

*Badanie wpływu wybranych leków znieczulających miejscowo na monowarstwy lipidowe modelujące błony komórek nerwowych, mitochondriów i erytrocytów*

mgr Justyna Mildner

Promotor: prof. dr hab. Patrycja Dynarowicz-Łątka

Praca została wykonana w Zespole Fizykochemii Zjawisk Międzyfazowych Zakładu Chemii  
Ogólnej Wydziału Chemii UJ

### Streszczenie rozprawy doktorskiej

Aktywność biologiczna środków znieczulających miejscowo odbywa się na poziomie błony komórkowej. Molekularny mechanizm tej aktywności nie jest jednak w pełni poznany. Choć wiadomo, że leki znieczulające miejscowo blokują kanały jonowe dla jonów sodu, hamując w ten sposób przewodzenie impulsów elektrycznych, wyniki badań z ostatnich lat wskazują na bardziej złożony mechanizm działania anestetyków, niż dotychczas uważano. Trudność w wyjaśnieniu mechanizmu działania anestetyków związana jest ze złożonym charakterem oddziaływań lek-błona oraz złożonością struktury samej błony komórkowej. W niniejszej pracy zaproponowano wykorzystanie techniki monowarstw Langmuira do skonstruowania sztucznej błony komórkowej i zbadania oddziaływań z wybranymi lekami o działaniu miejscowo znieczulającym. Technika Langmuira jest jedną z najlepszych metod pozwalających na modelowanie błon komórkowych, umożliwiając łatwą, precyzyjną i systematyczną kontrolę takich parametrów jak: jakościowy i ilościowy skład błony, fizyczny stan cząsteczek budujących modelową błonę oraz wartość ciśnienia powierzchniowego, co nie jest możliwe w badaniach z wykorzystaniem materiału biologicznego (żywych komórek lub też izolowanych fragmentów błon komórkowych organizmów), zaś w przypadku stosowania innych modeli błon (np. liposomów) – bardzo utrudnione. Do badań wybrano leki znieczulające miejscowo należące do grupy amidowych anestetyków: lidokainę, prilokainę, mepiwakainę i ropiwakainę (w postaci chlorowodorków). Zbadano wpływ wymienionych leków na oddziaływanie z lipidowymi składnikami naturalnych błon komórkowych: cholesterolem, fosfolipidami z grupy glicerofosfolipidów (DPPC, DOPC, POPC, POPE), sfingomieliną oraz kardiolipiną i ich odpowiednich mieszanin modelujących błony komórek nerwowych, erytrocytów i mitochondriów. Metodyka zastosowana do realizacji badań polegała na utworzeniu monowarstw Langmuira z powyższych lipidów błonowych i ich mieszanin na subfazie wodnej zawierającej roztwór badanego leku. Penetrację leku do odpowiedniej monowarstwy (jedno- lub wieloskładnikowej) monitorowano za pomocą rejestracji ciśnienia powierzchniowego ( $\pi$ ) w funkcji powierzchni przypadającej na cząsteczkę w monowarstwie ( $A$ ), w obecności leku w subfazie, a następnie wyznaczeniu, na tej podstawie, parametrów termodynamicznych (zmian nadmiarowej entalpii swobodnej,  $\Delta G^{exc}$ ). Zbadano jakie różnice w oddziaływaniach występują w zależności od budowy cząsteczek leków, a także od budowy chemicznej cząsteczek lipidów błonowych i składu modelowej błony komórek.

Wizualizacje struktur monowarstw podczas inkorporacji cząsteczek leku przeprowadzono z użyciem mikroskopu kąta Brewstera (BAM), zaś identyfikację zmiany położenia grup funkcyjnych lipidów błonowych oddziałujących z badanymi lekami przeprowadzono z wykorzystaniem spektroskopii w podczerwieni (PM-IRRAS). Rezultaty badań potwierdzają, że leki znieczulające miejscowo mają zdolność wbudowywania się w strukturę monowarstw utworzonych z lipidów błonowych, modelujących błony komórkowe, zmieniając ich właściwości strukturalne i mechaniczne. W przypadku błon komórek nerwowych wpływają w ten sposób pośrednio na zmiany konformacyjne białek kanałowych odpowiedzialnych za transport jonów sodu. Działanie anestetyków nie ogranicza się jednak do komórek nerwowych. Wykazano, że leki te wpływają również na inne typy komórek, co tłumaczy wywoływane skutki uboczne podczas ich stosowania.