

Ph.D. értekezés tézisei

β_2 -adrenerg receptor agonisták és altípus-szelektív
 α_{1A} -adrenoceptor antagonisták farmakodinámiája
terhes patkány uteruson *in vitro*

Mihályi Attila



Szegedi Tudományegyetem
Gyógyszerésztudományi Kar
Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézet

Szeged

2004

Ph.D. értekezés tézisei

β_2 -adrenerg receptor agonisták és altípus-szelektív
 α_{1A} -adrenoceptor antagonisták farmakodinámiája
terhes patkány uteruson *in vitro*

Mihályi Attila

Szegedi Tudományegyetem
Gyógyszerésztudományi Kar
Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézet

Szeged

2004

Bevezetés

A koraszülés -mint a neonatális morbiditás és mortalitás legfőbb oki tényezője világszerte- egy igen súlyos közegészségügyi probléma tekintve a halálozásokat, a hosszú távú negatív következményeket és az egészségügyi kiadásokat. A széleskörű felismerés ellenére -mely szerint a koraszülés megakadályozása a legjelentősebb perinatális kihívás, különösen az iparosodott országokban- a koraszülések száma az elmúlt években folyamatosan nőtt.

A myometrium kontraktilitásának összetett szabályzó rendszere -mely többek között magába foglalja az adrenerg rendszert, az oxytocint, a szexuálszteroidokat és a prosztaglandinokat- számos terápiás módszer kidolgozását inspirálta. Ezek a módszerek a legkülönbözőbb hatóanyagokat próbálták meg alkalmazni, azonban a számos eljárás közül egyik sem hozott igazán komoly áttörést, egyik sem bizonyult képesnek csökkenteni a koraszülések arányát.

Jelenleg a rendelkezésre álló hatóanyagok közül a β_2 -AR agonisták a leggyakrabban alkalmazott tocolitikumok, bár hatékonyságukat ellentmondások övezik, különösen tartós alkalmazás esetén. Akut esetekben az e szerekre kapott válasz kielégítő, de a terhesség időtartamának számottevő meghosszabbítása tartós β_2 -AR agonista kezeléssel jelenleg is viták tárgyát képezi. Mindemellett a β_2 -AR agonisták használata számos esetben -tachycardia, diabetes mellitus, arrhythmia- kontraindikált. Ugyanakkor amennyiben kontraindikáció nem áll fenn, a kezelést gyakran kísérik nemkívánatos mellékhatások, melyek akár életveszélyesek is lehetnek. Ezek a mellékhatások leggyakrabban a cardiovascularis és a cardiopulmonalis rendszert érintik a legnagyobb mértékben (tachycardia, arrhythmia, pulmonalis oedema).

Számos tanulmány igazolta, hogy a β_2 -AR agonisták hatékonysága a receptorok deszenzitizációjának eredményeként csökken a terhesség végéhez közeledve. Ennek megfelelően a korai méhkontrakciók leállításához a terhesség előrehaladtával egyre nagyobb dózisok szükségesek, ami pedig következményesen fokozza a dózisfüggő mellékhatások gyakoriságát és súlyosságát.

Korábbi vizsgálatok kiderítették, hogy a β_2 -AR-ok mellett az α -adrenerg receptorok is jelentős hatást gyakorolnak a myometrium kontraktilására. Állatkísérletekben bizonyítást nyert, hogy az α_1 -adrenerg receptor (α_1 -AR) antagonisták képesek gátolni a patkány méhizomzat összehúzódásait. A terhes patányuterusban az α_1/β -AR sűrűség-hányados értéke emelkedik a terminus felé haladva, mely emelkedés elsősorban nem a csökkent β -AR denzitás, hanem a növekvő α_1 -AR sűrűség eredménye. További vizsgálatok kimutatták, hogy az α_1 -AR-ok három altípusa közül az α_{1A} altípus az, amely elsődlegesen felelős az említett növekedésértés, és kiderült, hogy e receptor típus blokkolásával a patányuterus kontrakciói jelentős mértékben gátolhatók.

Mindemellett ismeretes, hogy az altípus-szelektív α_{1A} -AR antagonisták közül, néhány az α_{1A} -AR-ok mellett kötődnek a szerotonin-1A (5-HT_{1A}) receptorokhoz is és azokon agonista hatást fejtenek ki.

Célkitűzések

A jelenleg rendelkezésre álló ismeretek alapján célkitűzéseinket három csoportban foglaltuk össze:

Bár a β_2 -AR denzitás a terhes patkányuterusban nem mutat jelentős csökkenést az utolsó trimeszterben, a β_2 -AR agonistákkal szemben mutatott farmakológiai reaktivitásban kifejezett csökkenés tapasztalható. Ezért első lépésben a myometrium csökkent válaszkészségének molekuláris hátterét próbáltuk felderíteni a harmadik trimeszterben.

A vizsgálatok második szakaszában a β_2 -AR agonisták méhkontrakciót gátló hatását vizsgáltuk altípus-szelektív α_{1A} -AR antagonisták jelenlétében. A kísérletek célja a két hatóanyagtípus közötti interakció meghatározása volt.

Harmadik célkitűzésünk az α_{1A} -AR antagonisták szerotonerg aktivitásának a kontrakció gátló hatásban betöltött szerepének meghatározása volt. Az 5-HT_{1A} agonista hatás szerepének vizsgálatát a hatóanyagok szerotonerg aktivitásának gátlásán keresztül végeztük.

Anyag és módszer

Az állatok pároztatása

A pároztatás ivarérett, Sprague-Dawley patkányokkal történt egy erre a célra kialakított, speciális ketrecben. 4-5 órával a lehetséges párzás után hüvelykenetet vettünk a nőstényektől, melyeket mikroszkóp alatt megvizsgáltunk. Amennyiben a kenetben spermiumok voltak láthatók, vagy a kenetvétele nem volt kivitelezhető sperma aggregátum jelenléte miatt, a nőstényeket elkülönítettük és az adott napot tekintettük a terhesség első napjának.

[³⁵S]GTP γ S kötési vizsgálatok

A terhes patkányokból származó uterus szöveteket pufferben homogenizáltuk és centrifugáltuk. A felülúszókat 4°C-on tároltuk, a pelleteket reszuszpendáltuk és újra centrifugáltuk. Ezt követően a felülúszókat centrifugáltuk, majd a pelleteket azonnal felhasználtuk, vagy -70°C-on tároltuk. Ezeket a membránfrakciókat [³⁵S]GTP γ S-t és növekvő koncentrációjú terbutalint tartalmazó

pufferben inkubáltuk, feleslegben adott GDP mellett. A kötött és szabad [^{35}S]GTP γ S frakciók vákuumszűrővel lettek elkülönítve. A szűrők radioaktivitása mosás után szcintillációs számlálóval került meghatározásra.

Reverz-transzkripció polymeráz láncreakció (RT-PCR) vizsgálatok

Szövet izolálás

A terhesség 22. napján cervikális diszlokációt követően a nőtények uterusait eltávolítottuk. Az uterus mindkét szarvából 2-2 gyűrűt kimetszettünk az izoláltszervi vizsgálatokhoz, a megmaradt szövetet ribonukleáz inhibitort tartalmazó pufferben homogenizáltuk.

Teljes RNS preparáció

A teljes celluláris RNS izolálása guanidinium-thiocyanát-sav-fenol-kloroformos kivonással történt. Precipitáció után az RNS-t RNase mentes DNase I-gyel kezeltük, majd fenollal extraháltuk, alkohollal precipitáltuk végül diethyl-pyrokarbonát kezelt vízben reszuszpendáltuk. Az RNS koncentrációt az optikai denzitás alapján határoztuk meg.

RT-PCR

Az RNS-t reakcióelegyben denaturáltuk. Az elegyet lehűtése után M-MLV reverz transzkriptázt és RNase H Minus-t adtunk a rendszerhez és az elegyet inkubáltuk. A PCR kivitelezéséhez cDNA, ReadyMix REDTaq PCR reakció elegy és 50 pm sense és antisense primer került felhasználásra. Belső kontrollként patkány GAPDH próbát alkalmaztunk. A PCR termékeket ethidium bromid tartalmú gélen vizualizáltuk. A mennyiségi analízishez denzitometriás scanninget alkalmaztunk. Az 5-HT $_{1A}$ /GAPDH és az α_{1A} -AR/GAPDH hányadosokat kiszámoltuk minden RNS poolra vonatkozóan.

Izoláltszervi vizsgálatok

Szövet preparálás

A terhes SPRD patkányokból kimetszett uterus gyűrűket két platina elektród közé függesztettük, majd 10ml de Jongh oldatot tartalmazó 37°C-os szervfürdőbe helyeztük és 1.5 g előfeszítés mellett 90 percig inkubáltuk.

A terbutalinra adott válasz változásainak meghatározása a terhesség végén

A terhesség 15., 18., 20. és 22. napjain ritmikus kontrakciókat váltottunk ki elektromos erőteringerléssel (EFS). Terbutalin növekvő koncentrációit a rendszerhez adva megszerkesztettük a terbutalin nonkumulatív dózis-hatás görbéit.

A β_2 -AR agonisták és az α_{1A} -AR antagonisták közötti interakció meghatározása

Megszerkesztettük a α_{1A} -AR antagonista WB4101 és 5-methylurapidil (5-MU) valamint a terbutalin és a ritodrin nonkumulatív dózis-hatás görbéit külön-külön, majd újra felvettük mindkét β_2 -AR agonista dózis-hatás görbéit az α_{1A} -AR antagonisták jelenlétében. A kontrakciók kiváltásához itt is EFS-t használtunk.

Az α_{1A} -AR antagonisták szerotonin (5-HT) okozta kontrakciókra gyakorolt hatásának vizsgálata

Az ismertett módon megszerkesztettük az 5-HT dózis-hatás görbáját önmagában valamint WB4101 illetve 5-MU jelenlétében.

Az α_{1A} -AR antagonisták szerotonerg aktivitásának szerepe az uterus relaxáló hatásban

Az α_{1A} -AR antagonisták dózis-hatás összefüggéseit határoztuk meg előbb önmagukban alkalmazva, majd az 5-HT_{1A}-receptor antagonista WAY100135 különböző koncentrációinak jelenlétében.

Eredmények értékelése

A görbe alatti területek (AUC) statisztikai próbáját egy utas variancia analízissel (ANOVA) végeztük el a Neuman-Keuls féle *post hoc* teszttel kiegészítve. Az eredményeknél az átlagok és az átlagok standard hibái (S.E.M.) vannak feltüntetve. Valamennyi kísérletben $n \geq 6$.

Eredmények

A terbutalin dózisfüggően gátolta az EFS-sel kiváltott kontrakciókat a 15., 18., 20. és 22. terhességi napokon. A terminus felé haladva a dózis-hatás görbék egyre inkább jobbra tolódtak. A terbutalin EC50 értéke a 15. naptól folyamatosan növekedett. Ezzel párhuzamosan a maximális kontrakció gátló hatásban csökkenés volt tapasztalható.

A terbutalin a β_2 -AR-okon keresztül stimulálta a [³⁵S]GTP γ S kötést a 15., 18. és 20. napokon. A stimuláció mértéke a 20. napon volt a legnagyobb, de ez csak kifejezetten magas koncentrációknál jelentkezett. A 22. napon a terbutalin gátolta a GTP γ S kötést, az alapszint alá csökkentve azt. A

maximális GTP γ S kötés stimuláció 50%-ának eléréséhez szükséges terbutalin koncentráció (EC50) a 15. naptól fokozatosan nőtt. A 22. napon az inhibíciós EC50 rendkívül magas volt.

Mindkét α_{1A} -AR antagonistá dózisfüggően gátolta a patkány myometrium EFS-sel kiváltott kontrakcióit, bár kevésbé voltak hatékonyak, mint a terbutalin vagy a ritodrin.

A terbutaline dózis-hatás görbéje jelentősen balra tolódott WB4101 jelenlétében. 5-MU-val kombinációban alkalmazva a terbutalin görbéje még erőteljesebben balra tolódott. A α_{1A} -AR antagonisták jelenlétében tapasztalt balratolódás eredményeként a terbutaline EC50-e szignifikánsan csökkent, míg a maximális kontrakció gátló hatásban szignifikáns növekedés mutatkozott.

A ritodrin dózis-hatás görbéje ugyancsak balra tolódott WB4101 jelenlétében, azonban a balratolódás mértéke kisebb volt, mint a terbutaline esetében. 5-MU-lel együtt alkalmazva a ritodrin görbéje még inkább balra tolódott. A ritodrin α_{1A} -AR antagonistákkal történő kombinációja a β_2 -AR agonista EC50 értékének szignifikáns csökkenését eredményezte, míg ezzel párhuzamosan a hatásmaximumban jelentős növekedés volt tapasztalható.

Az RT-PCR vizsgálatokban kimutattuk mind az α_{1A} -AR mind az 5-HT $_{1A}$ -receptorok mRNS expresszióját a terhesség 22. napján. Az eredmények bizonyították, hogy mindkét receptor altípus jelen van a terhes patkányuterusban.

A 5-HT dózisfüggően fokozta a patkány myometrium kontrakcióit. WB4101 hatására az 5-HT dózis-hatás görbéje jobbra tolódott, ezzel együtt az EC50 értéke szignifikáns emelkedést mutatott, ugyanakkor a hatásmaximumban számottevő változás nem volt tapasztalható. A WB4101 magasabb koncentrációja esetén a jobbratolódás még kifejezettebb volt, de a hatásmaximum ebben az esetben sem mutatott érdemi változást.

A fentiekhez hasonlóan, 5-MU jelenlétében az 5-HT görbéje jobbra tolódott és az EC50 értéke növekedést mutatott, míg a hatásmaximumban enyhe csökkenés volt tapasztalható. Az 5-MU magasabb koncentrációban történő alkalmazása esetén az 5-HT dózis-hatás görbéje ismét jobbra tolódott, de az EC50 értékének növekedése mellett az 5-HT hatásmaximumában bekövetkezett csökkenés is szignifikánsnak mutatkozott.

A WAY100135-tel előidézett 5-HT $_{1A}$ -receptor blokád nem befolyásolta a WB4101 kontrakció gátló tulajdonságait, sem az EC50-ben, sem a maximális hatásban nem okozott szignifikáns változást. Az 5-HT $_{1A}$ -receptor antagonista koncentrációjának egy nagyságrenddel történő emelése sem módosította a dózis-hatás görbe lefutását.

WAY100135 jelenléte mellett az 5-MU dózis-hatás görbéje kismértékben balra tolódott, de ez nem vezetett lényegi csökkenéshez az EC50 érték tekintetében. A maximális kontrakció gátló hatás enyhe emelkedést mutatott. Az 5-HT $_{1A}$ -receptor antagonista magasabb koncentrációjának alkalmazása

az 5-MU dózis-hatás görbéjének további balratolódását eredményezte. Az EC50 ebben az esetben sem mutatott számottevő eltérést de a maximális kontrakció gátló hatásban szignifikáns emelkedés volt tapasztalható.

Megbeszélés

Csökkenés a terbutaline kontrakció gátló hatásában

Az izoláltszervi vizsgálatok során, a terbutalin kontrakció gátló hatásában tapasztalt fokozatos csökkenés gyengülő β_2 -AR funkcióra utal. A β_2 -AR-oknak eme csökkent válaszkészsége összhangban áll korábbi vizsgálatok eredményeivel, melyek szerint agonista expozíciót követően a β_2 -AR-ok válaszkészsége csökkent a receptorok deszenzitizációjának eredményeként. Annak ellenére, hogy a kísérleti állatok nem részesültek β_2 -AR agonista kezelésben *in vivo*, a szövetminták *in vitro* β_2 -AR agonistákkal való kezelése kapcsán felmerülhet a kérdés, vajon ez az expozíció előidézheti-e a β_2 -AR-ok deszenzitizációját?

Az G-protein kapcsolt receptorok agonista dependens deszenzitizációja magyarázatot adhatna a csökkent válaszkészségre. Azonban irodalmi adatok igazolják, hogy a késői terhességből származó méhizomzat relaxációs válasza terbutalinra folyamatos, 30 perces expozíció után is változatlan marad. Kísérleteinkben az uterus minták hozzávetőlegesen 30 percig voltak kitéve a terbutalin jelenlétének, így a csökkent válaszkészség nem magyarázható az agonista indukálta deszenzitizációval. A jelenség hátterének megismeréséhez a [35 S]GTP γ S kötési vizsgálatok eredményei egy valószínűbb magyarázattal szolgálhatnak.

A [35 S]GTP γ S kötési kísérletekkel világosan láthatóvá vált, hogy a terhesség utolsó fázisában a terbutaline által aktivált G-fehérjék mennyisége napról-napra fokozatosan csökken. A 22-ik napon a terbutalin nem volt képes fokozni az alap G-protein aktivációt, sőt, magasabb koncentrációk esetén csökkentette azt. Ez magyarázatot adhat a terhesség utolsó napján a kontrakció gátló hatásban tapasztalt csökkenésre. Mindezen megfigyelések arra utalnak, hogy a terhesség kései szakaszában a β_2 -agonisták hatékonyságának visszaesése nem pusztán az agonista indukálta deszenzitizáció következménye, hanem feltehetően a terhesség hatására a G-protein aktivációban bekövetkező csökkenés eredménye is.

Szinerfizmus a β_2 -AR agonisták és az α_{1A} -AR antagonisták között

Amint az eredményekből látható, az α_{1A} -AR antagonisták dózisfüggően gátolták mind az 5-HT-nal, mind az EFS-sel kiváltott kontrakciókat. Bár hatékonyságuk kisebb volt, mint a β_2 -AR

agonistáké, számottevő kontrakció gátló hatást fejtek ki. Ezen túlmenően a terbutaline valamint a ritodrin α_{1A} -AR antagonistákkal történő kombinációja a β_2 -AR agonisták EC50 értékének szignifikáns csökkenését illetve a hatásmaximumaik számottevő növekedését eredményezte. Mindezen eredmények azt sugallják, hogy az α_{1A} -AR antagonistákkal történő kombináció lehetővé tenné lényegesen alacsonyabb β_2 -AR agonista dózisok alkalmazását a nem kívánt uterus kontrakciók megszüntetésére.

Az 5-HT_{1A} agonista aktivitás szerepe az uterus relaxáló hatásban

Az RT-PCR eredmények igazolták mind az α_{1A} -AR, mind az 5-HT_{1A} receptorok jelenlétét az uterusban, bár az mRNS expressziókban szignifikáns különbség volt tapasztalható. Az 5-HT dózisfüggően fokozta a terhes patkányuterus kontrakcióit. A WB4101 jelenléte az 5-HT dózis-hatás görbéjének kifejezett jobbrtolódását okozta, mely jobbrtolódás még markánsabbá vált a WB4101 koncentrációjának egy nagyságrenddel történt emelése révén. Ezzel párhuzamosan az 5-HT maximális hatásában jelentős változás nem volt megfigyelhető. Ezek a változások arra utalnak, hogy a két hatóanyag között kompetitív antagonizmus áll fenn. Ez alapján feltételezhető, hogy az 5-HT hatása a patkány uterusban (legalább is részben) az α_{1A} -AR-okon keresztül mediálódik. Az előzőekhez hasonlóan 5-MU jelenlétében az 5-HT dózis-hatás görbéje ismét jobbra tolódott, s ez az 5-MU koncentrációjának növelésekor még kifejezettebben jelentkezett. Azonban ez utóbbi esetben a jobbrtolódás mellett számottevően csökkent az 5-HT hatásmaximuma. Ez a megfigyelés arra enged következtetni, hogy a két α_{1A} -AR antagonistá szerotonerg tulajdonságuk tekintetében lényegesen különbözik.

A WB4101 kontrakció gátló jellemzői nem változtak az 5-HT_{1A} receptor antagonistá jelenlétében, a dózis-hatás görbéken lényegi eltérés nem volt tapasztalható. Mindez azt igazolja, hogy a WB4101 ténylegesen az α_{1A} -AR-okon keresztül gátolja a terhes patkányuterus kontrakcióit. Figyelembe véve, hogy a WB4101 gátolta az 5-HT-nal kiváltott kontrakciókat, ezek az eredmények megerősíteni látszanak a hipotézist, mely szerint az 5-HT indukálta kontrakciók a patkány uterusban az α_{1A} -AR-okon mediálódik.

Ezzel ellentétben az 5-MU uterus relaxáló hatása erősödött a WAY100135 jelenlétében. Az 5-HT_{1A}-receptor antagonista koncentrációjának emelése tovább növelte az 5-MU hatásmaximumát. Ez a növekedés statisztikailag is szignifikánsnak bizonyult és ezáltal az 5-MU maximális hatása felülmúlta a WB4101-ét. Ezen eredmények arra utalnak, hogy az 5-MU szerotonerg aktivitása kifejezettebb, mint a WB4101-é. Feltételezhetően az 5-MU kettős hatást gyakorol a terhes patkánymyometriumra: egy domináns α_{1A} -AR antagonistá hatáson keresztül gátolja a kontrakciókat, míg egy kevésbé explicit 5-

HT_{1A}-receptor agonista hatás révén fokozza a kontrakciókat, ezáltal csökkentve az 5-MU kontrakció gátló képességét.

β_2 -AR agonisták kombinációja α_{1A} -AR antagonistákkal

Bár az altípus szelektív α_{1A} -AR antagonisták még nem részei a farmakoterápiás gyakorlatnak, theoretikusan új perspektívát jelenthetnek a tocolysis területén. Vélhetően a β_2 -AR agonisták hatásában bekövetkező erőteljes csökkenést ellensúlyozni lehetne egy α_{1A} -AR antagonistákkal történő kombinációval. A két hatóanyag típusnak egy ilyen kombinációja lehetővé tehetné, hogy a kívánt tocolytikus hatást lényegesen kisebb dózisok alkalmazásával ériék el. Ugyanakkor a β_2 -AR agonisták α_{1A} -AR antagonistákkal történő potenciózása kedvezően befolyásolhatná olyan terhességgel kapcsolatos rendellenességek alakulását, mint a pre-eclampsia vagy a terhességi hypertónia, melyek esetében általában fokozott szimpatikus aktivitás tapasztalható és a koraszülés kockázata is emelkedett. Jelen vizsgálatok eredményei alapján célszerűnek tűnik a jövőben olyan altípus szelektív α_{1A} -AR antagonisták szintetizálása, melyek nagy uterus szelektivitásuk mellett nem vagy csak elhanyagolható mértékben rendelkeznek 5-HT_{1A}-agonista aktivitással, ezáltal biztosítva a maximális tocolytikus hatást.

Természetesen további *in vivo* kísérletek és klinikai vizsgálatok szükségesek ahhoz, hogy ennek az interakciónak a lehetséges előnyeit a lehető legjobban feltérképezzük. Amennyiben ezen jövőbeni vizsgálatok eredményei megerősítik az eddigi megfigyeléseket, akkor a leírt feltételeknek megfelelő molekulák szintézise egy új -és vélhetően hatékonyabb- utat nyithat meg a tocolysis problémájának megoldásában.

Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom témavezetőmnek, **Dr. Falkay György** professzor úrnak, hogy intézetében dolgozhattam. Támogatása, segítsége és tanácsai disszertációm alappillérei voltak.

Szeretnék köszönetet mondani **Dr. Kovács László** professzor úrnak, hogy az általa vezetett doktori programban részt vehettem.

Őszinte köszönetemet szeretném kifejezni **Dr. Gáspár Róbert** adjunktus úrnak az éveken át tanúsított türelméért és a részemre nyújtott hathatós segítségéért.

Szeretném megköszönni a **Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézet** valamennyi munkatársának támogatását, szakmai és emberi segítségét.

Őszinte hálámat szeretném kifejezni **Szüleimnek**, akik tanulmányaimat és munkámat minden erejükkel támogatták.

A disszertációhoz kapcsolódó publikációk

1. Gáspár Róbert Dr., Márki Árpád, Mihályi Attila, Falkay György Dr. A β -adrenerg receptorok spontán deszenzitizációja terhes patkány uteruszon *Magyar Nőorvosok Lapja* 63, 377-380, 2000
2. Mihályi A, Gáspár R, Csonka D, Falkay G. Synergism between beta2-adrenoceptor agonists and subtype-selective alpha1A-adrenoceptor antagonists in the tocolytic effect on pregnant rat uterus in vitro. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 2003;30 (3):164-7.
3. A. Mihályi, E. Ducza, R. Gáspár, G. Falkay. Investigation of the role of the serotonergic activity of certain subtype-selective α_{1A} -antagonists in the relaxant effect on the pregnant rat uterus in vitro. *Molecular Human Reproduction*. 2003 9:475-480
4. A. Mihályi, R. Gáspár, G. Falkay. Synergism in the uterus-relaxant effects of terbutaline and 5-methylurapidil on the pregnant rat uterus in vitro. *Fundamental & Clinical Pharmacology Suppl.* 8P115, 2001
5. Mihályi A., Ducza E., Gáspár R., Falkay G. Role of serotonergic activity in the alpha1A-blockade in the pregnant rat myometrium in vitro *Abstract book of the 3rd Congress of the Federation of European Physiological Societies* 2003
6. Mihályi A., Gáspár R., Csonka D., Falkay G. Interakció a terbutalin és altípus-szelektív α_{1A} -antagonisták között az uterus relaxáló hatásban *Magyar Szülészeti és Nőgyógyászati Endokrinológiai Társaság II. Nemzeti Kongresszusa Összefoglalók* 2002
7. Mihályi A., Ducza E., Gáspár R., Falkay Gy. A WB4101 tocolytikus hatásának vizsgálata terhes patkány uteruszon in vitro *Magyar Kísérletes és Klinikai Farmakológusok V. Kongresszusa Programkönyv* 2002