

Streszczenie

Optymalizacja dawkowania anestetyku umożliwiająca redukcję skutków ubocznych wywołanych w trakcie procesu znieczulenia ogólnego to jedno z wyzwań współczesnej anestezjologii [237,238]. Niezbędne do zaprojektowania adekwatnej metody znieczulenia jest zrozumienie mechanizmu działania anestetyków na poziomie molekularnym [239-241]. Istnieje zgodność poglądów co do upośledzającego przewodnictwo impulsów nerwowych sposobu oddziaływania środków znieczulających na kanały jonowe. Otwarta zaś pozostaje kwestia, czy molekuły anestetyków wiążą się bezpośrednio do białka transbłonowego, czy też wpływają pośrednio na jego aktywność poprzez zaburzenie struktury i dynamiki błony lipidowej. Badania potwierdziły [96,97,106,115,130-139], że zdolność do rozpuszczania w tłuszczach związana jest ze stopniem działania znieczulającego, co pozwala przypuszczać, iż anestetyki mogą oddziaływać z lipidami budującymi błony biologiczne i poprzez modyfikacje ich struktury wpływać pośrednio na przewodzenie impulsów nerwowych przez kanały jonowe.

Celem podjętych studiów było zbadanie wpływu czterech wybranych anestetyków wziewnych (halotanu, enfluranu, izofluranu i sewofluranu) na strukturę błon lipidowych zbudowanych z cząsteczek dipalmitoilofosfatydylocholiny (DPPC) lub dipalmitoilofosfatydyloglicerolu (DPPG), bądź domieszkowanych cholesterolem (Chol) liposomów DPPC lub DPPG, które stanowią powszechnie stosowany w badaniach model biomembran. Porównanie fosfolipidów charakteryzujących się odmiennymi właściwościami fizykochemicznymi miało na celu na uzyskanie wielostronnego i przez to bardziej obiektywnego obrazu zjawisk obserwowanych w modelowych błonach lipidowych oraz odniesienie ich do tych mających miejsce w różnych obszarach naturalnych dwuwarstw.

Realizacja postawionego w niniejszym eksperymencie zadania była możliwa dzięki wykorzystaniu techniki spektroskopii oscylacyjnej w zakresie średniej podczerwieni (MIR) i bliskiej podczerwieni (NIR), w funkcji wzrastającej temperatury, wspomaganej, w celu wyodrębnienie specyficznej wariacji wywołanej badanym efektem, analizą chemometryczną PCA. Spektroskopia FT-IR w zakresie NIR zastosowana została po raz pierwszy do monitorowania modyfikacji zachodzących w hydrofobowym rejonie modelowych dwuwarstw lipidowych. Wykazano, iż z powodzeniem może ona stanowić alternatywę do używanej powszechnie w badaniu tego rodzaju układów techniki FT-IR w zakresie MIR. Dodatkowo, w układach błon DPPC domieszkowanych anestetykami zastosowana została metoda spektroskopii EPR, pozwalająca na śledzenie dynamiki badanych systemów.

Spektroskopia FT-IR w zakresie NIR umożliwiła przeprowadzenie wnikliwej analizy zmian zachodzących pod wpływem środków znieczulenia ogólnego w hydrofobowym rejonie błony lipidowej polegających na

monitorowaniu ewolucji przejść fazowych dwuwarstw lipidowych, u podłoża których leżą zmiany konformacyjne w obrębie łańcuchów węglowodorowych. Udowodniono, iż wszystkie poddane analizie środki znieczulenia ogólnego wywierają znaczący wpływ na analizowane modelowe błony lipidowe. Co więcej, dzięki przeprowadzonym badaniom dokonano stopniowania wpływu, który wywołują komponenty halogenowęglowodorowe na stan konformacyjny hydrofobowego obszaru układów liposomowych. Najsilniejszym modyfikatorem stanu konformacyjnego błon lipidowych i wartości temperatury głównego przejścia fazowego okazał się halotan, najłagodniejszym sevofluran, zaś enfluran i izofluran wywołują pośredni efekt modulujący. Wykazano także, iż istotne znaczenie dla siły interakcji między cząsteczkami anestetyków a lipidami tworzącymi modelową błonę ma rodzaj komponentów lipidowych stanowiących budulec dwuwarstwy, który warunkował jej wypadkowy ładunek.

Wykorzystanie techniki EPR pozwoliło z kolei na poszerzenie i uzupełnienie zakresu uzyskanych metodą spektroskopii w zakresie NIR informacji o procesach zachodzących w różnych rejonach modelowych błon DPPC a generowanych obecnością wżewnych środków znieczulających. Wykazano między innymi, iż molekuly anestetyków modyfikują silniej hydrofilowy rejon dwuwarstwy lipidowej, pośrednio wpływając na apolarny obszar modelowej błony DPPC. Dodatkowo, otrzymane z widm EPR dotyczące wpływu poszczególnych anestetyków na systemy liposomowe DPPC potwierdzają wyciągnięte dzięki badaniom metodą NIR wnioski, iż halotan jest najsilniejszym, sevofluran najłagodniejszym zaś enfluran i izofluran o pośredniej sile modyfikatorem struktury modelowych błon DPPC.