

**„ANTIDEPRESSZÁNS VEGYÜLETEK NEM KONVENCIONÁLIS HATÁSAI:
RECEPTOR IONCSATORNÁK MODIFIKÁCIÓJÁNAK VIZSGÁLATA
AZ IONÁRAMOK KINETIKAI ELEMZÉSÉVEL.”**

T 037659 tematikus OTKA pályázat

ZÁRÓJELENTÉS

Amint az alábbiakból kiderül, a projekt legjelentősebb eredményei még publikációra várnak (összesen öt cikkről van szó, melyek kísérletesen már befejezettek, közülük egy már elfogadott, egy jelenleg bírálattal áll, három pedig a publikációra való előkészítés különböző fázisaiban van). Ezért kérem, hogy a jelenlegi minősítést az OTKA egy év múlva kiegészítő eljárásban módosítsa.

HÁTTÉR:

A depresszió terápiájában leggyakrabban használt vegyületcsoport a monoamin visszavétel gátló antidepresszánsok csoportja. Ezek elsődleges hatása, hogy nagy affinitással gátolják a monoamin transzportereket. Nagyobb koncentráció esetén azonban ezek a vegyületek számos más fehérje targetre is hatással vannak (amit egyes monoamin visszavétel gátló antidepresszánsok mellékhatásai is mutatnak). Mivel ezek a „nem-konvencionális” hatások már terápiás agyi koncentrációban is jelentkeznek, mindenképpen fontos vizsgálni őket a mellékhatások szempontjából, és felmerül annak a lehetősége is, hogy a mellékhatásokon túl a terápiás hatás kialakításában is szerepet játszhatnak.

Jól ismert a depresszió monoamin deficiencia elmélete. Az elmélet egyszerű és tetszetős, fő vonzereje valószínűleg ebben is rejlik, hiszen valóban jó lenne ha a depresszió egyszerű metabolikus betegségként lehetne leírható és gyógyítható. Ismerjük azonban a monoamin hipotézis gyenge pontjait is. Részletesebb tárgyalásukra itt most nincs mód, csak a legjobban ismert problémát említem meg: a terápiás hatás késleltetett voltát. Ha valóban csak a monoamin szintekkel lenne a probléma, az antidepresszánsok azonnal hatni kezdenének. Nem ezt teszük, sőt az első hetekben a beteg állapota kifejezetten rosszabbodik. Talán nem túlzás azt kijelenteni, hogy az antidepresszánsok nem gyógyítják meg a depressziót. Természetesen valamit okoznak, valamilyen változást kiváltanak az idegrendszerben, amire az idegrendszer adaptív módon reagál: egyfajta plaszticitás, reorganizáció indul meg, nő a szinapszisok száma, átrendeződnek a sejtek közötti kapcsolatok (Duman, 2002a; Duman, 2002b; Reid and Stewart, 2004). Ezek alapján fogalmazták meg a depresszió hagyományos kémiai hipotézisével („chemical hypothesis”) szemben a hálózati hipotézist („network hypothesis”) (Castren, 2005).

Ha elfogadjuk, hogy az antidepresszáns terápia két időben elkülönülő fázisra bomlik; egy közvetlen hatásra, amely valahogyan módosítja az idegsejt-hálózatok működését, és egy másodlagos adaptív reorganizációra, amely a voltaképpen terápiás hatás kialakulásának folyamata, felmerül a kérdés, miért érdemes a közvetlen, elsődleges hatások vizsgálatát célul kitűzni.

Leszögezhetjük ugyanis, hogy a depresszió kialakulását, ill. az antidepresszánsok terápiás hatásának kialakulását nem fogjuk ezekből a vizsgálatokból megérteni. A hatékony antidepresszánsok keresése szempontjából azonban fontos a közvetlen farmakológiai spektrum felderítése. Ezenkívül az elsődleges hatás megértése kulcsot jelenthet a másodlagos hatások kölcsönhatásrendszerének feltérképezéséhez.

Távlati célunk tehát az antidepresszánsok hatásának megértése a neuronális integrációra. Hogyan módosul a neuronok információfeldolgozó működése az antidepresszáns jelenlétében? Milyen mechanizmussal alakul ki a terápiás folyamatra jellemző fokozott plaszticitás? Az, hogy a monoamin receptorok aktiválódnak, fontos eleme, de nem teljes magyarázata a hatásnak: („jó, aktiválódnak, és akkor mi van?”) vizsgálni kell azt is, mik a monoamin receptor aktiváció másodlagos hatásai. Ehhez társulnak még az antidepresszáns közvetlen hatásai más targeteken; például az ioncsatornák gátlása. Az antidepresszánsok közvetlen hatását igen sokféle ioncsatornára kimutatták már: néhány mikromólos koncentrációban hat nikotinus acetilkolin receptorokra, 5HT-3 típusú szerotonin receptorra, NMDA típusú glutamát receptorra, nátriumcsatornákra, különböző típusú kálium- és kalciumcsatornákra (Choi et al., 2004; Deak et al., 2000; Eisensamer et al., 2003; Gumilar et al., 2003; Pacher et al., 2000; Sernagor et al., 1989; Witchel et al., 2002; Yang and Kuo, 2002).

Kutatási stratégiánk a következő: Az egyes ioncsatornák esetében meghatározzuk a gátlás hatásmechanizmusát, azaz olyan ioncsatornamodelleket hozunk létre, amelyek képesek a gyógyszer (jelen esetben antidepresszáns) hatását is szimulálni. Ezek az ioncsatornamodellek aztán beépíthetők neuronmodellekbe, amelyek segítségével a teljes sejt viselkedésének megváltozása jósolható (és természetesen kísérletesen ellenőrizendő).

EREDMÉNYEK:

Egy összefoglaló munkában tárgyaltuk az extraszinaptikus GABA és glutamát receptorok farmakológiai jelentőségét. Az extraszinaptikus receptorok a gyógyszerek számára könnyebben hozzáférhetőek, és feltételezhető hogy affinitásuk is nagyobb. Valószínű tehát, hogy az antidepresszánsok NMDA receptorokra gyakorolt hatásában is nagyobb jelentősége lesz az extraszinaptikus receptoroknak. A közlés alatt álló cikk az extraszinaptikus receptorok lehetséges funkcióit, a receptor altípusok megoszlását és biofizikai tulajdonságaik különbözőségét, illetve a farmakológiai különbségek jelentőségét foglalja össze elsősorban a hippocampusra koncentrálva.

Hippokampális neuronok natív ioncsatornáit vizsgáltuk, mégpedig a következő ioncsatornatípusokat: Nikotinus acetilkolin receptor, GABA_A receptor, AMPA és NMDA típusú glutamát receptorok, nátriumcsatorna, és különböző típusú káliumcsatornák. A nikotinus

receptorokra gyakorolt hatást kimutattuk, de részletes elemzését későbbre hagytuk. A GABA_A receptorokon és AMPA receptorokon viszonylag gyenge hatást tapasztaltunk (IC₅₀ > 10 μM), ezek a receptorok nem valószínű hogy in vivo lényeges szerepet játszanak az antidepresszánsok hatásában. A pályázat időtartama alatt elsősorban a nátriumcsatornára, a káliumcsatornákra és az NMDA receptorra koncentráltunk.

Nátriumcsatorna:

Ismert hogy számos központi idegrendszerre ható gyógyszer (antikonvulzánsok, antidepresszánsok, neuroprotektív szerek, antipszichotikumok, központi hatású analgetikumok és izomrelaxánsok) rendelkezik nátriumcsatorna gátló tulajdonsággal. Ezek a gyógyszerek állapotfüggő módon gátolják a nátriumcsatornákat, ami azt jelenti, hogy erősebben gátlást okoznak a fenti kórfolyamatokban érintett sejtek kórosan aktív csatornáin, mint a normális, fiziológias funkciót ellátó sejtekéin. Ezek az anyagok tehát gyakran nagyságrendekkel kisebb dózistartományban gátolják a kórfolyamatokat, mint a normális fiziológias működést. Ezáltal kedvező lesz a nátrium csatorna blokkoló gyógyszerek mellékhatás profilja, annak ellenére, hogy a nátrium csatornák az összes idegrendszeri funkció szempontjából nélkülözhetetlenek.

A nátriumcsatornák alapvetően négy konformációs állapotot vehetnek fel (Patlak, 1991). Hiperpolarizált membránban a „nyugalmi” állapot stabil energetikailag. Depolarizált állapotban a csatornák feszültség szenzorainak elmozdulása miatt más konformációk válnak stabilakká: energiaszint tekintetében „nyitott” > „gyors inaktívált” > „lassú inaktívált” sorrendben csökken az energiaszint, az egyes konformációk eléréséhez azonban ugyanebben a sorrendben egyre magasabb energiagátat kell leküzdeni (ami nem az egyensúlyi eloszlás arányait befolyásolja, hanem az egyensúly beálltának sebességét). Ezért tartós depolarizáció esetén az ioncsatorna-populáció nagyobb része a fenti sorrendben veszi fel az egyes konformációkat.

Az állapotfüggő gátlást a feltételezések szerint az okozza, hogy a gyógyszer nagyobb affinitást mutat a gyors inaktívált konformációban lévő ioncsatorna iránt, mint a nyugalmi iránt (Kuo and Bean, 1994). A gátlás állapotfüggő voltából következik membránpotenciál-függő ill. használatfüggő tulajdonsága is. Levezethető, hogy egy adott konformációhoz mutatott nagyobb affinitás, és az adott konformáció kinetikai stabilizálása (gyorsabban jut ebbe a konformációba a csatorna és lassabban hagyja el azt) kölcsönösen feltételezik egymást.

Vizsgálatainkat a dopamin visszavétel gátló GBR 12909 vegyülettel kezdtük. A részletes elemzést azért végeztük el, mert a hatásmechanizmus kutatása során váratlanul érdekes jelenségre bukkantunk. Az elfogadott hipotézist (gyors inaktívált állapot stabilizálása) sehogyan sem lehetett kísérleti eredményeinkkel összeegyeztetni: A disszociációs sebesség kizárta hogy ilyen mechanizmus működhesen. Megvizsgáltuk, hogy mi lehet a gátlás mechanizmusa, és kidolgoztuk az elméleti hátterét annak, hogyan okozhat egy, a lassú inaktívált állapotot stabilizáló drog a gyors inaktívált állapot stabilizálásához nagyon hasonló tulajdonságú gátlást. A gátlás azonban csak a biofizikai vizsgálatokban alkalmazott, mesterséges voltage-clamp protokollokban hasonlít ennyire. Kimutattuk azt is, hogy éppen a fiziológias membránpotenciál tartományban a két különböző gátlás mechanizmus nagymértékben különböző szelektivitásprofilot mutat. Szelektivitás alatt itt nem az egyes nátriumcsatorna altípusok közötti szelektivitást kell érteni, hanem azt, hogy a különböző időbeli membránpotenciál-mintázatot „érző” nátriumcsatornák különböző mértékben lesznek fogékonyak az egyes drogokra. A gyors inaktívált állapotot stabilizáló, gyors asszociációval és disszociációval rendelkező drogok, mint amilyen például az antikonvulzáns phenytoin, szelektíven gátolni fogja a nagy frekvenciával tüzelő sejteket. A lassú inaktívált állapotot stabilizáló drogok, mint például az antidepresszáns fluoxetine a hosszabb ideig enyhén depolarizált membránban található nátriumcsatornákat fogja szelektíven gátolni. Ismert, hogy a membránpotenciál a távolabbi dendritágakban egyre pozitívabb. Számíthatunk rá, hogy az antidepresszánsok hatása erősebb lesz ezekben a szubcelluláris régiókban. Kis leegyszerűsítéssel azt mondhatnánk, hogy amíg az antikonvulzánsok elsősorban a sejt kimenetét kontrollálják, az antidepresszánsok szelektíven módosítják a bemenetét.

A GBR 12909 vegyülettel végzett kísérleteket már publikáltuk (Mike et al., 2003; Mike et al., 2004). Az antidepresszánsok (fluoxetine és desipramine) esetében is igazoltuk az újonnan leírt mechanizmust, ezt azonban a publikálásra kiszemelt újság (J Neurosci) szerkesztője nem találta elég meggyőzőnek. Az egyik fő kritika metodikai jellegű volt: a whole-cell konfigurációban végzett mérések esetén a voltage clamp térben korlátozott voltát („space clamp” probléma), és a nagy áramok miatt fellépő, a pipetta hegy soros ellenállásából adódó pontatlanságot vetették szemünkre (a problémákkal mi is tisztában voltunk, de a pontatlanság nem befolyásolta az általunk levont konklúziókat). A méréseket tehát megismételtük outside-out patch konfigurációban, ahol sem space clamp problémák nem adódnak, sem a soros ellenállás torzító hatása nem okoz lényeges eltérést. A másik lényeges probléma az volt, hogy a lassú inaktívált állapotot stabilizáló, illetve a lassú asszociációval és disszociációval rendelkező, de a gyors inaktívált állapotot stabilizáló drog viselkedése között hogyan tudunk különbséget tenni; vagy másképpen fogalmazva, hogyan tudjuk megállapítani, hogy a hosszantartó depolarizáció alatt kialakuló gátlásért a lassú inaktívált konformáció fokozatos felvétele, vagy a fokozatos asszociáció felelős. Megpróbáltunk a kérdés eldöntésére speciális feszültség- és perfúziós protokollokat tervezni, és a kipróbált protokollok egyike valóban beváltotta reményeinket, és bizonyította hogy az antidepresszánsok nagyobb affinitással rendelkeznek a lassú- mint a gyors inaktívált állapothoz.

Az így feljavított kéziratot a „Molecular Pharmacology” újsághoz küldtük, ahol jelenleg bírálás alatt áll. (2006 január 31-én küldtük el).

Ugyancsak átlakítottuk az antikonvulzánsok és antidepresszánsok hatásmechanizmusának különbségeiről szóló, és a droghatások szimulációját is magába foglaló kéziratunkat. Sikerült kidolgozni egy olyan csatornamodellt, amely kevesebb paraméterrel, ugyanolyan jól reprodukálja a nátriumcsatorna működését. A modell lényege, hogy nem az egyes konformációs állapotokkal (nyugalmi, nyitott, gyors inaktívált és lassú inaktívált) dolgozik, és nem az ezek közötti átmenetek valószínűségét kell definiálni (ami meglehetősen problémás, mert összesen 12 átmenetről van szó, amelyek mindegyike feszültségfüggő, és közülük néhány kísérletesen nem is mérhető). Ehelyett a nátriumcsatorna három kapujának működését szimulálja, feltételezve, hogy azok egymástól függetlenül működnek. A nátriumcsatornának ugyanis (némi egyszerűsítéssel élve) három kapuja van: az aktivációs, gyors inaktívációs és lassú inaktívációs kapuk; a három strukturálisan is elkülönül, és más kinetikával, más feszültségfüggéssel mozognak. Ha az egyes kapuk feszültségfüggését definiáljuk, összesen 6 átmenetet kell csak meghatározni. Ezt a modellt használtuk a protokollok kipróbálására, a hipotézisek tesztelésére, és az egyes – kísérletesen nem mérhető – paraméterek becslésére. A kézirat tárgyalja az antidepresszánsok és antikonvulzánsok lehetséges hatásmechanizmusait, és szimuláció segítségével is megerősíti a fenti dolgozat konklúzióját. A publikációt a közeljövőben tervezzük.

Kálium csatornák:

Említettem, hogy távlati célunk annak megértése, hogy a neuronok integratív funkciója hogyan módosul a vizsgált drogok (jelen esetben antidepresszánsok) jelenlétében. Ehhez elengedhetetlen a káliumcsatornákra gyakorolt hatás ismerete, márcsak azért is, mert a nyugalmi membránpotenciált ezek határozzák meg. Különösen érdekes kérdés az A-típusú áramra gyakorolt hatás, ezt az a csatorna közvetíti, amelynek denzitása a dendriteken a szómától való távolsággal folyamatosan nő. Az irodalomban van adat mind a késleltetett („delayed rectifier”), mind a gyors („transient”, „A-type”) káliumáram antidepresszáns általi gátlására. Ellentmondásos azonban az irodalom a gátlás mechanizmusát illetően: Egyik hipotézis szerint például a fluoxetine a membrán belső oldaláról hatva csatorna-blokk mechanizmussal gátolja a „transient” csatornákat (ezt támasztja alá a gátlás feszültségfüggése: a gátlás a depolarizációval elmélyül) (Choi et al., 2004), míg egy másik munkacsoport külső oldalról történő asszociációt feltételez az imipramine esetében (Kuo, 1998). Másik probléma, hogy hippokampális neuronok esetében kimutatták két, kinetikailag különböző „transient” káliumáram létét („fast transient” és „slow transient”) (Ficker and Heinemann, 1992). Az antidepresszánsok hatását tanulmányozó munkák a két típust nem különítették el.

Eredményeink szerint meglepő módon a klasszikus A-típusú (fast transient) áramot nem módosította a fluoxetine, míg a lassabb (slow transient) áramot koncentrációfüggő módon gátolta. A csúcs amplitúdó is gátlódott, még kifejezettebb hatást gyakorolt azonban a fluoxetine az áram lecsengésének időállandójára (decay time constant). A gátlás feszültségfüggését egyszerű csatorna-blokkot és a kötőhely extracelluláris hozzáférhetőségét feltételezve szimulációval kiválóan reprodukálni lehetett. A gátlás feszültségfüggése az elnyújtott aktivációs görbéből adódott, nem kellett intracelluláris hozzáférhetőséget feltételezni. Intracellulárisan adott nagy koncentrációjú fluoxetin semmilyen hatást nem váltott ki a káliumcsatornákon. Az eredményeket kongresszuson már bemutattuk, és várhatóan idén publikáljuk.

NMDA receptor:

Az NMDA receptorok szerepe a plaszticitásban közismert, és feltételezi, hogy a depresszióban is fontos szerepet játszhatnak (Petrie et al., 2000). Ismert volt hogy a desipramine (triciklikus antidepresszáns) képes az NMDA receptorokat gátolni, feszültségfüggő módon, csatorna-blokk mechanizmussal (Sernagor et al., 1989). A vizsgálatot kiterjesztettük a szelektív szerotonin visszavétel gátló (SSRI) fluoxetintre. A munka első lényeges eredménye, hogy a (szelektívebbnek tartott) SSRI vegyület körülbelül ugyanolyan hatékonyan gátolta az NMDA receptor aktivációját. A második, meglepő eredmény, hogy a két antidepresszáns gátlásának mechanizmusa gyökeresen eltér egymástól: A fluoxetine esetében nem beszélhetünk csatorna-blokkról. Ezt a következő adatok támasztják alá:

1. A desipramine által okozott gátlás határozottan feszültségfüggő volt, míg a fluoxetine által okozott gátlás nem. A feszültségfüggés a Woodhull egyenlettel számszerűsíthető: a feszültségfüggés mértékéből számolható δ érték a kötőhely elektromos mezőn belüli lokalizációját becsüli (vagyis, hogy a póruson belül milyen mélyen található a kötőhely; 0 érték jelzi a külső-, 1 érték a belső membránfelszínt). A kapott értékek: a klasszikus nyitott csatorna blokkoló Mg^{2+} esetén: 0.71, desipramine-nél: 0.44, fluoxetine-nél: 0.01.
2. A gátlószer disszociációjának időállandója is erős feszültségfüggést mutatott a desipramin esetében, míg a fluoxetin esetében nem volt feszültségfüggő.
3. Magnézium jelenlétében a desipramine nem volt képes módosítani a disszociációs kinetikát (vagyis valószínűleg nem volt képes bejutni a kötőhelyére). A fluoxetine esetében a magnézium jelenlétében alkalmazott fluoxetine szignifikánsan lelassította a disszociációs kinetikát, ami arra utal, hogy a receptorok egy részében a fluoxetine magnézium jelenlétében is képes volt kötőhelyére jutni.

A hatásmechanizmusban megfigyelt különbség több pusztán elméleti érdekességnél. Az NMDA receptoroknak kiemelt szerepe van az agyi plaszticitásban (mint például a tanulás, a memória folyamatok, vagy az agy ontogenezise) Plaszticitási folyamatként fogható fel több központi idegrendszeri betegség, mint például a depresszió kialakulása is, és az antidepresszáns hatására történt javulás is. Az NMDA receptorok fiziológiás állapotban feszültségfüggőek, mivel a magnéziumionok *in vivo* megtalálhatók az extracelluláris folyadékban, így a receptorokat negatív membránpotenciál értékeknél gátolt állapotban tartják. A fluoxetine, a desipraminnal szemben képes magnézium ionok jelenlétében is a receptorhoz kötni, és gátló hatása megmarad depolarizált állapotban is. A depolarizált állapot különleges jelentőségű az NMDA receptor esetében: Hiába roppant nagy a receptor Ca^{2+} permeabilitása, egyszerű aktiváció során a Mg^{2+} blokk miatt nem képes vezetni. Ha azonban az aktivációval egyidejűleg a membrán depolarizálódik, az NMDA receptoron keresztül nagy mennyiségű Ca^{2+} ion képes beáramlani a sejtbe, ami aztán maradandó változásokat indukál. Ezen alapszik az NMDA receptor koincidencia-detektor tulajdonsága (amit a társításos tanulás alapjának gondolnak).

Az eredmények publikálása idén, vagy – rosszabb esetben – jövő év elején fog megtörténni.

REFERENCIÁK

- Castren E (2005) Is mood chemistry? Nat Rev Neurosci 6:241-246.
- Choi JS, Choi BH, Ahn HS, Kim MJ, Han TH, Rhie DJ, Yoon SH, Jo YH, Kim MS, Hahn SJ (2004) Fluoxetine inhibits A-type potassium currents in primary cultured rat hippocampal neurons. Brain Res 1018:201-207.
- Deak F, Lasztozsi B, Pacher P, Petheo GL, Valeria K, Spat A (2000) Inhibition of voltage-gated calcium channels by fluoxetine in rat hippocampal pyramidal cells. Neuropharmacology 39:1029-1036.
- Duman RS (2002a) Pathophysiology of depression: the concept of synaptic plasticity. Eur Psychiatry 17 Suppl 3:306-310.
- Duman RS (2002b) Synaptic plasticity and mood disorders. Mol Psychiatry 7 Suppl 1:S29-34.
- Eisensamer B, Rammes G, Gimpl G, Shapa M, Ferrari U, Hapfelmeier G, Bondy B, Parsons C, Gilling K, Zieglansberger W, Holsboer F, Rupprecht R (2003) Antidepressants are functional antagonists at the serotonin type 3 (5-HT3) receptor. Mol Psychiatry 8:994-1007.
- Ficker E, Heinemann U (1992) Slow and fast transient potassium currents in cultured rat hippocampal cells. J Physiol 445:431-455.
- Gumilar F, Arias HR, Spitzmaul G, Bouzat C (2003) Molecular mechanisms of inhibition of nicotinic acetylcholine receptors by tricyclic antidepressants. Neuropharmacology 45:964-976.
- Kuo CC (1998) Imipramine inhibition of transient K^+ current: an external open channel blocker preventing fast inactivation. Biophys J 75:2845-2857.

- Kuo CC, Bean BP (1994) Slow binding of phenytoin to inactivated sodium channels in rat hippocampal neurons. *Mol Pharmacol* 46:716-725.
- Mike A, Karoly R, Vizi ES, Kiss JP (2003) Inhibitory effect of the DA uptake blocker GBR 12909 on sodium channels of hippocampal neurons. *Neuroreport* 14:1945-1949.
- Mike A, Karoly R, Vizi ES, Kiss JP (2004) A novel modulatory mechanism of sodium currents: frequency-dependence without state-dependent binding. *Neuroscience* 125:1019-1028.
- Pacher P, Magyar J, Szigligeti P, Banyasz T, Pankucsi C, Korom Z, Ungvari Z, Kecskemeti V, Nanasi PP (2000) Electrophysiological effects of fluoxetine in mammalian cardiac tissues. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 361:67-73.
- Patlak J (1991) Molecular kinetics of voltage-dependent Na⁺ channels. *Physiol Rev* 71:1047-1080.
- Petrie RX, Reid IC, Stewart CA (2000) The N-methyl-D-aspartate receptor, synaptic plasticity, and depressive disorder. A critical review. *Pharmacol Ther* 87:11-25.
- Reid IC, Stewart CA (2004) Brain plasticity and antidepressant treatments: new cells, new connections. *Neurotox Res* 6:483-489.
- Sernagor E, Kuhn D, Vyklicky L, Jr., Mayer ML (1989) Open channel block of NMDA receptor responses evoked by tricyclic antidepressants. *Neuron* 2:1221-1227.
- Witchel HJ, Pabbathi VK, Hofmann G, Paul AA, Hancox JC (2002) Inhibitory actions of the selective serotonin re-uptake inhibitor citalopram on HERG and ventricular L-type calcium currents. *FEBS Lett* 512:59-66.
- Yang YC, Kuo CC (2002) Inhibition of Na⁽⁺⁾ current by imipramine and related compounds: different binding kinetics as an inactivation stabilizer and as an open channel blocker. *Mol Pharmacol* 62:1228-1237.