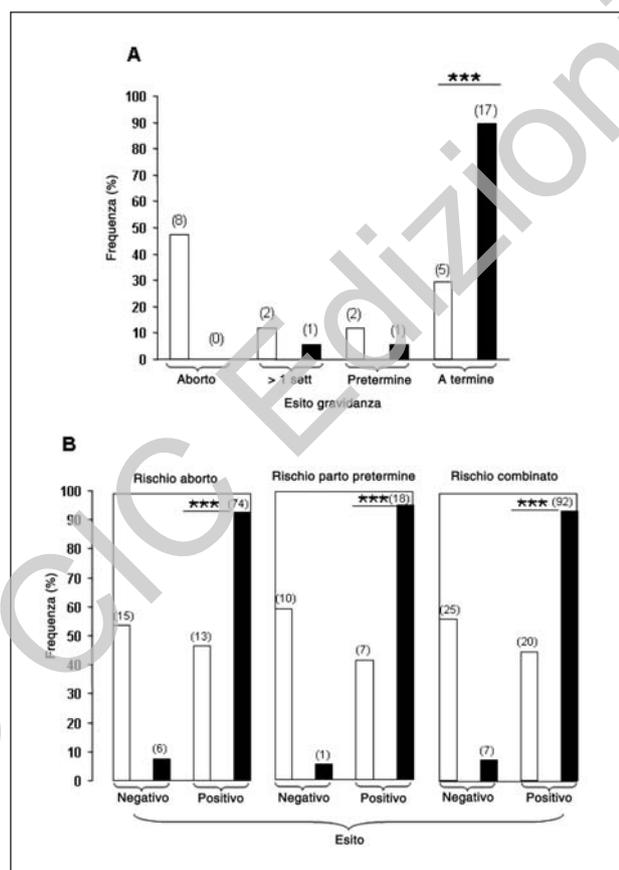


Fig. 6 - Analisi in doppio cieco dell'efficacia dell'isossisuprina in pazienti con minaccia d'aborto (A) o minaccia di parto pretermine (B).

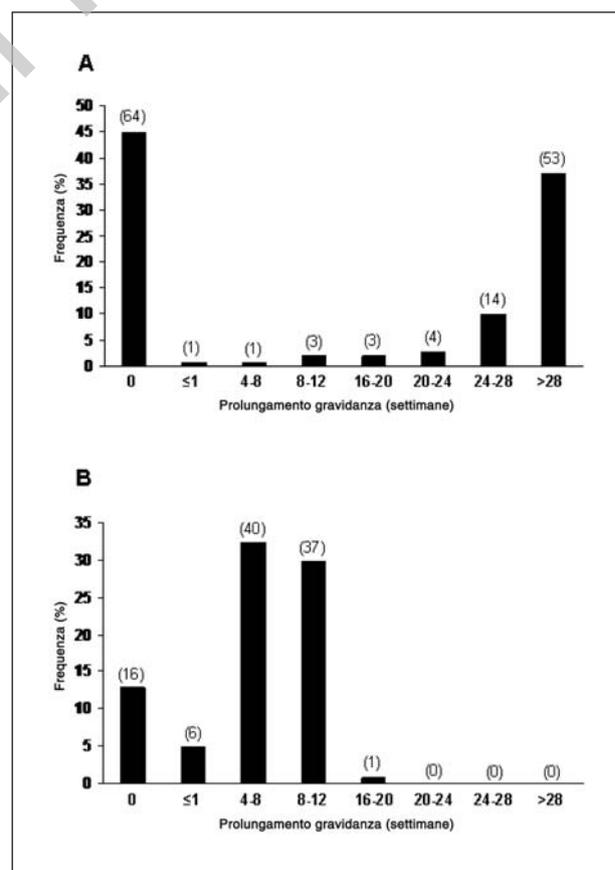


Fig. 7 - Analisi individuale dell'efficacia dell'isossisuprina nelle pazienti con minaccia d'aborto o minaccia di parto prematuro.

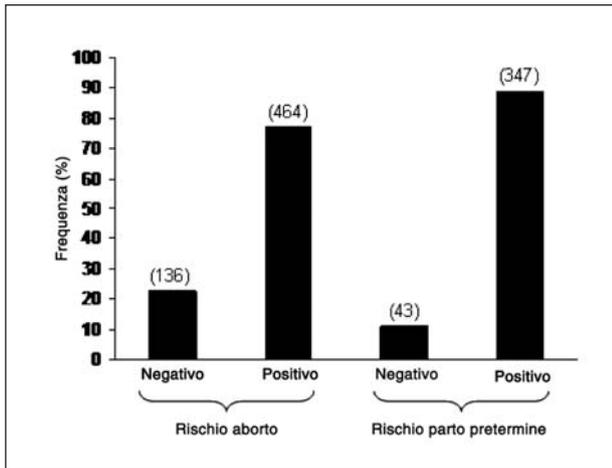


Fig. 8 - Analisi individuale e generale dell'efficacia dell'isossisuprina nelle pazienti con minaccia d'aborto o minaccia di parto pretermaturo.

gli ultimi anni (nati vivi fra 24-30 settimane), le complicanze post-natali sono invece aumentate in maniera significativa con elevate ricadute socio-economiche per la comunità (74). Da queste premesse deriva che la terapia T, ancora oggi, mantiene il suo interesse, anche in presenza di un avanzamento tecnologico delle conoscenze nel campo dell'assistenza al neonato gravemente prematuro e che sarebbe ormai arrivato il momento di distinguere le varie cause del parto prematuro, destinando soprattutto a quelle non infettive la valutazione del trattamento T. I risultati dei numerosi studi dimostrano l'indubbia efficacia clinica e sicurezza della terapia con I: in oltre il 50% delle quasi 2.000 donne trattate si è infatti osservato un effetto T e un significativo prolungamento della gravidanza, a dimostrazione dell'efficacia della tocolisi con questo beta-mimetico.

Bibliografia

- Keirse MJ. The history of tocolysis. BJOG 2003;110(Suppl 20):94-97.
- Gibson JR, McKeown T. Observations on all births (23,970) in Birmingham, 1947. VI. Birth weight, duration of gestation, and survival related to sex. Br J Soc Med 1952;6:152-158.
- Mosler KH. Tocolysis. Bibl Gynaecol 1966;42:198-216.
- Martin JA, Hamilton BE, Sutton PD, Ventura SJ, Menacker F, Kirmeyer S, Munson ML. Centers for Disease Control and Prevention National Center for Health Statistics National Vital Statistics System. Births: final data for 2005. Natl Vital Stat Rep 2007;56:1-103.
- Bonati M, Campi R. Nascere e crescere oggi in Italia. Roma, Il Pensiero Scientifico Editore, 2005.
- UNICEF. Child poverty in perspective: an overview of child-being in rich countries. Innocenti Report Card 7, 2007, UNICEF Research Centre, Florence.
- Steer P. The epidemiology of preterm labor--a global perspective. J Perinat Med 2005;33:273-276.
- Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Epidemiology and causes of preterm birth. Lancet 2008;371:75-84.
- Garfield RE, Maner WL. Physiology and electrical activity of uterine contractions. Semin Cell Dev Biol 2007;18:289-295.
- Alvarez H, Caldeyro Barcia R. Contractility of the human uterus recorded by new methods. Surg Gyn Obstet 1954;91:190.
- Alvarez H, Caldeyro Barcia R. The normal and abnormal contractile waves of the uterus during labor. Gynaec 1954;138:190.
- Gibb W, Challis JR. Mechanisms of term and preterm birth. J Obstet Gynaecol Can 2002;24:874-883.
- Ghidini A, Salafia CM. Histologic placental lesions in women with recurrent preterm delivery. Acta Obstet Gynecol Scand 2005;84:547-550.
- Rivero-Marcotegui A, Larrañaga-Azcárate C, Ceres-Ruiz R, García-Merlo S. Polymorphonuclear elastase and interleukin-6 in amniotic fluid in preterm labor. Clin Chem 1997;43:857-859.
- Nakai A, Taniuchi Y, Miyake H, Nakai M, Yokota A, Takeshita T. Increased level of granulocyte elastase in cervical secretion is an independent predictive factor for preterm delivery. Gynecol Obstet Invest 2005;60:87-91.
- Goldenberg RL, Culhane JF. Infection as a cause of preterm birth. Clin Perinatal 2003;30:677-700.
- Jacobsson B, Holst RM, Andersson B, Hagberg H. Monocyte chemotactic protein-2 and -3 in amniotic fluid: relationship to microbial invasion of the amniotic cavity, intra-amniotic inflammation and preterm delivery. Acta Obstet Gynecol Scand 2005;84:566-571.
- Marvin KW, Keelan JA, Eykholt RL, Sato TA, Mitchell MD. Expression of angiogenic and neurotrophic factors in the human amnion and choriodecidua. Am J Obstet Gynecol 2002;187:728-734.
- Wesseliuss-de Casparis A, Thiery M, Yo le Sian A, Baumgarten K, Brosens I, Gamsans O, Stolk JG, Vivier W. Results of double-blind, multicentre study with ritodrine in premature labour. Br Med J 1971;3:144-147.
- Amy JJ, Karim SM, Sivasamboo R. Intra-amniotic administration of prostaglandin 15 (S) 15-methyl-E2 methyl ester for termination of pregnancy. J Obstet Gynaecol Br Commonw 1973;80:1017-1020.
- Ingemarsson I. Effect of terbutaline on premature labor. A double-blind placebo-controlled study. Am J Obstet Gynecol 1976;125:520-524.
- Csapo AI, Herczeg J. Arrest of premature labor by isoxsuprine. Am J Obstet Gynecol 1977;129:482-491.
- Moed, HD, Van Dijk J. Synthesis of β -phenyl-ethylamine derivatives. Rec Trav Chim Pays-Bas 1956;75:1215-1220.
- Lish PM, Hillyard IW, Dungan KW. The uterine relaxant properties of isoxsuprine. J Pharmacol Exp Therap 1960;129:438-444.
- Johnson WL, Mcgaugey HS Jr, Thornton WN Jr. Effect of certain smooth muscle depressants on isolated human myometrial tissues. Am J Obstet Gynecol 1963;86:296-302.
- Forcucci-Zulli M, Moggian G, Pini PL. Interactions between beta-mimetics and indices of feto-placental function. Min Gynecol 1985;37:89-92.
- Anotayanonth S, Subhedar NV, Garner P, Neilson JP, Harigopal S. Betamimetics for inhibiting preterm labour. Cochrane Database Syst Rev 2004;CD004352.
- Dodd JM, Crowther CA, Dare MR, Middleton P. Oral beta-mimetics for maintenance therapy after threatened preterm labour. Cochrane Database Syst Rev 2006;CD003927.

29. Cochrane Database Syst Rev 2004 Oct 18;(4):CD004352. Anotayanonth S, Subhedar NV, Garner P, Neilson JP, Harigopal S. Betamimetics for inhibiting preterm labour.
30. Rouget C, Bardou M, Breuiller-Fouche M, Loustalot C, Qi H, Naline E, Croci T, Cabrol D, Advenier C, Leroy MJ. Beta3-adrenoceptor is the predominant beta-adrenoceptor subtype in human myometrium and its expression is up-regulated in pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:1644. doi: 10.1210/jc.2004-0233.
31. Doheny HC, Lynch CM, Smith TJ, Morrison JJ. Functional coupling of beta3-adrenoceptors and large conductance calcium-activated potassium channels in human uterine myocytes. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:5786. doi: 10.1210/jc.2005-0574.
32. Bernal AL Overview. Preterm labour: mechanisms and management. Proceedings of the First and Second European Workshops on Preterm Labour of the Special Non-Invasive Advances in Fetal and Neonatal Evaluation (SAFE) Network of Excellence Jörg Strutwolf, Universitat Rovira i Virgili, Tarragona, Spain and Andrés López Bernal, University of Bristol, Bristol, UK.
33. Bishop EH, Woutersz TB. Arrest of premature labor. *JAMA* 1961;178:812-814.
34. Hendricks CH Cibils LA, Pose SV, Eskes TK. The pharmacologic control of excessive uterine activity with Isoxsuprine. *Am J Obstet Gynecol* 1961;82:1064-1078.
35. Chieri S, Maffeo G. L'impiego della Isoxsuprina cloridrato nella terapia delle minacce d'aborto. *Min Ginecol* 1962;14:1-11.
36. Okatomi T, Rimura Y. Clinical trial of Duvadilan (Isoxsuprine HCl) and its uterine antispasmodic effect. *Sanka to Fujinka* 1962;29:1-24.
37. Karim M. Isoxsuprine and the human parturient uterus. a clinical and tokographic study. *Obstet Gynaecol Br Commonw* 1963;70:992-995.
38. Klurfan HI, Casavilla F, de Martire JB, de Otero EM. Effect of isoxsuprine on the contractility of the uterus (clinical analysis). *Proc Soc Obst Ginecol de Buenos Aires* 1963;28:5-290.
39. Leep JH. Isoxsuprine in the prevention of abortion. *West J Surg Obstet Gynecol* 1963;71:103-104.
40. Allen HH, Short H, Fraleigh DM. The use of isoxsuprine in the management of premature labor. *Appl Ther* 1965;7:544-547.
41. Renaud R, Vetter B, Remlinger L, Chesnet Y. L'efficacité de l'isoxsuprine dans les menaces d'accouchement prématuré. *Bull Féd Soc Gynéc Obst Langue Française* 1965;17:271-272.
42. Lucisano F, Casini E, Cotroneo G. Impiego dell'isossisuprina in travaglio di parto. *Clin Ostet Ginecol* 1967;8:390-398.
43. Stefanini U, Ferruti M. Sul trattamento con isossisuprina delle minacce d'aborto. *Il Bassini* 1967;12:1-10.
44. Cazzola D. Effetti della isossisuprina cloridrato nelle minacce di interruzione gravidica. *Quad Clin Ost Ginecol* 1967;22:382-396.
45. Benfatto C, Cisternino A. L'impiego dell'isossisuprina in ostetricia. *Clin Ginecol* 1968;10:299-319.
46. Julitta A, Bonito L, Fornaroli G. L'uso dell'isossisuprina nella minaccia d'aborto. *Min Ginecol* 1969;21:867-8.
47. Scillieri P, Grossi F. Trattamento delle minacce di aborto e di parto prematuro con il cloridrato di isossisuprina. *Arch Ostet Ginecol* 1971;76:129-137.
48. Signorelli I, Rella R. Contributo clinico all'impiego dell'isossisuprina nella patologia ostetrica. *Arch Ostet Ginecol* 1972;77:1-13.
49. Ballestrin L. L'isossisuprina cloridrato nel trattamento delle minacce di interruzione gravidica. *Arch Ostet Ginecol* 1973;78:53-66.
50. Tomassini A, Razzini M, Zocchi G, Caprioli E. Analisi interpretativa di 50 casi di tocolisi eseguita mediante isossisuprina. *Min Ginecol* 1974;26:1-13.
51. Sola O, Colonna-Romano L. Clinical contribution on the use of delayed-action isoxsuprine in threatened abortion. *Arch Ostet Ginecol* 1974;79:326-335.
52. Verrocchi G, Santarelli P. Trattamento della minaccia di parto prematuro con la vasosuprina. *Riv Ostet Ginec Prat Med Perin* 1977;57:69-73.
53. Polito PM, De Palama V, De Curtis A. L'impiego della isossisuprina nella minaccia di parto prematuro. *Min Ginecol* 1975;27:329-332.
54. Moggian G, Zulli P, Aquilina M, Tamburini E. Effects of isoxsuprine in threatened premature labor and in labor (clinical contribution of 158 cases). *Riv Ital Ginecol* 1976;57:363-416.
55. Oliva GC, Caglione R, Romanici C, Bompiani A. Nuovi aspetti della terapia tocolitica di mantenimento: l'impiego dell'isossisuprina ad azione protratta. *Agg Ostet Ginecol* 1976;9:405-412.
56. Schenken RS, Hayashi RH, Valenzuela GV, Castillo MS. Treatment of premature labor with beta sympathomimetics: results with isoxsuprine. *Am J Obstet Gynecol* 1980;137:773-780.
57. Brazy JE, Little V, Grimm J, Pupkin M. Risk-Benefit considerations for the use of Isoxsuprine in the treatment of premature labor. *Obstet Gynecol* 1981;58:297-303.
58. Hendricks CH Eskes TK Saameli K. uterine contractility at delivery and in the puerperium. *Am J Obstet Gynecol* 1962;83:890-906.
59. Whitworth M, Quenby S. Prophylactic oral betamimetics for preventing preterm labour in singleton pregnancies. *Cochrane Database Syst Rev* 2008 Jan 23;(1):CD006395.
60. Dodd JM, Crowther CA, Dare MR, Middleton P. Oral betamimetics for maintenance therapy after threatened preterm labour. *Cochrane Database Syst Rev* 2006;1:CD003927.
61. Tocolitici: farmaci davvero necessari? *BIF* 2007;5:213-216.
62. Gyetvai K, Hannah ME, Hodnett ED, Ohlsson A. Tocolytics for preterm labor: a systematic review. *Obstet Gynecol* 1999;94:869-877.
63. Sanchez-Ramos L, Kaunitz AM, Gaudier FL, Delke I. Efficacy of maintenance therapy after acute tocolysis: a meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol* 1999;181:484-490.
64. Meiorowitz NB, Ananth CV, Smulian JC, Vintzileos AM. Value of maintenance therapy with oral tocolytics: a systematic review. *J Matern Fetal Med* 1999;8:177-183.
65. Lampa E. In vitro effect of isoxuprine and ritodrine on contractions of myometrium of pregnant rat. Clinical study of Istituto Luso Farmaco d'Italia S.p.A., 2004.
66. Marzo A, Zava D, Dal Bo L, Ismaili S, Tavazzi S, Cantoni V. Pharmacokinetics of isoxsuprine hydrochloride administered orally and intramuscularly to female healthy volunteers. *Arzneimittelforschung* 2009;59:455-460.
67. Tracy SK, Tracy MB, Dean J, Laws P, Sullivan E. Spontaneous preterm birth of liveborn infants in women at low risk in Australia over 10 years: a population-based study. *BJOG* 2007;114:731-735. Study Centre for Perinatal Epidemiology (SPE). Annual report, 2006.
68. Resch B et al. Risk factors and determinants of neurodevelopmental outcome in cystic periventricular leucomalacia. *Eur J Pediatr* 2000 Sep; 159(9):663-70.
69. Beaino G et al. Predictors of cerebral palsy in very preterm infants: the EPIPAGE prospective population-based cohort study. *Dev Med Child Neurol* 2010 Feb 12.
70. Greenwood C, Yudkin P, Sellers S, Impey L, Doyle P. Why is there a modifying effect of gestational age on risk factors for cerebral palsy? *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2005 Mar; 90 (2): F141-6.
71. Costeloe K. EPlCure: facts and figures: why preterm labour should be treated. *BJOG* 2006 Dec; 113 (s3): 10-11.

72. Hagberg H, Mallard C, Jacobsson B. Role of cytokines in preterm labour and brain injury. *BJOG* 2005 Mar; 112 Suppl1:16-8.
73. Bax M, Tydeman C, Flodmark O. Clinical and MRI correlates of cerebral palsy: the European Cerebral Palsy Study. *JAMA* 2006Oct4;296(13):1602-8.
74. Vincer MJ, Allen AC, Joseph KS, Stinson DA, Scott H, Wood E. Increasing prevalence of cerebral palsy among very preterm infants: a population-based study. *Pediatrics* 2006 Oct 30.
75. Yoon BH, Romero R, Park JS, Kim CJ, Kim SH, Choi JH, Han TR. Fetal exposure to an intra-amniotic inflammation and the development of cerebral palsy at the age of three years. *Am J Obstet Gynecol* 2000;182(3):675-81.
76. Marlow N, Wolke D, Bracewell MA, Samara M. Neurologic and developmental disability at six years of age after extremely preterm birth. *N Engl J Med* 2005;6;352:9-19.
77. O'Shea TM. Cerebral palsy in very preterm infants: new epidemiological insights. *Ment Reterd Dev Disabil Res Rev* 2002;8(3):135-45.
78. Ancel P-Y, Livinec F, Larroque B, Marret S, Arnaud C, Pierrat V, Dehan M, N'Guyen S, Escande B, Burguet A, Thiriez G, Picaud J-C, André M, Bréart G, Kaminski M. Cerebral palsy among very preterm children in relation to gestational age and neonatal ultrasound abnormalities: the EPIPAGE cohort study. *Pediatrics* 2006;117(3):828-35.
79. Livinec F, Ancel P-Y, Marret S, Arnaud C, Fresson J, Perrat V, Rozé C, Escan B, Thiriez G, Larroque B, Kaminski M. Prenatal risk factors for cerebral palsy in very preterm singletons and twins. *Obstet Gynecol* 2005;105(6):1341-7.
80. Spittle A, Treyvaud K, Doyle L, Roberts G, Lee K, Inder T, Cheong J, Hunt R, Newnham C, Anderson P. Early emergence of behavior and social-emotional problems in very preterm infants. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2009 Jul 23.
81. Suzuki J, Miyjima T, Fujii T. Epidemiological study of cerebral palsy in Shige Prefecture, Japa, during 1977-2000. Part 3: clinical features of cerebral palsy at six years of age. *No To Hatsusy* 2009Jul;41(4):289-93.
82. Rayn SH, Flachs EM, Uldall P. Cerebral palsy in eastern Denmark: declining birth prevalence byt increasing numberts of unilateral cerebral palsy in birth year period 1986-1998. *Eur J Paediatr Neurol* 2009 Jun 27.
83. Krageloh-Mann I, Cans C. Cerebral palsy update. *Brain Dev* 2009 Apr 20.
84. Crowther CA, Hiller JE, Doyle LW, Hasla, RR. Effect of magnesium sulfate given for neuroprotection before preterm birth: a randomized controlled trial. *JAMA* 2003 Nov26;290(20):2669-76.
85. Marret S, Foiz-l'hélias L, Ancel P-Y, Kaminski M, Larroque B, Marcou-Labarre A, Laudenbach V. Is it possible to protect the preterm infant brain and to decrease later neurodevelopmental disabilities? *Arch Pediatr* 2008 Jun;15Suppl1:S31-41.
86. Rouget CO, Barthez, F, Goirand, M.J, Leroy, M, Breuiller-Fouché, Z, Rakotoniaina, P, Guérard, E.J, Morcillo, C, Advenier, P, Sagot, D, Cabrol, M, Dumas and M. Bardou. *Biology of Reproduction* January 1, 2006 vol. 74 no. 1 209-216 Stimulation of the ADRB3 Adrenergic Receptor Induces Relaxation of Human Placental Arteries: Influence of Preeclampsia.
87. Bardou M, Loustalot C, Cortijo J, Simon B, Naline E, Dumas M, Esteve S, Croci T, Chalon P, Frydman R, Sagot P, Manara L, Morcillo EJ, Advenier C. Functional, biochemical and molecular biological evidence for a possible β_3 -adrenoceptor in human near-term myometrium. *Br J Pharmacol* 2000 130:1960-1966.
88. Rouget C, Bardou M, Breuiller-Fouche M, Loustalot C, Qi H, Naline E, Croci T, Cabrol D, Advenier C, Leroy MJ. β_3 -Adrenoceptor is the predominant, β adrenoceptor subtype in human myometrium and its expression is upregulated in pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 2005 90:1644-1650.
89. Gáspár R, Gál A, Gálik M, Ducza E, Minorics R, Kolarovszki-Sipiczki Z, Klukovits A, Falkay G. Different roles of alpha2-adrenoceptor subtypes in non-pregnant and late-pregnant uterine contractility in vitro in the rat. *Neurochem Int* 2007 Oct;51(5):311-8. Epub 2007 Jul 1.
90. The Canadian Preterm Labor Investigators Group. Treatment of preterm labor with the beta-adrenergic agonist ritodrine. *N Engl J Med* 1992;327:308-312.
91. Treatment of preterm labor with the beta-adrenergic agonist ritodrine. *N Engl J Med* 1992;327:1758-1760.