

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

ODJEL ZA KEMIJU

PREDDIPLOMSKI STUDIJ KEMIJE

Djelovanje anestetika na transmembranske ionske kanale

Effects of anesthetics on transmembrane ion channels

ZAVRŠNI RAD

Kolegij: Biokemija

Mentor: prof. Elizabeta Hass-Schön

Neposredni voditelj: dr.sc. Martina Šrajer Gajdošik

Studentica: Ivana Rubić

Osijek, 2015.

SADRŽAJ

SAŽETAK.....	III
ABSTRACT	IV
1. UVOD	1
2. LITERATURNI PREGLED	2
2.1. Anestezija	2
2.1.1. Povijest.....	2
2.1.2. Prednosti i nedostaci	3
2.2. Vrste anestezije.....	4
2.2.1 Opća anestezija	4
2.2.2. Lokalna anestezija.....	4
2.3. Ionski kanali	5
2.3.1. Stanične membrane	5
2.3.2. Građa ionskih kanala.....	6
2.3.3. Vrste ionskih kanala.....	7
2.3.3.1. Kalijevi ionski kanali	7
2.3.3.2. Natrijevi ionski kanali	8
2.3.3.3. GABA _A receptori	9
3. IONSKI KANALI KAO MOLEKULARNE METE ANESTETIKA	11
3.1. Relevantne koncentracije anestezije	11
3.2. Mehanizam opće anestezije	11
3.3. Mehanizam lokalne anestezije	14
4. ZAKLJUČAK	16
5. LITERATURA	17

SAŽETAK

Djelovanje anestetika na transmembranske ionske kanale

Ivana Rubić

Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku, Odjel za kemiju

Cara Hadrijana 8/A, 31000 Osijek

Cilj ovog rada je upoznati se sa temeljima anestezije, te mehanizmima djelovanja lokalne i opće anestezije na ionske kanale. U literaturnom pregledu opisana je povijest anestezije, razlike između lokalne i opće anestezije, te su ukratko objašnjeni osnovni pojmovi iz biokemije stanice, kao što su građa stanice, membrane te su opisane 3 vrste ionskih kanala, koji su glavna meta anestezijskog djelovanja.

Opisano je molekularno djelovanje anestetika na ionske kanale, te na koje dijelove proteina djeluje anestezija. Pokazano je kako i lokalna i opća anestezija imaju različite mehanizme djelovanja, te također kako i anestetici iste vrste mogu imati različit mehanizam. U ovome radu se može vidjeti kako mehanizam djelovanja anestetika još nije u potpunosti razrađen, te da se mora još istraživati građa ionskih kanala i ostalih meta anestetika, kako bi se u potpunosti razjasnio način djelovanja anestezije.

ABSTRACT

Effects of anesthetics on transmembrane ion channels

Ivana Rubić

J. J. Strossmayer University of Osijek, Department of Chemistry

Cara Hadrijana 8/A, 31000 Osijek

The goal of this thesis is to learn more about the foundations of anesthesia, and the mechanisms of action of local and general anesthesia on ion channels. History of anesthesia, the differences between local and general anesthesia were described, also key terms in cell biochemistry, like the cell structure, cell membranes, and 3 different kinds of ion channels, which are the main targets of anesthetic action, were introduced.

Molecular action of anesthetics on ion channels was also described, as well as the protein parts susceptible to the action of anesthesia. Difference between the actions of local and general anesthesia were also discussed. Furthermore, it was shown how anesthetics of same class can have different mechanisms of action. This thesis also states that mechanisms of anesthetics are yet not fully understood and that the further research on structure of ion channels and other targets of anesthetics has to be carried out in order to fully elucidate mechanisms of actions of anesthetics.

1. UVOD

Izvođenje operacijskih zahvata u području medicine i stomatologije bilo bi gotovo nemoguće bez anestezije. Anestezija je umjetno izazvana neosjetljivost cijelog tijela ili dijela tijela s ciljem suzbijanja boli koju bi pacijenti mogli osjetiti i u skladu s njom reagirati. Anesteziolozi su liječnici specijalisti školovani i obučavani za ovo područje medicine i stomatologije.

Postoje dvije vrste anestezije, a to su opća i lokalna anestezija. Općom anestezijom pacijent zapada u san i postaje potpuno nesvjestan operacije. Lokalnom anestezijom pacijent je budan ali ne osjeća bol. Može doći do stanja pospanosti, čiji su uzrok sedativi koji smiruju živčani sustav a kombiniraju se zajedno sa anestheticima.²

Glavni odgovorni činitelji na ovakvo stanje tijela su anestetici koji djeluju na mozak, a mogu se unijeti u organizam intravenozni (lokalna anestezija) ili pomoću endotrahealne cijevi za disanje (opća anestezija). Način na koji anestetici mogu spriječiti osjećaje boli je put kojim dolaze do mozga koji postaje imun na bilo kakve podražaje. To mogu pomoću ionskih kanala.

Ionski kanali su specifične bjelančevine koje se protežu kroz membranu i u njoj oblikuju hidrofilne proteinske pore koje povezuju citoplazmu sa izvanstaničnom tekućinom.² Olakšavaju nesmetani prolazak svakoj molekuli odgovarajuće veličine koja bi mogla proći kroz pore. Pore nisu stalno otvorene, već reagiraju na vanjske stanične signale te se u skladu s njima selektivno otvaraju i zatvaraju, kontrolirajući prijenos tvari kroz membranu.³

U ovom radu nešto će se više reći i o vrstama ionskih kanala (kalijevi i natrijevi, GABA_A receptori), njihovoj građi te ulozi. GABA_A receptori su kloridni kanali koji potiču inhibiciju neurotransmisija u mozgu. Kod mehanizma djelovanja opće anestezije, sedam anestetika i tri sedativa koji će biti spomenuti u radu, dijele zajedničku metu i mehanizam djelovanja, tako što pojačavaju funkciju GABA_A receptora. Mehanizam djelovanja opće anestezije pobliže nam objašnjava inhibiciju kanala, na način da se lokalni anestetici izravno vežu na kanal i prevode ga u neprovodeće otvoreno-vezano stanje (kalijevi kanali).

2. LITERATURNI PREGLED

2.1. Anestezija

Da bi se medicinski zahvat izveo na što uspješniji način, potrebno je da pacijent bude u stanju smirenosti i mirovanja. To se postiže pomoću anestezije. Anestezija je umjetno izazvana neosjetljivost cijelog tijela ili dijela tijela s ciljem suzbijanja boli. Kao što se može primijeniti na čovjeka, jednako tako može i na životinje. Anestezija ima raširenu primjenu djelovanja. Upotrebljava se u medicini, stomatologiji, veterini. Glavni cilj suvremene anestezije je smanjenje stresa i boli, te da se omogući lakši rad kirurzima, stomatolozima, veterinarima. U tu svrhu, koriste se različita anestetička sredstva koja vrše inhibiciju živčanog tkiva lokalno ili središnjeg živčanog sustava u potpunosti. Analgezija (odsutnost boli) ili narkoza (stanje dubokog sna) su jedni od brojnih termina koji označavaju spomenutu inhibiciju.⁴ S obzirom na primjenu, anestetička sredstva dijelimo na inhalacijska i injekcijska. Inhalacijska je najsigurniji oblik anestezije i ima prednost pred injekcijskom jer udisanjem unesen plinoviti anestetik je kontinuirano i kontrolirano doziran u svakom trenutku prema potrebama određenog zahvata. Injekcijsku anesteziju nije moguće kontrolirati na takav način niti je moguće predvidjeti njezino djelovanje na organizam. Što se tiče samog oporavka, brži je oporavak od inhalacijske jer nakon prestanka udisanja plina, nema više učinaka, dok kod injekcijske traje sve dok se anestetik ne izluči iz organizma. Postoji i rektalno uvođenje anestetika u debelo crijevo, ali uglavnom se upotrebljava kod male djece.

2.1.1. Povijest

Oliver Wendell Holmes prvi je osmislio anesteziju 1846. godine. Sama riječ doslovce je označavala nedostatak osjećaja. Koristio ju je za opisivanje pacijenta kojeg su nakon inhaliranja parom etera, podvrgnuli operaciji bez ikakve vidljive patnje. Tehnika i naziv anestezija su se ubrzo rasprostranili, opisujući stanje gdje se jedna ili više kemikalija sistematski davala kako bi se anestezirali pacijenti, što je omogućilo izvođenje operacija nad ljudima.⁵

Do četrdesetih godina 19. st. nije postojala anestezija. Liječnici, zubari i pacijenti pokušavali su na sve moguće načine ublažiti bol za vrijeme trajanja operacije. Koristili su marihuanu, hašiš, osobito u Kini i Indiji, te alkohol i opijum u različitim dijelovima svijeta.⁵ Godine 1274.

eksperimentirajući s nekim kemijskim supstancama, španjolski liječnik Ramon Llull proizveo je hlapivu, lakozapaljivu tekućinu, slatki vitriol. Paracelsus je kokoši podvrgnuo slatkom vitriolu od kojeg su odmah zaspale i nisu osjećale nikakvu bol. Godine 1730. njemački kemičar Frobenius nazvao je tu tekućinu eter. Liječnik Crawford W. Long primijetio je da njegovi prijatelji ne osjećaju nikakvu bol kad bi se ozlijedili teturajući unaokolo -pod utjecajem etera. Počeo je razmišljati o primjeni tog plina u kirurgiji te je 1842. godine izveo bezbolnu operaciju pod utjecajem etera. Uz eter, koristio se i plin dušikov oksidul kojeg je 1772. otkrio engleski znanstvenik Joseph Priestley. Osim u medicini, upotreba ovih opojnih sredstava proširila se i u stomatologiji. Prve bezbolne operacije vađenja zubi izvela su dva američka stomatologa Horace Wells i William Morton. Otkrića anestezije dovela su do toga da su se počeli izvoditi eksperimenti sa plinovima koji bi se mogli upotrijebiti kao anestetici. Tako je kloroform uspješno primijenjen 1847. godine, a davao se ženama koje su rađale pa tako i kraljici Viktoriji.⁶ Anestezija se od otkrića pa i danas intenzivno upotrebljava.

2.1.2. Prednosti i nedostatci

Kao što je već dosada navedeno, anestezija uvelike pridonosi olakšanju izvođenja operacija. Pacijenti više ne moraju trpjeti bolove, strahove, stres, a lakše je i samim anesteziolozima. Zahvaljujući njoj, nesmetano se izvode i složenije operacije. Kod različitih zahvata, točno se znaju njezine prednosti. Tako recimo, kod poroda može u potpunosti blokirati bolove u trudu, olakšati otvaranje ušća maternice i ubrzati porod te tako ukloniti i potrebu za carskim rezom. Velika je prednost i što se doze mogu ponavljati i tako utjecati na različite intenzitete boli.⁷ Anestezija ne djeluje samo za vrijeme operacije, već i neko vrijeme nakon završetka. Važna je i mogućnost vraćanja organizma u normalno stanje. Anestezija se jednostavno i lako primjenjuje te može brzo uspavati pacijenta. Međutim, anestezija ima i neke nedostatke. Preuranjeno davanje anestetika može biti nedovoljno za izvođenje cijele operacije. Kod poroda, to može dovesti do carskog reda jer je u kasnijoj fazi poroda usporilo spuštanje i izgon djeteta.⁸ Također, postoji i obratna situacija. Davanjem pune doze anestetika, može dovesti do mišićne slabosti, pa majka na samom kraju ne može istisnuti dijete. Neki od simptoma koji se mogu javiti korištenjem lokalne anestezije su prolazno peckanje, bol duž vene u koju je ubrizgan anestetik, alergijske reakcije na anestetik,

zbunjenost, mučnina. Ako se upotrebljava opća anestezija, može doći do nadražaja dišnih putova i javlja se bol u grlu.

2.2. Vrste anestezije

2.2.1 Opća anestezija

Vrsta anestezije kojom pacijent zapada u san i postaje potpuno nesvjestan operacije. Ne osjeća ni bol, ali ni druge vanjske podražaje. Započinje nakon postavljanja intravenozne infuzije i ubrizgavanjem brzo djelujućeg sredstva za uspavlivanje, a nastavlja se daljnjim davanjem anestetika. Pri tome je u potpunosti postignuto stanje bez svijesti i prekinut je osjet bola u čitavom tijelu. Prema unosu anestetika, opća anestezija dijeli se na intravenoznu, inhalacijsku i rektalnu. Pri kratkotrajnim i jednostavnim zahvatima (namještanje kostiju prije gipsanja), ubrizga se opojno sredstvo u venu i tako se postigne dovoljno duga anestezija. Takav način unošenja anestetika naziva se intravenozni. Najčešće se upotrebljava za uspavlivanje pacijenata prije korištenja inhalacijske, da bi se spriječile moguće neugodnosti udisanja anestetičkih plinova.⁸ Brzo uspavljuje i jednostavno se primjenjuje. Inhalacijski način unošenja anestetika je najčešće primjenjivani oblik anestezije. Koristi mješavinu anestetičkih plinova kao što su kisik, dušikov oksidul, izofluran.⁸ Unose se preko anesteziološke maske koja se stavlja preko nosa i usta, laringealne maske koja se stavlja pred ulaz u dušnik, ili tubusa koji se uvodi u sam dušnik. Zahvaljujući njoj, brzo se postiže željena dubina anestezije, lagano održavanje i kontrola te brzo buđenje iz anestezije. Rektalnom se unose anestetici u debelo crijevo. Koristi se rijetko, ali najčešće kod male djece.

2.2.2. Lokalna anestezija

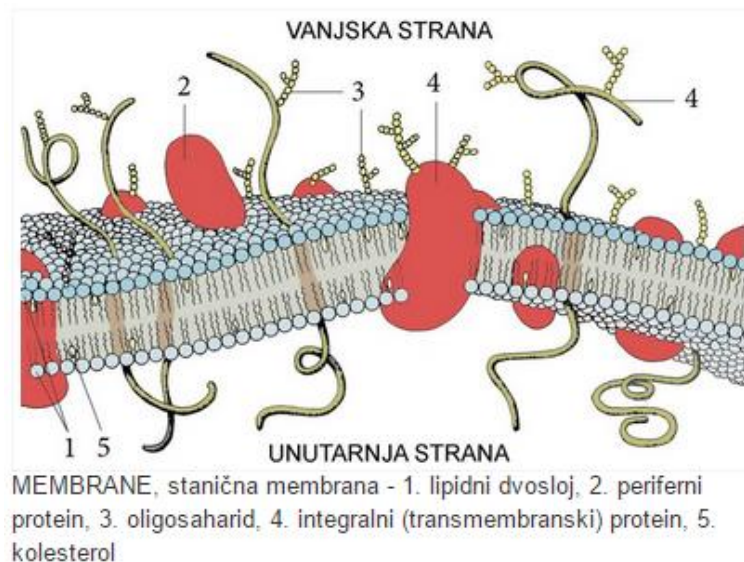
Ovom vrstom anestezije pacijent je budan, za razliku od opće pri kojoj je u stanju sna. Lokalnom anestezijom se isto postiže stanje bezbolnosti tako što anestetik djeluje na živčane snopove i sprječava prijenos boli. Osjet dodira i pritiska ostaje djelomično očuvan ali pacijent svejedno ne osjeća bol.⁹ Obično ju primjenjuje kirurg. Označava primjenu anestetika na točno određeno mjesto gdje će se izvoditi operacija. To je kod uklanjanja madeža, tetovaža, korekcije ušiju i kod korekcije očnih kapaka. Anestetik se ubrizgava injekcijom u područje koje se treba operirati, s tim da je pacijent potpuno budan i svjestan zahvata. Učinak traje između jednog i dva sata kada se pacijent vraća u početno stanje.¹⁰ Lokalna anestezija može

biti površinska, infiltracijska, provodna, spinalna i periduralna.¹¹ Kod površinske anestetici se primjenjuju u obliku spreja ili gela na sluznice pojedinih organa (oči, dišni putovi, mokraćni mjehur). Infiltracijskom anestezijom infiltrira se nekoliko slojeva tkiva, a anestetik se uštrcava pod kožu ili u tkivo u okolini mjesta na kojem će se izvršiti operacijski zahvat. Provodnom se anestetik injektira u područje živca koji inervira regiju tijela gdje će se izvesti operacijski zahvat. Ovakva vrsta anestezije uglavnom se koristi u stomatologiji. Spinalnom anestezijom primjenjuju se anestetici u spinalni prostor kod operacija u ginekologiji i traumatologiji. Periduralna je vrsta spinalne i upotrebljava se kod operacija koje će dugo trajati.

2.3. Ionski kanali

2.3.1. Stanične membrane

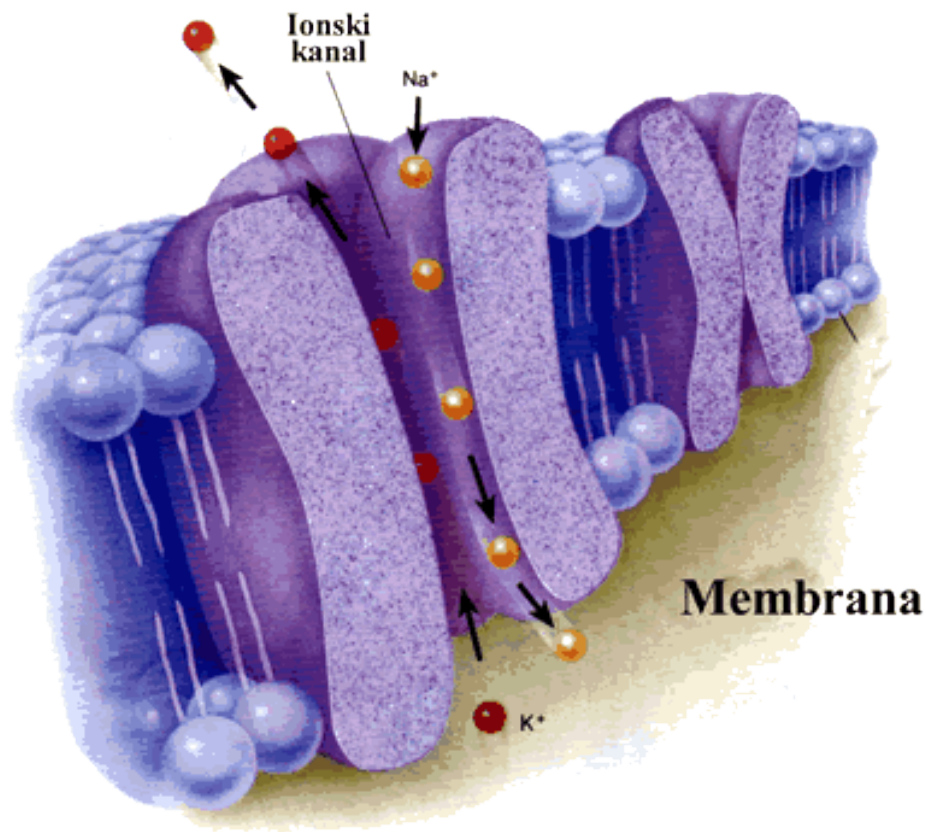
Svaka životinjska stanica obavijena je staničnom membranom. Sve stanice također sadrže mnoge intracelularne membrane (endoplazmatski retikulum, unutarnju i vanjsku membranu mitohondrija, dvije blisko povezane membrane oko jezgre). Ove membrane su nevjerojatno tanke, od 6 do 8 nanometara od jedne strane do druge, no svejedno imaju veoma bitnu ulogu.¹ One fizički odjeljuju sustave, što omogućuje da unutrašnjost ima drukčija svojstva od vanjskog dijela (izvan membrane). Membrane su također dinamični sustavi koji sudjeluju u staničnim i substaničnim funkcijama. Matriks stanične membrane se sastoji od dvosloja fosfolipidnih molekula. Ovi fosfolipidi su kemijski vrlo raznoliki, čak i unutar iste membrane, te se njihov sastav može promijeniti kao odgovor na okolišne ili druge faktore. Drugi bitni konstituenti staničnih membrana su proteini. Postoji 5 funkcionalnih skupina proteina koji se nalaze u membranama, a to su: kanali, transporteri, enzimi, receptori i strukturalni proteini. Pojedini proteini mogu imati više funkcija u membrani. U ovome radu nešto će se više reći o kanalima, jer su bitni za djelovanje anestezije. Uz fosfolipide i proteine, koji su glavne komponente, membrane često sadrže i druge komponente, poput kolesterola (lipid) te glikoproteina (kovalentno vezani ugljikohidrat i podjedinica proteina).¹



Slika 1. Stanična membrana prikazana sa raznim funkcionalnim dijelovima.¹²

2.3.2. Građa ionskih kanala

Transmisija električnih signala unutar živčanog sustava zahtjeva struju, ili protok iona kroz membrane. Budući da su membrane sa čistim lipidnim dvoslojem odlični izolatori koji ne dopuštaju ikakav protok struje ili iona, potrebna je pomoć određenih proteina, tzv. transmembranskih ionskih kanala.¹³ Ovi se ionski kanali protežu kroz čitavu membranu i sadrže vodene kanale kroz koje ioni mogu prolaziti s jedne strane membrane na drugu. Molekularne strukture ionskih kanala su kompleksne, kao i ostalih skupina funkcionalnih proteina. Uvelike se razlikuju u svojim primarnim, sekundarnim, tercijskim i kvaternim strukturama. Također se ionski kanali mogu nalaziti u više domena, kao dio jednog proteina, ali ponekad su glavne podjedinice ionskog kanala, odvojene proteinske molekule. Proteinske jedinice koje formiraju centralne dijelove kanala mogu imati neke druge integralne ili periferalne proteine povezane sa njima.¹



Slika 2. Pojednostavljeni prikaz ionskog kanala, te prolaz iona kroz njega.¹⁴

2.3.3. Vrste ionskih kanala

Postoji više od 300 vrsta ionskih kanala u živoj stanici. Ionski kanali se mogu klasificirati prema prirodi onoga što ga zatvara ili otvara, vrsti iona koja prolazi kroz njih, te po broju tzv. „vrata“ i lokalizaciji proteina. Također se mogu razlikovati, po gradijentu napona, tj. ovisno o tome koliki je gradijent napona, ionski kanal će se otvoriti ili zatvoriti.¹⁵ U ovom radu objasniti ćemo neke ionske kanale prema vrstama koje kroz njih prolaze.

2.3.3.1. Kalijevi ionski kanali

Kalijevi kanali su najrasprostranjeniji ionski kanali, i nalaze se u gotovo svim živim organizmima. Oni kontroliraju široku lepezu staničnih funkcija. Kalijevi kanali imaju funkciju vođenja kalijevih iona niz njihov elektrokemijski gradijent, što obavljaju veoma brzo, te

selektivno. Jedna od funkcija kalijevih kanala je regulacija staničnih procesa poput izlučivanja hormona (inzulin), te nepravilno djelovanje kalijevih kanala može dovesti do bolesti poput dijabetesa.¹⁶

Kalijevi kanali imaju strukturu u kojoj su 4 identične podjedinice udružene te formiraju četverostruki simetrični kompleks koji se nalazi oko centralne provodne pore. Također se mogu četiri povezane, ali ne i identične proteinske podjedinice udružiti te formirati kompleks sa pseudo C₄ simetrijom.¹⁶ Na slici 3. može se vidjeti jedan tip kalijevog kanala.



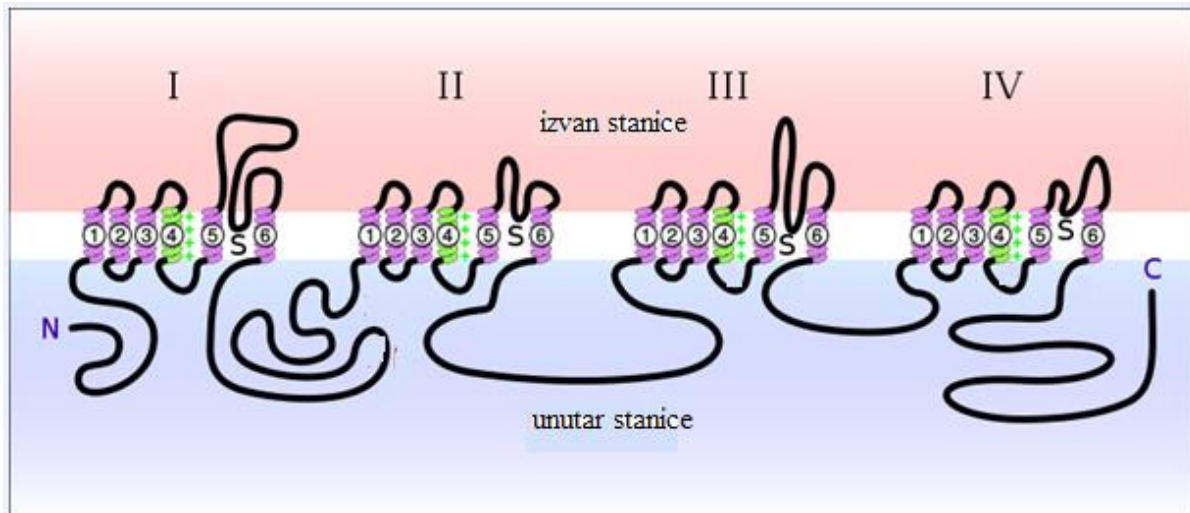
Slika 3. Tip kalijevog kanala. Na slici se mogu vidjeti sekundarna, tercijska i kvaterna struktura proteina.¹⁷

2.3.3.2. Natrijevi ionski kanali

Natrijevi kanali su također membranski proteini koji formiraju ionske kanale, te im je zadaća provođenje natrijevih iona kroz staničnu membranu. Postoji više klasifikacija natrijevih kanala, poput naponski-ovisnih, naponski-osjetljivih, itd.¹⁶ Prilikom ulaska natrijevih iona u stanicu, ona se depolarizira, što ima značajan utjecaj na stanicu. Također je važno spomenuti da se natrijevi kanali brže i otvaraju i zatvaraju od kalijevih kanala.

Natrijevi kanali se sastoje od velikih α podjedinica koje se asociraju sa drugim proteinama, kao što su β podjedinice. α podjedinica čini jezgru kanala i funkcionalna je sama po sebi, tj. može provoditi natrijeve ione čak i kada β podjedinice nisu prisutne. Na slici 4. može se

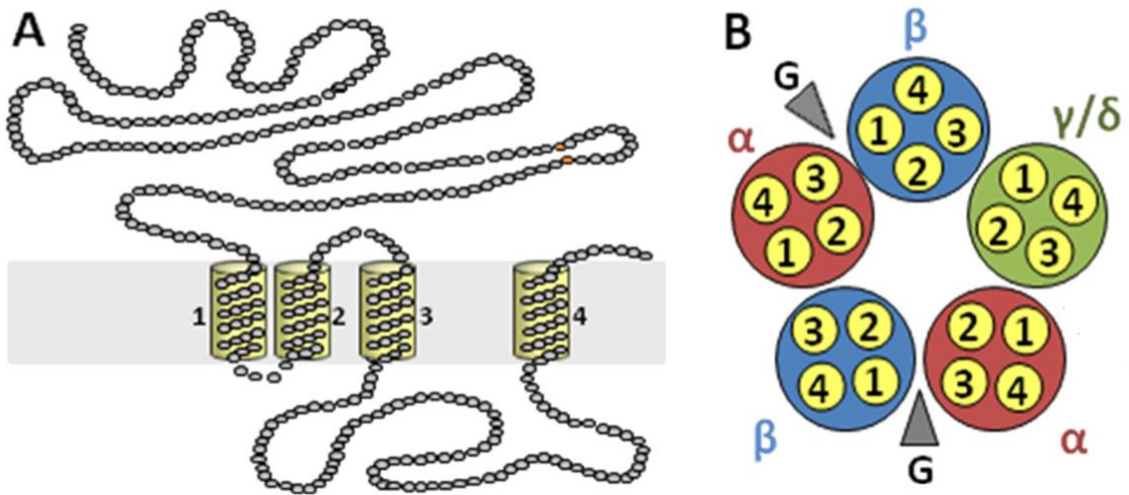
vidjeti kako α podjedinica ima četiri ponavljajuće domene, označene od I do IV, od kojih svaka sadrži 6 segmenata, označenih od S1 do S6.



Slika 4. Dijagram α - podjedinice natrijevog kanala osjetljivog na napon. (N-amino terminalni kraj, C-karboksi terminalni kraj)¹⁸

2.3.3.3. GABA_A receptori

Uz nikotin acetil-kolinski receptor (nAChR), glicinski receptor, te serotonin tip 3 receptor, GABA_A receptori, koji su kloridni kanali, su članovi obitelji Cys-petlje ionskih kanala koje otvaraju i zatvaraju ligandi. Ovi receptori se formiraju kao pentamerne kombinacije transmembranskih polipeptidnih jedinica.⁵ Ime ove obitelji receptora dolazi od karakteristične cisteinske petlje koja se nalazi u svim podjedinicama, a definirana je disulfidnom vezom između dva cisteinska ostatka koji su udaljeni za 13 aminokiselinskih ostataka. GABA (γ -aminobutirična kiselina) je zaslužna za veliku većinu inhibitornih neurotransmisija u mozgu. Pronađena je u otprilike 30% svih sinapsi te djeluje kroz spomenute GABA_A receptore.²¹ Na slici 5. može se vidjeti shematski prikaz najčešćeg izoforma GABA_A receptora.



Slika 5. Shematski prikaz GABA_A receptora. Shema A prikazuje strukturu GABA_A podjedinice. Transmembranske domene su prikazane u obliku cilindara i označene sa 1-4. B prikazuje shematski prikaz izoforma GABA_A receptora. (G = vezno mjesto za GABA-u).²¹

3. IONSKI KANALI KAO MOLEKULARNE METE ANESTETIKA

3.1. Relevantne koncentracije anestezije

Da bi meta bila podložna anesteziji, mora biti osjetljiva na kliničku koncentraciju općih anestetika. Minimalna alveolarna koncentracija se često odnosi na koncentraciju udahnutih anestetika koji imobiliziraju, ili onemogućuju kretanje u 50% ispitanih jedinki.²² Korištenje imobilizacije kao završne točke anestezije je dobro, jer za većinu općih anestetika, koncentracija anestetika 2 do 4 puta veća od minimalne alveolarne koncentracije izaziva štetne nuspojave. Prema tome, koncentracije anestezije nekoliko puta veće od minimalne alveolarne koncentracije definiraju gornju granicu ranga koncentracije koja je klinički relevantna.

Problem kod klinički relevantnih koncentracija za intravenozne anestetike je puno kompliciraniji nego kod hlapivih anestetika zbog ograničenih farmakokinetičkih podataka, zbog čega se ne može jasno definirati završna točka anestezije, te zbog poteškoća kod određivanja koncentracije vodenih otopina anestetika u mozgu.²²

3.2. Mehanizam opće anestezije

Na staničnoj razini, opći anestetici mijenjaju ponašanje neurona, tako što djeluju direktno sa malim brojem proteina ionskih kanala. Pri normalnim uvjetima, ovi proteini se aktiviraju kemijskim signalima ili promjenama u membranskom okruženju.²⁰ Pri aktivaciji, kanali mijenjaju električnu ekscitaciju neurona tako što kontroliraju tok depolarizirajućih (aktivirajućih) ili hiperpolarizirajućih (inhibirajućih) iona uzduž stanične membrane kroz ionski kanal. Anestezija djeluje tako što ili pojačava inhibirajući signal ili blokira ekscitacijski signal.⁵

Važno je napomenuti kako nijedan klinički opći anestetik nije selektivan za jedan ionski kanal. Svaki anestetik mijenja funkciju dva ili više tipova kanala u središnjem živčanom sustavu. Prema tome, svaki anestetik mijenja neuronsku aktivnost tako što djeluje na više mjesta različitim jačinom.

Do 2010. godine bilo je poznato 5 inhalacijskih i 5 intravenoznih općih anestetika; inhalacijski su N₂O, ksenon, izofluran, sevofluran i desfluran, a intravenozni su propofol, etomidat, ketamin, metoheksital i tiopental.⁵ Ovi anestetici se često koriste sa sedativima benzodiazepinima: midazolam, diazepam i lorazepam.

Sedam ovih anestetika i tri sedativa dijele zajedničku metu i mehanizam djelovanja, svi pojačavaju funkciju GABA_A receptora, najčešćeg inhibicijskog neurotransmitera u središnjem živčanom sustavu. Ovi anestetici također imaju srednji do jak utjecaj na druge ionske kanale, poput glicinskog receptora, neuronskog nikotinskog receptora, dva kalijeva kanala, itd,²³ te svaki od njih ima velik raspon utjecaja. U ovome radu fokusirat će se na efekte na GABA_A receptore.

Anestetici alosterički moduliraju GABA_A receptore i onemogućavaju normalne fiziološke funkcije koje zahtijevaju precizno djelovanje GABA-e. Kroz eksperimentalno istraživanje postaje sve jasnije kako različite vrste anestetika mogu imati drukčije utjecaje na puteve u živčanom sustavu. Na primjer, specifični efekti farmakoloških terapeutika su povezani sa drukčijim GABA_A receptorima u različitim dijelovima mozga; sedacija izazvana benzodiazepinima se povezuje sa GABA_A receptorima koji sadrže $\alpha 1$ podjedinicu²⁴. Manipulacijom hipokampalnog GABA_A receptora gabazinom, koji je sinaptički GABA_A bloker, pokazano je da izofluran selektivno pojačava intrasinaptičke GABA_A struje (povezane sa $\alpha 1-2$, $\beta 2-3$ i $\gamma 2$ podjedinicama), dok je tiopental, koji je manje selektivan, pojačao i intrasinaptičke i ekstrasinaptičke GABA_A posredovane struje.²⁵ Ne samo da anestetici drukčijih vrsta mogu biti selektivni u svojoj aktivnosti, već to mogu biti i anestetici iste vrste. Iz ovog primjera može se vidjeti kako se anestetizirano stanje proizvedeno svakim anestetikom razlikuje te je ovisno o farmakološkim karakteristikama anestetika u drukčijim dijelovima mozga.

Inhalirani anestetici (izofluran, desfluran i sevofluran) pojačavaju amplitudu odziva prema niskim koncentracijama GABA-e te produljuju sinaptičku inhibiciju izazvanu GABA-om. Pri određenim koncentracijama, oni mogu otvoriti anionski kanal receptora, i kad GABA nije prisutna, što se naziva direktnom aktivacijom.

Svi GABA_A receptori koji sadrže α podjedinicu su osjetljivi na bar jedan hlapivi opći anestetik. Također se smatra kako se vezna mjesta za inhalirane anestetike nalaze unutar α i β podjedinica. Desfluran i sevofluran također imaju slično djelovanje na GABA_A receptore kao i izofluran; oba anestetika povećavaju afinitet receptora za GABA-u. Sinaptički receptori koji

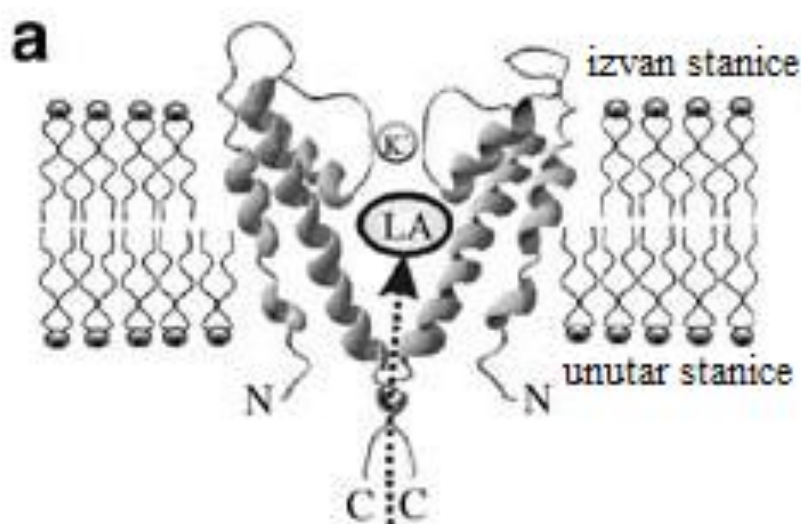
sadrže α_1 , α_2 , β_1 , β_2 podjedinice su osjetljivi na bar jedan od ovih anestetika, ali njihovi efekti na ekstrasinaptičke repetre se još moraju proučiti.²⁷

Kao i kod inhaliranih anestetika, intravenozni anestetici (tiopental, etomidat, propofol) pojačavaju amplitudu odziva prema niskim koncentracijama GABA-e pri klinički relevantnim koncentracijama, te produžuju sinaptičku inhibiciju posredovanu GABA-om. Smatra se da se interakcija GABA_A receptora i intravenoznih anestetika odvija unutar ili u blizini β podjedinica. Budući da β podjedinice pokazuju manju subcelularnu lokalizaciju od α podjedinica, intravenozni anestetici ne pokazuju tako velike razlike između intrasinaptičkih i ekstrasinaptičkih GABA_A receptora u mozgu. Također, raspored β podjedinica u mozgu sisavaca nije jasan kao raspored α podjedinica.²⁶ Mnogi podatci govore kako se β_1 podjedinica najčešće nalazi u hipokampusu, a β_2 i β_3 podjedinice su šire raspoređene.

Važno je napomenuti da doza ima bitnu ulogu u karakteriziranju djelovanja anestetika na receptore, bio anestetik primijenjen sam ili u kombinaciji sa još nekim drugim anestetikom, zato što interakcije anestetika značajno variraju u različitim vremenskim točkama u operaciji.²⁸

3.3. Mehanizam lokalne anestezije

Najbitnija značajka lokalne anestezije je blokiranje nervnog impulsa i pretpostavlja se da se to događa zbog izravnog blokiranja natrijevih kanala. I protonirani i neutralni lokalni anestetici mogu inhibirati natrijeve kanale kroz interferenciju sa konformacijskim promjenama koje se događaju kada kanal prelazi iz zatvorenog u otvoreno stanje³³. Od ranih 1970-ih smatra se kako je lokacija veznog mjesta u postuliranoj unutarnjoj pretkomori. Većina ovih tvrdnji je potvrđena određivanjem strukture jednog kalijeveg kanala.²⁹ Slika 6. pokazuje shematski kako lokalni anestetik blokira ionske kanale koji se zatvaraju ili otvaraju naponom, te prikazuje interakciju sa vratima na unutarnjoj površini.



Slika 6. Shematski prikaz interakcije lokalnog anestetika sa ionskim kanalom.³⁰

Što se tiče blokiranja natrijevih kanala lokalnim anestetikom, istraživanja pretpostavljaju kako je vezno mjesto u natrijevim kanalima hidrofobni džep koji formiraju 2 aromatska ostatka u unutarnjoj pretkomori. Moguće je da π veze igraju bitnu ulogu u ovakvoj interakciji.³¹

Budući da kalijevi kanali nemaju aromatske ostatke u unutarnjoj pretkomori, potrebno je drukčije objašnjenje mehanizma. Smatra se da se lokalni anestetici vežu na kalijeve kanale hidrofobnim interakcijama.

Istraživanjem niza kalijevih kanala³¹ koji se otvaraju i zatvaraju naponom, mehanizam blokiranja se može opisati jednostavnom shemom, kao na slici 7. C i O predstavljaju zatvoreno i otvoreno stanje kanala. OB i CB predstavljaju odgovarajuća stanja, ali sa vezanim

lokalnim anestetikom na kanal. Ono što shema govori je sljedeće: lokalni anestetik se veže na kanal u otvorenom stanju i prenosi kanal u neprovodeće otvoreno-vezano stanje. Pri depolarizaciji, kanal ili prelazi u zatvoreno, ali nevezano stanje (C) ili u zatvoreno i vezano stanje (CB), ovisno o tipu kanala.



Slika 7. Shematski dijagram mehanizma blokiranja kalijevog kanala.³⁰

Kv2.1 kanal, kalijev kanal kojeg kodira gen KCNB1, ima veću vjerojatnost da će prijeći u CB stanje od bilo kojeg Kv kanala (kalijevi kanali koji se zatvaraju ili otvaraju naponom)³², te je zbog toga najosjetljiviji na anestetike od Kv kanala. Ova jednostavna shema može objasniti većinu eksperimentalnih podataka dobivenih mnogobrojnim istraživanjima i tako može zamijeniti nekoliko drugih modela u literaturi.³⁰ Također objašnjava podatke u literaturi koji su objašnjeni puno kompleksnijim modelima. No, dok se ne odrede 3D strukture, ne mogu se dobiti detaljnije informacije.

4. ZAKLJUČAK

Anestezija je bitno pridonijela napretku medicine. Do njezinog otkrića pri izvođenju operacija, pacijenti su osjećali velike bolove jer nisu postojali anestetici koji bi ih ublažili i omogućili lakše izvođenje operacija. Počeli su eksperimenti sa različitim spojevima kao što su eter, dušikov oksidul, vitriol i dr. Oni su se počeli tada upotrebljavati kao anestetici. Danas se anestetici unose na dva načina u organizam, intravenozni i inhalacijski. Čovjeka je oduvijek zanimalo na koji način uneseni anestetici omogućuju gubitak boli. Zamislimo samo neke složene operacije, poput presađivanja organa, šivanja rana, lomljenja kostiju. Zaista je teško zamisliti da takve operacije, koje na prvi pogled djeluju vrlo bolno, ne izazivaju kod pacijenta nikakve reakcije. Ali to i je bit same anestezije, ne osjećanje boli.

Anestetici da bi izazvali takvo stanje moraju djelovati na određeno područje koje bi inhibiralo centre osjeta da oni ne dođu do mozga. To su ionski kanali koji se protežu kroz čitavu membranu. Znanstvenici su pokušavali odgonetnuti pravi mehanizam djelovanja anestetika na ionske kanale. Prema njima kod mehanizma djelovanja opće anestezije, sedam anestetika i tri sedativa djeluju na $GABA_A$ receptore i pojačavaju njegovu funkciju, a to je inhibicija neurotransmitera u središnjem živčanom sustavu.

Mehanizam djelovanja lokalne anestezije objašnjava inhibiciju ionskih kanala, tako što se lokalni anestetici izravno vežu na kanale i blokiraju ih. Ovi mehanizmi su samo jedan od načina kako bi se objasnila povezanost anestetika i ionskih kanala. Znanstvenici i dalje pokušavaju dublje spoznati tu povezanost.

5. LITERATURA

1. R. W. Hill, G. A. Wyse, M. Anderson, *Animal Physiology*, 3rd Edition, Sinauer Associates, Inc., Massachusetts, (2012).
2. [www.neuron.mefst.hr/docs/katedre/neuroznanost/katedra_neuroznanost/neuroscience/S04\)%20Cell%20Membrane.pdf](http://www.neuron.mefst.hr/docs/katedre/neuroznanost/katedra_neuroznanost/neuroscience/S04)%20Cell%20Membrane.pdf)
3. www.pmf.unsa.ba/hemija/files/Katedra%20za%20organsku%20hemiju%20i%20biohemiju/Predmeti%20KOHBH/I_ciklus/II_godina/Uvod_u_biohemiju/Stanicne_membrane.pdf
4. <http://www.vef.unizg.hr/org/kirurgija/wp-content/uploads/2009/11/Anesteziologija.pdf>
5. <http://www.histansoc.org.uk/timeline.html>
6. www.wol.jw.org/hr/wol/d/r19/lp-c/102000847
7. www.roditelji.hr/trudnoca/porod/prednosti-mane-epiduralne-analgezije/
8. www.kbo.hr/Klinike/Odjeli/Anestezija/Informacije
9. www.mojstomatolog.com.hr/lokalna-i-opca-anestezija/
10. www.poliklinikabagatin.hr/Povezani-clanci/Razlike-izmedu-opce-i-lokalne-anestezije
11. www.scribd.com/doc/135827077/38/VRSTE-LOKALNE-ANESTEZIJE
12. www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?id=40044
13. B. W. Urban, M. Bleckwenn, M. Barann, Interaction of anesthetics with their targets: Non – specific, specific, or both? *Pharmacology & Therapeutics* **111** (2006) 729-770.
14. www.physics.mef.hr/Predavanja/zivci/podrazaj.htm
15. I. S. Gabashvili, B. H. A. Sokolowski, C. C. Morton, A. B. S. Giersch, Ion Channel Gene Expression in the Inner Ear, *J. Assoc. Res. Otolaryngol* **3** (2007) 305-328.
16. B. Hille, *Ion Channels of Excitable Membranes*, 3rd Edition, Sinauer Associates, Inc., Washington, (2001).
17. www.opm.phar.umich.edu/
18. www.en.wikipedia.org/wiki/Sodium_channel#/media/File:Sodium-channel.svg
19. M. Yamakage, A. Namiki, Calcium channels – basic aspects of their structure, function and gene encoding; anesthetic action on the channels – a review, *Can. J. Anaesth.* **49** (2002) 151-164.
20. P. S. Garcia, S. E. Kolesky, A. Jenkins, General Anesthetic Actions on GABA_A Receptors, *Curr.Neuropharmacol.* **8** (2010) 2-9.

21. K. N. Gurba, Assembly and Heterogeneity of GABA_A Receptors, *Vanderbilt Reviews Neuroscience* **2** (2010) 25-32.
22. T. Yamakura, E. Bertaccini, J. R. Trudell, A. R. Harris, Anesthetics and Ion Channels: Molecular Models and Sites of Action, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **41** (2014) 23-51.
23. M. T. Alkire, A. G. Hudetz, G. Tononi, Consciousness and Anesthesia, *Science* **322** (2008) 876 – 880.
24. K. Löw, F. Crestani, R. Keist, D. Benke, I. Brünig, J. A. Benson, J. M. Fritschy, T. Rüllicke, H. Bluethmann, H. Möhler, U. Rudolph, Molecular and neuronal substrate for the selective attenuation of anxiety, *Science* **290** (2000) 131-134.
25. M. C. Bieda, H. Su, M. B. Maciver, Anesthetics discriminate between tonic and phasic gamma-aminobutyric acid receptors on hippocampal CA1 neurons. *Anesth. Analg.*, **108** (2009) 484 - 490.
26. D. J. Laurie, P. H. Seeburg, W. Wisden, The distribution of 13 GABAA receptor subunit mRNAs in the rat brain. II. Olfactory bulb and cerebellum. *J. Neurosci.* **12** (1992) 1063-1076.
27. A. Jenkins, N. P. Franks, W. R. Lieb, Effects of temperature and volatile anesthetics on GABA(A) receptors. *Anesthesiology* **90** (1999) 484-491.
28. L. E. Sebel, J. E. Richardson, S. P. Singh, S. V. Bell, A. Jenkins, Additive effects of sevoflurane and propofol on gammaaminobutyric acid receptor function. *Anesthesiology* **104** (2006) 1176-1183.
29. D. A. Doyle, J. Morais Cabral, R. A. Pfuetzner, A. Kuo, J. M. Gulbis, S. L. Cohen, The structure of the potassium channel: molecular basis of K⁺ conduction and selectivity. *Science* **280** (1998) 69–77.
30. P. Arhem, G. Klement, J. Nilsson, Mechanisms of Anesthesia: Towards Integrating Network, Cellular and Molecular Level Modeling, *Neurophyschopharmacology* **28** (2003) 40-47.
31. D. S. Ragsdale, J. C. McPhee, T. Scheuer, W. A. Catterall, Molecular determinants of state-dependent block of Na⁺ channels by local anesthetics. *Science* **265** (1994) 1724–1728.
32. J. Nilsson, M. Madeja, P. Arhem, Molecular mechanisms of local anaesthetic action: binding of bupivacaine to K channels. *Biophys. J.* **80** (2001) 1904.
33. J. F. Butterworth 4th, G. R. Strichartz, Molecular mechanisms of local anesthesia: a review. *Anesthesiology* **72** (1990) 711-734.