

Az általános anesztézia molekuláris mechanizmusa

RÓZSA Zsófia Borbála,^a HANTAL György,^b SZŐRI Milán,^c FÁBIÁN Balázs,^d JEDLOVSZKY Pál^{e,*}

^aELTE Biokémia Tanszék, 1117 Budapest, Pázmány Péter sétány 1/c

^bBME Polimertechnika Tanszék, 1111 Budapest, Műegyetem rakpart 3

^cMiskolci Egyetem, Kémiai Intézet, 3515 Miskolc, Egyetemváros A/2

^dDepartment of Theoretical Biophysics, Max Planck Institute of Biophysics, Frankfurt am Main, Germany

^eEszterházy Károly Katolikus Egyetem, Kémia Tanszék, 3300 Eger, Leányka utca 12.

1. Bevezetés

Az általános anesztézia, azaz a műtéti altatás az emberiség egyik áldása. Noha az eljárást nagyjából százötven éve használják a mindennapi orvosi gyakorlatban, molekuláris mechanizmusát máig homály fedi. Jegyezzük meg mindjárt az elején, hogy az általános anesztéziát élesen meg kell különböztetni a lokális anesztéziától, azaz a helyi érzéstelenítéstől, melynek során más molekulák más mechanizmus szerint másképpen hatnak az emberi szervezetre. A cikk további részében kizárólag az általános anesztéziáról lesz szó.

A kérdés tudományos vizsgálatában az első komoly áttörés a XX. század hajnalán történt, amikor Meyer¹ és Overton² egymástól függetlenül azt tapasztalták, hogy az egyes általános anesztetikumok hatékonysága arányos az olaj/víz megoszlási hányadosukkal. Eredményük arra a következtetésre vezetett, hogy az általános anesztetikumok a sejtek membránjában fejtik ki hatásukat. A következő nagyobb előrelépés Johnson és Flagler nevéhez fűződik, akik 1950-ben megmutatták, hogy az anesztetikus hatás nagy nyomáson megszűnik.³ Ezt a felismerést számos későbbi kísérlet is megerősítette.⁴⁻⁶ Az általános anesztézia keresett molekuláris mechanizmusának tehát a nyomásreverzió jelenségére is magyarázattal kell szolgálnia.

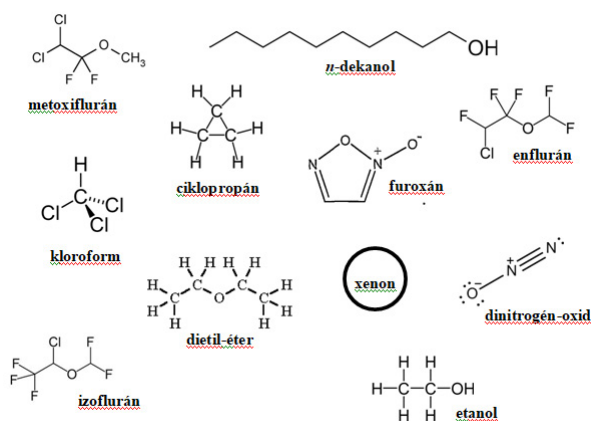
Az anesztézia molekuláris mechanizmusának rejtélye az általános anesztetikumok óriási kémiai változatosságában gyökerezik. Az anesztetikus hatást mutató molekulák körébe beletartoznak egyes alkoholok, éterek, halogénezett illetve ciklikus szénhidrogének, sőt szervesetlen molekulák és nemesgázok is. Néhány anesztetikum sematikus képletét mutatja az 1. ábra. A rejtélyt tovább fokozza az a tény, hogy egyes, bizonyos általános anesztetikumokhoz kémiai vagy legalábbis szerkezetileg nagyon hasonló molekulák egyáltalán nem, vagy csak igen csekély mértékben mutatnak anesztetikus hatást. Így míg a *n*-dekanol, a kloroform, a dietil-éter és a xenon anesztetikumok, a *n*-hexadekanol, a széntetraklorid, a *n*-pentán, illetve a neon nem mutatnak jelentős anesztetikus hatást. Az anesztetikumok roppant kémiai változatossága, illetve a kémiai sokszor nagyon hasonló anesztetikum – nem anesztetikum párok léte lényegében kizárja a lehetséges magyarázatok közül a múlt

század végén igen divatos úgynevezett „fehérje elméleteket”,⁷⁻⁹ melyek az általános anesztézia magyarázatára az enzimek működéséhez hasonló specifikus fehérje-szubsztrát kölcsönhatásokat tételeztek fel.

Az anesztézia molekuláris mechanizmusa lehetséges magyarázatainak másik nagy csoportját a „lipid elméletek” jelentik.¹⁰⁻¹⁴ Az anesztetikus hatás okát itt is valamely membránhoz kötött fehérje konformációs változásaiban keresik, e változásokat azonban most specifikus fehérje-szubsztrát kölcsönhatások helyett a membrán valamely tulajdonságának anesztetikumok hatására bekövetkező változására vezetik vissza. Azonban mindmáig sem az ebből a szempontból releváns membránfehérjét nem azonosították egyértelműen, sem pedig az annak a megfelelő konformációs változását kiváltó, anesztetikumok hatására megváltozó membrántulajdonságnak a mibenlétét illetően nincs tudományos konszenzus.

Az első lipid elmélet Mullins nevéhez fűződik, aki azt feltételezte, hogy anesztézia akkor következik be, ha a membrán moláris térfogata meghalad egy kritikus értéket.¹⁰ Ennek oka lehet egyrészt az, hogy a membrán közepén elhelyezkedő anesztetikumok távolabb tolják egymástól a membránt alkotó két lipid réteget,^{15,16} másrészt az is, hogy a lipid láncok közé ékelődő anesztetikumok növelik a közeli láncok orientációs rendezettségét. Ez utóbbi hatás következtében a láncok összességében nyújtottabb konformációt vesznek fel, növelve ezzel a membrán vastagságát.¹¹ A kísérleti adatok azonban meglehetősen ellentmondásosak e tekintetben, és legalábbis bizonyos anesztetikumok esetén a feltételezésekkel ellentétes eredményekre vezettek.¹⁷ Érdekes módon azt a lehetőséget, hogy a membrán anesztetikumok hatására bekövetkező moltérfogat növekedése mögött akár annak laterális dilatációja és nem a vastagodása is állhat, az ezredfordulóig még csak fel sem vetette senki. Ly és Longo a 2000-es évek elején azután mikropipetta aspirációs kísérletekkel megmutatta, hogy az anesztetikumok jelenléte valóban a membrán laterális dilatációját, azaz a lipid molekulák felületi sűrűségének csökkenését okozzák.^{18,19} E megfigyelést később számos számítógépes szimulációs vizsgálat is megerősítette.^{15-17,20-28}

* E-mail: jedlovszky.pal@uni-eszterhazy.hu

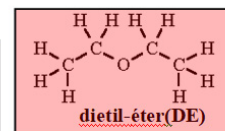
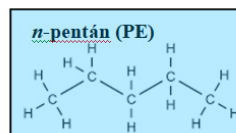
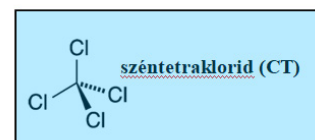
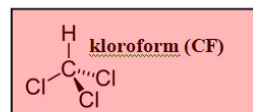


1. Ábra. Néhány általános anesztetikum sematikus képlete

A lipid elméletek egy másik csoportja azon a feltételezésen alapul, hogy az anesztetikumok megnövelik a membrán fluiditását.²⁹⁻³³ A számítógépes szimulációk e feltételezéssel is összhangban vannak, ilyen vizsgálatokban a lipid molekulák laterális mobilitásának anesztetikumok jelenlétében történő növekedését (és a nyomás növelésének hatására bekövetkező csökkenését) tapasztalták.^{20,21,23,26,34-36} Azonban bár egyértelmű korreláció látszik a lipid molekulák laterális mobilitásának növekedése és az anesztézia megjelenése között, a két jelenség közül hiányzik a látható oksági kapcsolat. Meg kell azt is jegyezni, hogy a lipid molekulák laterális mobilitásának növekedését okozhatja egyszerűen a membrán fent említett, anesztetikumok hatására bekövetkező laterális dilatációja is.

1997-ben Cantor termodinamikai megfontolások alapján felállított hipotézise szerint az anesztetikumok a membrán oldalnyomásának a profilját változtatják meg. Ha ez a változás a membrán normálisa mentén nem egyenletes, akkor mindez egyes membránfehérjék konformációs egyensúlyának drasztikus eltolódásához, és ezen keresztül az anesztetikus hatás megjelenéséhez vezethet.¹⁴ A Cantor-hipotézis, lévén központi eleme a membrán egyes rétegeiben uralkodó oldalnyomás, a nyomásreverzió jelenségéről is könnyen számot tud adni. Bár az anesztetikus hatás kiváltását közvetlenül okozó fehérjét vagy fehérjéket még nem azonosították, az általános vélekedés szerint ez egy vagy több csatornafehérjét jelent. Az oldalnyomás szerepét úgy szemléltethetjük, hogy annak adott rétegbeli változása a membránban lévő fehérjemolekulát a megfelelő ponton „meghúzza” vagy „megnyomja”, és ezzel, mint egy kapcsoló átkapcsolásával nyitja vagy zárja a csatornát. Ilyen módon a Cantor-hipotézis az első olyan felvetés, amely oksági kapcsolatot is kínál a membrán tulajdonságainak anesztetikumok hatására bekövetkező változása és az anesztetikus hatás megjelenése között. Meg kell azonban jegyezni, hogy a Cantor-hipotézis kísérleti ellenőrzése gyakorlatilag lehetetlen, hiszen az az oldalirányú nyomáskomponens átlagos értékének Angström felbontású mérését igényelné a membrán normálisa mentén. A kérdés azonban számítógépes szimulációval érdemben vizsgálható.

anesztetikumok



kémiailag és/vagy szerkezetileg nagyon hasonló nem anesztetikumok

2. Ábra. A vizsgált anesztetikum – nem-anesztetikum párok sematikus képlete.

2. A kutatás stratégiája és az elvégzett szimulációk

Munkánk során különböző anesztetikumok hatását vizsgáltuk lipid kettős rétegek, mint modell membránok tulajdonságaira molekuláris dinamikai szimulációk segítségével. Célunk az volt, hogy kapcsolatba hozzuk a tapasztalt változásokat az anesztetikus hatás megjelenésével.^{25-28,37-39}

A kutatás során a következő stratégiát követtük. Először is, vizsgálatainkat azon membrántulajdonságok keresésére korlátoztuk, melyek relevánsak lehetnek az általános anesztézia szempontjából, egyelőre fehérjék jelenléte nélkül. A membrán azon tulajdonságait tekintettük relevánsnak, melyek (i) minden anesztetikum esetén, különböző összetételű illetve különböző, biológiailag releváns fázisokban lévő membránokban ugyanolyan módon változtak meg; (ii) anesztetikus hatást nem mutató molekulák esetén nem változtak vagy (az anesztetikumok hatásához képest) csekély változást mutattak; illetve (iii) a nyomás növelése az anesztetikumok által okozott ellentétes irányú változást indukált bennük. Ennek érdekében szimulációkat végeztünk (1) tiszta membránokban légköri nyomáson, (2) anesztetikumot tartalmazó membránokon légköri nyomáson, (3) anesztetikumokhoz kémiailag vagy legalább szerkezetileg hasonló, ám anesztetikus hatást nem mutató molekulákat tartalmazó membránokon légköri nyomáson, és (4) anesztetikumot tartalmazó membránokon nagy nyomáson. Az anesztézia szempontjából releváns membrántulajdonságok keresése során vizsgáltuk egyebek közt a membrán vastagságát, laterális sűrűségét és térfogatát, különböző lipid atomok illetve az anesztetikumok sűrűségprofilját, az anesztetikumok laterális önasszociációját, a lipid fejcsoportok és láncok orientációját és lokális rendezettségét, a lipid molekulák laterális diffúzióját, illetve a szabad térfogat és az oldalnyomás profilját a membrán normálisa mentén.^{25-28,37-39}

A továbbiakban csak azokkal a tulajdonságokkal foglalkozunk, melyek a fenti hármas kritériumnak megfelelő változásokat mutattak.

A bő egy évtizedet felölő kutatásaink során vizsgáltunk többféle modell membránt, így dipalmitoilfoszfátidilkolin (DPPC) illetve N-palmitoil-D-eritro-szfingozilfoszforil-kolin (PSM) kettős rétegét, valamint ezek koleszterinnel alkotott ekvimoláris elegyét; többféle anesztetikumot, így dietil-étert (DE), kloroformot (CF), halotánt, enfluránt, szevofluránt és xenont (1. ábra) is. Anesztetikus hatást nem mutató molekulák közül a DE-hez szerkezetileg nagyon hasonló *n*-pentán (PE) és a CF-hoz kémiaiailag is igen hasonló széntetraklorid (CT) szerepelt a szimulációinkban (2. ábra). A membránokat az eukarióta sejtekben előforduló mindkét fázisban, a rendezetlenebb folyadék-kristályos (α), illetve a rendezettebb gél (β) fázisban is szimuláltuk. Az eredményeknek a használt potenciálmodelltől való függését minimalizálendő, kétféle erőteret is használtunk vizsgálatunkban. Az egyik esetben a lipid molekulákat a CHARMM36,⁴⁰ a vízmolekulákat pedig az ezzel kompatibilis módosított TIP3P (mTIP3P) modellel⁴¹ írtuk le (cikünkben ilyen eredményeket mutatunk be), míg a másik esetben a GROMOS87 erőter alapján lipidekre fejlesztett paramétereket⁴² és az ehhez tartozó SPC/E vízmoddell⁴³ használtuk. A membrán mindkét rétege 128 lipid molekulából állt, melyet 7680 vízmolekula vett körül. A víz és lipid molekulák aránya így 30-nak adódott, meghaladva a teljes hidratációhoz szükséges 29.1-es értéket.⁴⁴

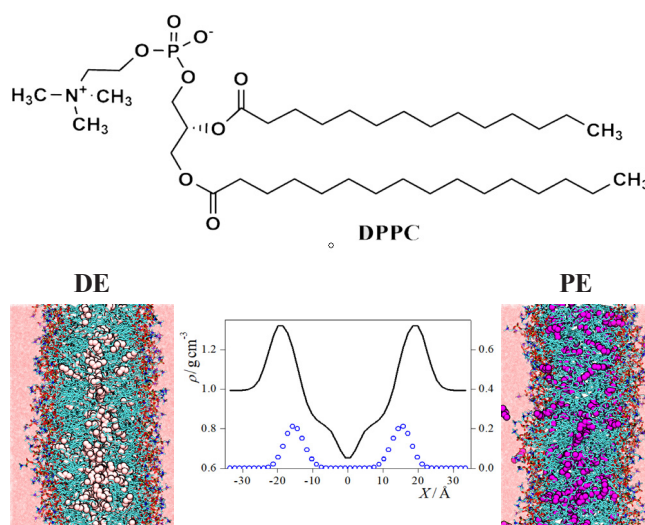
A membránban oldott anesztetikumok számát és nagy nyomású szimulációk esetén a nyomást Oh és Klein javaslatát²² követve úgy választottuk meg, hogy az jelentősen meghaladja a kísérletekben illetve műtéti gyakorlatban használt értékeket, így javítva eredményeinkben a jel/zaj arányt. Fontos hangsúlyozni, hogy a vizsgálataink során alapvetően az egyes membrántulajdonságok változásának az *iránya* és nem a *mértéke* érdekelt minket – e változások kvalitatív becsléséhez a használt modellek mindenképpen túl durvák lennének. Így a modell membránok 110 xenon atomot, 192 DE vagy PE, 112 CF vagy CT, 72 szevoflurán vagy halotán, illetve 96 enflurán molekulát tartalmaztak. A membrán hőmérséklete és a nagy nyomáson végzett szimulációkban a nyomása 330 K és 600 bar (a CHARMM modell esetén) illetve 310 K és 1000 bar (a GROMOS modellel) voltak (a légköri nyomású szimulációkat 1 bar nyomáson végeztük). A fenti értékeket úgy választottuk meg, hogy a modell membrán még nagy nyomáson is a biológiailag relevánsabb α fázisban legyen. β fázisú tiszta DPPC kettős réteg szimulációja során a hőmérsékletet 300 K értéken tartottuk. Az 50% koleszterint tartalmazó membránok minden esetben a β fázisban voltak. A szimulációk elvégzéséhez a GROMACS programcsomagot,⁴⁵ az oldalnyomás profil számításához pedig ennek általunk módosított, szabadon elérhető változatát^{46,47} használtuk. A szimulációk további részletei az eredeti közleményekben találhatók.^{25-28,37,38} A DPPC molekula sematikus szerkezetét illetve a DE-t és PE-t tartalmazó, légköri nyomáson szimulált DPPC membránok egy-egy szimulációs pillanatfelvételét a 3. ábra mutatja.

3. Eredmények és értékelésük

A továbbiakban az anesztézia vizsgálatával kapcsolatos néhány reprezentatív eredményünket mutatjuk be. Előzetesen is hangsúlyozni kell, hogy más anesztetikumok, membránok, fázisok és modellek használata minden esetben az itt bemutatottakkal kvalitatívan megegyező eredményre vezetett, így következtetéseink minden esetben igazak maradtak.

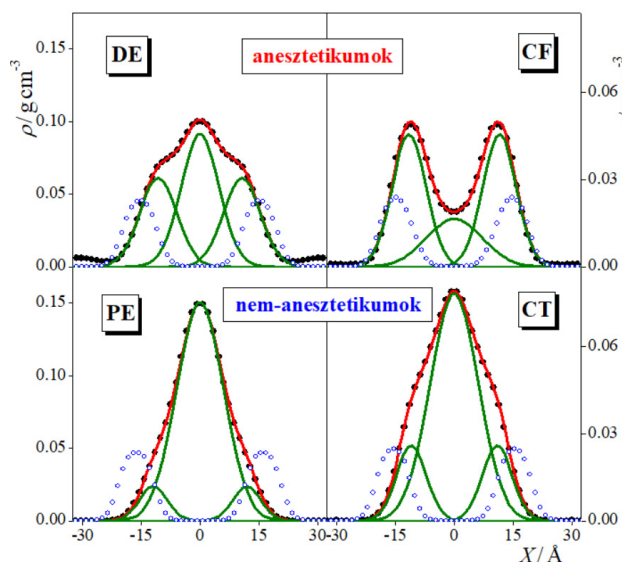
3.1. Sűrűségprofilok

A tiszta, légköri nyomású, α fázisú hidratált DPPC kettős réteg tömegsűrűségének a membránra merőleges X tengely mentén vett profilját a 3. ábra alsó középső panelje mutatja. A profilt, akárcsak a cikkben szereplő többi profilt is, a membrán két oldalára szimmetrizálva mutatjuk, az $X = 0$ Å pozíció a membrán közepének felel meg. A kapott profil két oldalán a membránt hidratáló víz tömbfázisú sűrűsége jelenik meg. A membrán belseje felé haladva látható a hidratált fejcsoportok zsúfolt, nagy sűrűségű tartományát jelző maximum, amit a sűrűség meredek csökkenése követ. A membrán közepétől nagyjából 5-10 Å távolságra egy váll jelenik meg – ez a tartomány megfelel a vízmolekulák teljes eltűnésének, illetve a láncvégi CH_3 csoportok megjelenésének.²⁷ A membrán közepén egy kis sűrűségű zóna található. Az itteni sűrűségminimum megjelenése annak tulajdonítható, hogy a lipid láncok az α fázisban viszonylag rendezetlen konformációt vesznek fel, és emiatt a láncvégi CH_3 csoportok egy része a membrán közepétől némileg kijebb helyezkedik el, üres teret hagyva a membrán közepén. Az ábra mutatja a két szénhidrogénláncot a DPPC molekula glicerín vázához kapcsoló észter csoportok tömegsűrűség profilját is – e csoportok jelzik a membránban a poláros és apoláros tartományok közötti határfelület helyét, hiszen annak külső, poláros oldalán helyezkednek el. E profilokat a továbbiakban referenciaként fogjuk használni.



3. Ábra. A DPPC molekula sematikus szerkezete (fent); a DE-t (balra lent) illetve PE-t (jobbra lent) tartalmazó légköri nyomású membrán egyensúlyi pillanatfelvétele; illetve (lent közepén) a légköri nyomású tiszta DPPC membrán tömegsűrűség profilja (fekete vonal), bal oldali skála) és az észter csoportok profilja (kék üres körök, jobb oldali skála).

A 4. ábrán két anesztetikum, a DE és a CF, illetve ezek anesztetikus hatást nem mutató „párjai”, a PE és a CT tömegsűrűség profilját mutatjuk a DPPC membránban légköri nyomáson. Látható, hogy a membránban oldott molekulák minden esetben kétféle pozíciót preferálnak. A kapott profilok minden esetben kitűnően illeszthetők három Gauss görbe összegével, melyek közül kettő egymásnak a membrán közepére vett tükörképe, a harmadik, belső preferált pozícióhoz tartozó Gauss görbe pedig minden esetben a membrán közepén található. Míg a belső preferált pozícióhoz tartozó görbe maximuma mindig $X = 0$ Å-nél van, a külső görbék maximuma minden esetben a membrán közepétől 11–12 Å távolságra található (lásd az 1. táblázatot). A 4. ábrán feltűntettük a DPPC észter csoportjainak sűrűségprofilját is – a membránban oldott molekulák külső preferált pozíciója ettől 3–4 Å távolságra befelé, azaz a poláros/apoláros határfelület közelében, ám annak belső, apoláros oldalán van.



4. Ábra. Az anesztetikumok (fent) illetve nem-anesztetikumok (lent) tömegsűrűség profilja a membránban légköri nyomáson (fekete tele körök). A kapott profilok illesztéséhez használt három-három Gauss görbét zöld, ezek összegét piros vonal jelzi. Referenciaként a DPPC molekulák észter csoportjainak tömegsűrűség profilját is feltűntettük (kék üres körök). A bal oldali skála az anesztetikumok, a jobb oldali pedig az észter csoportok tömegsűrűségét mutatja.

A belső pozíció preferenciájának nyilvánvaló oka a membrán közepén rendelkezésre álló viszonylag nagy szabad térfogat – egyszerűen szólva az oldott molekulák azért jönnek ide, mert itt van hely. A külső pozíció preferenciája viszont a fejszoportok nagy sűrűségű rétegének viszonylagos közelségére vezethető vissza, hiszen az oldott molekulák így maximalizálhatják – az ott található nagy mennyiségű, viszonylag közeli szomszéd által – van der Waals kölcsönhatásaikat. Látható azonban egy fontos különbség is az anesztetikumok és nem anesztetikus hatású párjaik között e tekintetben, nevezetesen az, hogy anesztetikumok esetén sokkal erősebb a külső pozíció preferenciája, mint az anesztetikus hatást nem mutató molekuláknál. Ezt szemlélteti az 1. táblázat, mely mutatja a külső Gauss görbék relatív súlyát

(w_2) az illesztésben. Az oldódási szabadentalpia (G) profilja a sűrűségprofilból a

$$G(X) = -RT \ln \rho(X) + C \quad (1)$$

egyenlet szerint származtatható (ahol C egy additív konstans). Ez alapján a külső és belső preferált pozíció közötti szabadentalpia különbség a

$$\Delta G = G_2 - G_1 = -RT \ln \frac{\int_{-\infty}^{\infty} \rho_2(X) dX}{\int_{-\infty}^{\infty} \rho_1(X) dX} \quad (2)$$

egyenlettel számítható ki, ahol $\rho_1(X)$ és $\rho_2(X)$ a belső illetve külső Gauss görbe szerinti sűrűségprofil járulékat jelenti. Az így kapott ΔG értékek szintén szerepelnek az 1. táblázatban. Ezek alapján egyértelműen látszik, hogy az anesztetikumok nem csak sokkal erősebben preferálják a külső pozíciót anesztetikus hatást nem mutató párjuknál, hanem esetükben a külső, míg nem-anesztetikumoknál a belső preferált pozíció felel meg a globális szabadentalpia minimumnak.

rendszer	$ X_2 /\text{\AA}$	w_2	$\Delta G/\text{kJ mol}^{-1}$
DPPC + DE	10.7	0.566	-0.7
DPPC + PE	12.0	0.159	4.6
DPPC + CF	11.6	0.771	-3.3
DPPC + CT	11.0	0.292	2.4

1. Táblázat. Az anesztetikumok és nem anesztetikus hatású párjaik külső és belső preferált pozíciójához tartozó adatok légköri nyomású membránban. X_2 a külső preferált pozíció helye.

Mindez természetesen felveti azt a kérdést, hogy a külső pozíció preferenciájának fent említett hajtóeréjén kívül kell lennie még egy további, most már az anesztetikumokra specifikus hajtóerőnek is. Vegyük észre, hogy az anesztetikumok túlnyomó többsége – a nem anesztetikus PE-nal és CT-dal ellentétben – nem teljesen apoláros, hanem kis állandó dipólusmomentummal rendelkezik (illetve a teljesen apoláros anesztetikumok, mint például a xenon, igen jól polarizálhatóak). Ez alapján a külső pozíció preferenciájának anesztetikumokra specifikus extra hajtóereje az anesztetikumok kis (permanens vagy indukált) dipólusmomentumának a poláros fejszoportok közeli rétegével való kölcsönhatása – ez a hajtóerő nyilvánvalóan hiányzik a teljesen apoláros nem-anesztetikumoknál. Mindezek alapján az anesztetikus hatás vélhetőleg a külső preferált pozícióban lévő anesztetikumokhoz köthető.

3.2. A membrán méretei

A következőkben azt a kérdést vizsgáljuk meg, hogy hogyan hat az anesztetikus és nem anesztetikus hatású molekulák jelenléte, illetve a nyomás növelése a membrán oldal- és keresztirányú méretére, azaz a lipid molekulák felületigényére és a membránvastagságra, illetve az e két mennyiség szorzata alapján kapható molekuláris térfogatra. Az ezzel kapcsolatos eredményeket a 2. táblázat foglalja össze. Meg kell jegyezni, hogy a tiszta, légköri nyomású DPPC kettős réteg molekuláris felületigényére és moleku-

lális térfogatára rendelkezésre állnak kísérleti adatok: előbbire $62.2 \pm 2 \text{ \AA}^2$,⁴⁴ illetve $62.9 \pm 0.9 \text{ \AA}^2$,⁴⁸ utóbbira pedig $1232 \text{ \AA}^3$,⁴⁹ melyek kitűnően egyeznek a szimuláció során kapott $61.9 \text{ \AA}^2$ és $1228 \text{ \AA}^3$ értékekkel.

Amint az a 2. táblázatból kitűnik, a membrán molekuláris felületigénye minden membránban oldott molekula jelenlétében megnő, ám ez a növekedés jelentősen nagyobb az anesztetikumok, mint a nem-anesztetikumok esetén. Eredményeink tehát Ly és Longo úttörő kísérleteivel^{18,19} összhangban a membrán anesztetikumok hatására történő laterális dilatációját mutatják. A nyomás növelése viszont értelemszerűen laterális kontrakciót okoz, azaz a molekuláris felületigény megfelel az anesztézia szempontjából releváns membrántulajdonságok 2. fejezetben ismertetett kritériumainak.

rendszer	molekuláris felületigény ($\text{\AA}^2$)		membrán-vastagság ($\text{\AA}$)		molekuláris térfogat ($\text{\AA}^3$)	
	1 bar	600 bar	1 bar	600 bar	1 bar	600 bar
DPPC	61.9	-	39.7	-	1228	-
DPPC+DE	70.0	65.4	38.6	40.5	1351	1325
DPPC+PE	67.0	62.0	40.6	42.2	1359	1309
DPPC+CF	67.7	63.9	38.7	42.1	1309	1341
DPPC+CT	65.6	59.7	40.2	41.1	1318	1227

2. Táblázat. A szimulált membránok méretei

A membrán vastagsága, meglepő módon, anesztetikumok jelenlétében csökken, míg nem-anesztetikumok jelenlétében illetve a nyomás növelésének hatására megnő. Amint azt a következő alfejezetben látni fogjuk, ez a kézenfekvő várakozásokkal szembe menő eredmény a lipid láncok nyomás hatására történő rendeződésének a következménye.

Ezeket az eredményeket a membránban oldott molekulák előzőekben tárgyalt preferált pozíciói alapján tudjuk értelmezni. Az anesztetikumok elsődleges preferenciája a poláros/apoláros határfelület belső, apoláros oldalán való, lipid láncok közötti elhelyezkedés. Itteni jelenlétük hatására a lipid láncok egymástól némileg távolabb kerülnek, ami a membrán laterális dilatációját okozza. A lipidek közötti megnövekedett távolság viszont lehetőséget ad a láncok anesztetikumoktól távolabb eső, láncvég közeli szakaszának rendezetlenebb, konformációk felvételére, így a láncok visszakunkorodó végei legalábbis részben kitöltik a dilatáció okozta többlet szabad teret. A membrán közepén ezáltal felszabaduló extra szabad tér viszont oly módon töltődik be, hogy a membrán két rétege egymáshoz közelebb kerül. Az anesztetikus hatást nem mutató molekulák elsődleges preferenciája ezzel szemben a membrán közepén való elhelyezkedés, így amellet, hogy e molekulák az anesztetikumoknál lényegesen kisebb laterális dilatációt okoznak, a membrán két rétegét egymástól távolabb tolják, ami a membrán vastagságának növekedéséhez vezet.

Végezetül, ami a membrán térfogatát illeti, az a laterális és keresztirányú méretek ellentétes előjelű változásának eredményeként minden oldott molekula jelenlétében megnő, nyomás

hatására viszont valamelyest csökken. Ezek alapján eredményeink továbbra is összhangban vannak ugyan Mullins több mint hét évtizedes kritikus térfogat hipotézisével,¹⁰ ám annak okaként a korábban feltételezett vastagodás helyett a laterális dilatációt mutatják. A kritikus térfogat hipotézist ezért helyesebb, vagy legalábbis feltétlenül pontosabb volna kritikus felület hipotézisnek nevezni.

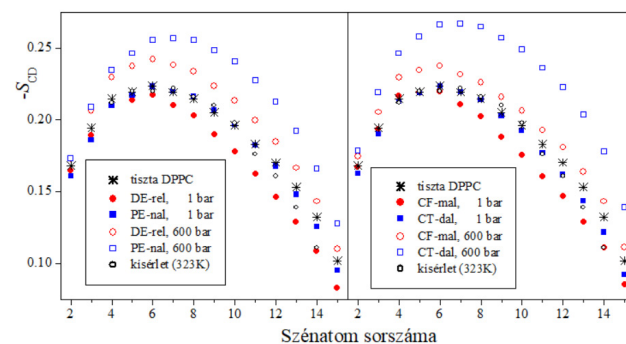
3.3. A csökkenő laterális sűrűség következményei

Amint láttuk, az anesztetikumoknak a poláros/apoláros határfelület közelében, annak belső oldalán való elhelyezkedésére vonatkozó elsődleges preferenciája a membrán laterális dilatációját okozza, ez pedig várhatóan számos további változáshoz vezet a membrán szerkezetében és dinamikájában. Mivel a nyomás növelése ezzel éppen ellentétes változást, azaz laterális kontrakciót okoz, az így okozott további változások is megfelelhetnek az anesztézia szempontjából való relevancia 2. fejezetben ismertetett kritériumainak. Munkánk során négy ilyen változást azonosítottunk, ezek a következők.

3.3.1. A lipid láncok orientációs rendezettsége. Az előző alfejezetben a membrán vastagságának anesztetikumok okozta csökkenését, illetve nyomás hatására történő növekedését a lipid láncok orientációs rendezettségének megfelelő megváltozásával magyaráztuk. Ennek igazolására kiszámítottuk minden szimulált membránban az úgynevezett deutérium rendparaméter (S_{CD}) profilját – e mennyiség deutérium CH_2 csoportok esetén mágneses magrezonancia (NMR) spektroszkópia segítségével mérhető. Az S_{CD} rendparamétert az alábbi módon számíthatjuk ki:^{50,51}

$$S_{CD} = \langle 3 \cos^2 \gamma - 1 \rangle / 2, \quad (3)$$

ahol γ az adott szénatom egyik C-H kötése és a membrán normálisa által bezárt szög, a $\langle \dots \rangle$ zárójel pedig sokaságátlagolásra utal. Nagyobb S_{CD} értékek rendezettebb, a membrán normálisa mentén elnyújtottabb lokális konfigurációkra utalnak.



5. Ábra. A DPPC láncok deutérium rendparamétere a szimulált membránokban.

Az S_{CD} paraméter szimulációkból nyert profilját az 5. ábra mutatja. A számított értékeket a DPPC molekula két láncára átlagoltuk; a szénatomok számozása a láncban az ész-

ter csoporthoz kapcsolódó atomtól a láncvégi CH_3 csoport szénatomja felé nő. Az ábrán feltüntetettünk a tiszta, légköri nyomású DPPC membránra vonatkozó kísérleti adatokat is,⁵² melyek számításainkkal jó egyezést mutatnak.

Amint látható, anesztetikumok jelenlétében a láncok lokális rendezettsége a 7. szénatomtól a membrán közepéig (azaz az anesztetikumok külső preferált pozíciójától befelé) egyértelműen csökken, míg nem-anesztetikumok esetén ez a változás minimális, és az is csak a láncok legvégét (12.-15. szénatom között) érinti. A nyomás növekedése viszont a lánc teljes hosszában a lokális rendezettség markáns növekedését okozza.

3.3.2. A lipid molekulák laterális mobilitása. A laterális sűrűség csökkenése vélhetően megnöveli a lipid molekulák oldalirányú diffúzióját is. Ezt igazolandó kiszámítottuk a DPPC molekulák laterális öndiffúziós állandóját ($D_{||}$) is a vizsgált membránokban. $D_{||}$ értéke az Einstein egyenlet⁵³ alapján az alábbi módon számítható:

$$D_{||} = \text{MSD}(t) / 4t, \quad (4)$$

ahol $\text{MSD} = \langle r_i^{YZ}(t_0+t) - r_i^{YZ}(t_0) \rangle^2$ a lipid molekulák oldalirányú (YZ síkbeli) átlagos négyzetes ellépéshossza, $r_i^{YZ}(t_0)$ és $r_i^{YZ}(t_0+t)$ pedig az i -edik DPPC molekula (P atom által megadott) helyzete az YZ síkban a t_0 illetve t_0+t időpillanatokban. A 4. egyenlet alapján $D_{||}$ értékét a számított $\text{MSD}(t)$ adatokhoz egyenest illesztve kaphatjuk meg.

A kapott laterális öndiffúziós állandó értékeket a 3. táblázat foglalja össze. Az eredmények ismét összhangban vannak az anesztézia szempontjából releváns tulajdonságokra vonatkozó kritériumainkkal, hiszen $D_{||}$ értéke ugyan mind anesztetikumok, mind nem-anesztetikumok jelenlétében megnő, ám ez a növekedés anesztetikumok esetén egyértelműen nagyobb, továbbá a nyomás növelése $D_{||}$ értékének csökkenéséhez vezet.

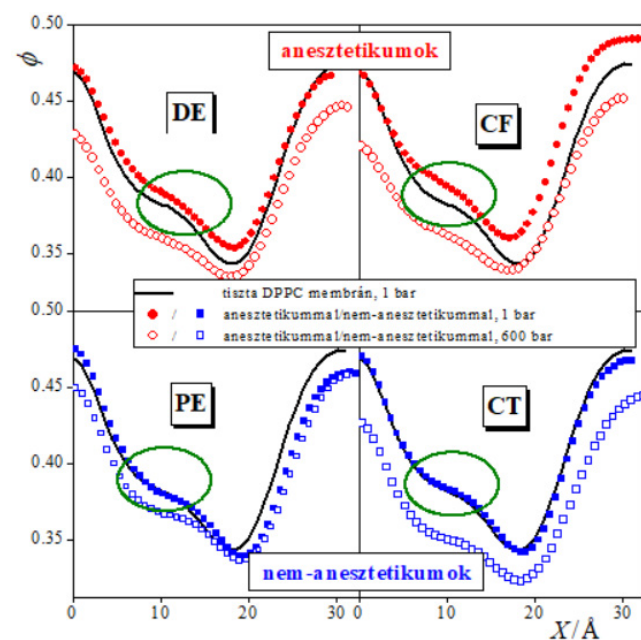
rendszer	1 bar	600 bar
DPPC	17.4	-
DPPC+DE	35.6	17.3
DPPC+PE	31.4	17.4
DPPC+CF	33.9	11.4
DPPC+CT	24.8	12.5

3. Táblázat. A DPPC molekulák laterális öndiffúziós állandója ($\mu\text{m}^2/\text{s}$ egységben) a szimulált membránokban.

3.3.3. A szabad térfogat profilja. Amint azt a korábbiakban többször is említettük, az oldalirányú sűrűség csökkenése vélhetőleg megnöveli a membránban található szabad térfogatot. A kérdés részletesebb vizsgálata érdekében kiszámítottuk a szabad térfogat hányadosának (ϕ) profilját a membránra merőleges X tengely mentén. ϕ értékét a következő módon becsültük. Minden mintakonfiguráción 5×10^5 teszt-pontot generáltunk véletlenszerűen, majd ellenőriztük, hogy hány teszt-pont esik atomok által le nem fedett térrészbe. Az atomok térfogatának meghatározásához sugarukat a hozzájuk tartozó Lennard-Jones távolság-paraméterrel (σ)

becsültük. ϕ értéke adott ΔX tartományban az itt található, atomok által le nem fedett térbe eső, illetve az összes itt található teszt-pont számának hányadosaként adódik.

A kapott szabad térfogati hányad profilokat az 6. ábra mutatja. A szabad térfogat a membrán közepén illetve a vizes fázisban maximumot, a fejcsoportok zsúfolt rétegében, $|X| = 20 \text{ \AA}$ körül minimumot, míg a poláros/apoláros határfelület belső, apoláros oldalán, a $10 \text{ \AA} \leq |X| \leq 13 \text{ \AA}$ tartományban egy vállat mutat, összhangban a membrán sűrűségprofiljával (3. ábra). Látható, hogy az említett váll környékén, a $10 \text{ \AA} \leq |X| \leq 15 \text{ \AA}$ tartományban mindkét itt vizsgált anesztetikum jelenléte megnöveli a szabad térfogati hányadot. Noha egyes esetekben a szabad térfogati hányad növekedése a membrán más részein is megfigyelhető, ezt a növekedést csak a poláros/apoláros határfelület belső oldalán, az anesztetikumok külső preferált pozíciója körül láthatjuk konzekvensen minden anesztetikum és membrán esetén.^{25-28,37,38} Ráadásul nem-anesztetikumok jelenléte e tartományban nem okoz látható változást a szabad térfogati hányadban, míg a nyomás növelése – a membrán más tartományaihoz hasonlóan – itt is megnöveli azt.

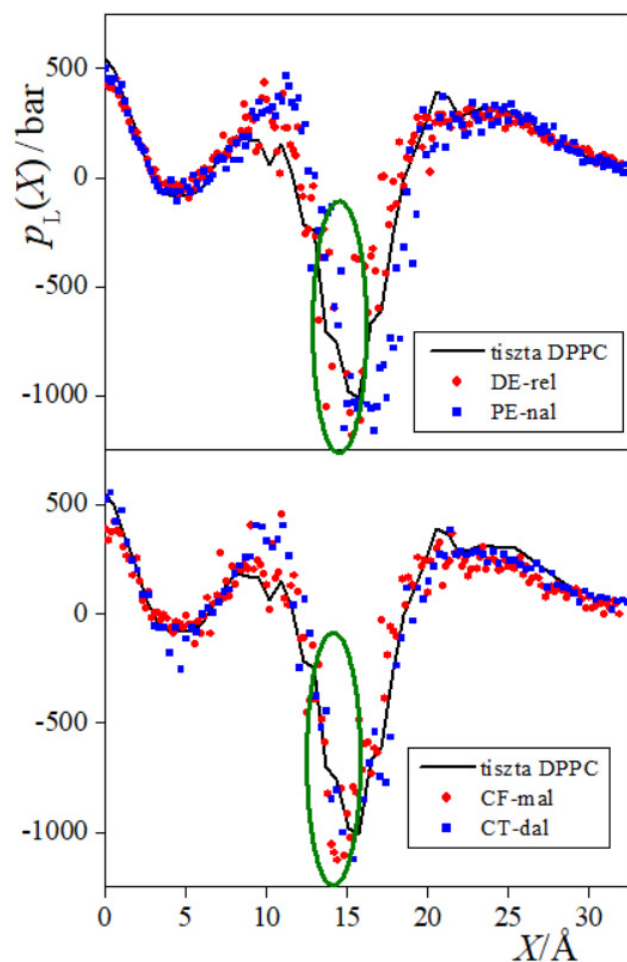


6. Ábra. A szabad térfogati hányad profilja a szimulált membránokban. A körök a profilok anesztézia szempontjából releváns tartományát jelzik.

3.3.4. Az oldalnyomás profilja. A fentiek alapján mind a lipid láncok lokális rendezettségének csökkenése, mind a lipid molekulák laterális diffúziójának növekedése, mind pedig a szabad térfogati hányad növekedése a poláros/apoláros határfelület apoláros oldalán egyértelmű korrelációt mutat az anesztetikus hatás megjelenésével. E korreláció kétségtelen meglétének ellenére azonban nem látszik ok-sági kapcsolat e tulajdonságok és az anesztézia jelensége között. A fenti összes változás azonban visszavezethető a membránban a külső preferált pozícióban lévő anesztetikumok által okozott laterális dilatációjára. Amennyiben azonban hasonló korrelációt találunk az oldalnyomás (p_L)

valamely tartományban történő változása és az anesztézia megjelenése között, az – a Cantor hipotézisen¹⁴ keresztül – már oksági kapcsolatba is hozható lenne az anesztéziával. Mivel a külső (skaláris) nyomás növelése hatására a nyomástenzor minden komponense, így az oldalnyomás is megnő, számunkra az oldalnyomás profil anesztetikumok hatására tapasztalható csökkenése lehet releváns.

A vizsgált membránokban számított oldalnyomás profilokat a 7. ábra mutatja. Látható, hogy az itt vizsgált mindkét anesztetikum (DE és CF) által egyöntetűen okozott oldalnyomás csökkenés a membránnak csak egy nagyon szűk tartományára, nagyjából a $13 \text{ \AA} \leq |X| \leq 16 \text{ \AA}$ intervallumra, azaz az anesztetikumok külső preferált pozíciójának közelére, a poláros/apoláros határfelület külső, poláros oldalára korlátozódik. Megfelelő X érték esetén azonban ez az oldalnyomás csökkenés akár néhány száz bar is lehet. Ez az effektus tehát, noha nagyon szűk távolságtartományra korlátozódik, összességében meglehetősen nagy. Hangsúlyozni kell, hogy az oldalnyomás csökkenését e tartományban többféle membrán, fázis, anesztetikum és modell mellett is minden esetben tapasztaltuk.^{25-28,38} Nem-anesztetikumok azonban nem okoznak látható változást az oldalnyomás értékében ebben a tartományban.



7. Ábra. Az oldalnyomás profilja a szimulált membránokban légköri nyomáson. A körök a profilok anesztézia szempontjából releváns tartományát jelzik.

Az oldalnyomásnak a poláros-apoláros határfelület külső, poláros oldalán anesztetikumok hatására történő csökkenésében sikerült tehát egy olyan membrán-tulajdonság változást találnunk, mely nem csak korrelál az anesztetikus hatás megjelenésével, de – a Cantor hipotézisen keresztül – oksági kapcsolatba is hozható azzal. Az oldalnyomás e tartományban tapasztalható csökkenését viszont a külső preferált pozícióban lévő anesztetikumok okozzák, hiszen azáltal, hogy a lipid láncok közé bebújva megnövelik azok egymástól való távolságát, azok egymással való kölcsönhatását is gyengítik. Különösen erős ez az effektus az anesztetikumok preferált pozíciója közelében, ahol a lipid molekulák megnövekedett távolságát még nem tudják konformációs változások érdemben kompenzálni, illetve a fejcsoportok zsúfolt rétegében, ahol eleve viszonylag erős kölcsönhatások lépnek fel a lipid molekulák poláros fejcsoportjai közt, amit a régió zsúfoltsága tovább erősít, így a kölcsönhatások erősségéből a laterális dilatáció hatására történő veszteség is itt a legnagyobb. A fenti két hatás eredője okozza azt, hogy az oldalnyomás szignifikáns mértékben az anesztetikumok külső preferált pozíciójától némiképp kijebb, a poláros/apoláros határfelületnek már a külső, poláros oldalán következik be.

A kapott eredmények értékeléséhez hangsúlyozni kell, hogy ez az effektus, bár önmagában nagy, csak egy igen szűk távolságtartományt érint, ami nem sokkal (3-4-szer) szélesebb, mint a profilok számításához általunk használt $1 \text{ \AA}$ széles távolságfelosztás. Ez egyrészt megnehezíti az effektus észlelését, másrészt felveti az eredmények pontosságának a kérdését is. Ugyanakkor hangsúlyozni kell, hogy kutatásaink során ilyen változást számos membránban és anesztetikum mellett konzekvensen tapasztaltunk, míg e változás hiányára egyetlen esetben sem láttunk példát. Végezetül jegyezzük meg, hogy a releváns effektus ilyen szűk távolságtartományra való korlátozódása nagyon is összhangban van Cantor hipotézisével, mely szerint az anesztézia kiváltását okozó fehérjék konformációs „át kapcsolását” az oldalnyomás profil *nem egyenletes módon* való megváltozása okozza. Eredményeink, azaz hogy az oldalnyomás profil anesztetikumok hatására csak egy 3-4 Å széles tartományban változik konzekvensen, itt viszont több száz bar csökkenés is felléphet, éppen ilyen markánsan egyenetlen változást jeleznek. Mindez megfelel annak a korábban már említett fizikai képnek, hogy az oldalnyomás adott, szűk rétegben való csökkenése lokálisan oldalirányba „meghúzza” az érintett csatornafehérjét, kinyitva ezzel az addig zárt csatornát. Értelemszerűen, ennek a képnek a további megerősítése vagy cáfolata most már az anesztézia szempontjából potenciálisan releváns csatornafehérjék, például a TREK-1 kálium ioncsatorna⁵⁴ jelenlétében történő szimulációkat igényelnek.

Hivatkozások

- Meyer, H. *Naunyn-Schmiedeberg's Archiv für Experimentelle Pathologie und Pharmakologie* **1899**, 42, 109-118.
- Overton, E. *Studien über die Narkose zugleich ein Beitrag zur allgemeinen Pharmakologie*; Gustav Fischer Verlag: Jena, 1901.
- Johnson, F. H.; Flagler, E. A. *Science* **1950**, 112, 91-92. <https://doi.org/10.1126/science.112.2899.91-a>
- Lever, M. J.; Miller, K. W.; Paton, W. D. M.; Smith, E. B. *Nature* **1971**, 231, 368-371. <https://doi.org/10.1038/231368a0>
- Halsey, M. J.; Wardley-Smith, B. *Nature* **1975**, 257, 811-813. <https://doi.org/10.1038/257811a0>
- Trudell, J. R.; Payan, D. G.; Chin, J. H.; Cohen, E. N. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1975**, 72, 210-213. <https://doi.org/10.1073/pnas.72.1.210>
- Kao, C. Y. *Pharmacol. Rev.* **1966**, 18, 987-1049. [https://doi.org/10.1016/S0031-6997\(25\)07158-3](https://doi.org/10.1016/S0031-6997(25)07158-3)
- Lee, A. G. *Nature* **1976**, 262, 545-548. <https://doi.org/10.1038/262545a0>
- Franks, N. P.; Lieb, W. R. *Nature* **1994**, 367, 607-614. <https://doi.org/10.1038/367607a0>
- Mullins, L. J. *Chem. Rev.* **1954**, 54, 289-323. <https://doi.org/10.1021/cr60168a003>
- Miller, K. W.; Pang, K. *Nature* **1976**, 263, 253-255. <https://doi.org/10.1038/263253a0>
- Haydon, D. A.; Hendry, B. M.; Levinson, S. R.; Requena, J. *Nature* **1977**, 268, 356-358. <https://doi.org/10.1038/268356a0>
- Ashcroft, R. G.; Coster, H. G. L.; Smith, J. R. *Nature* **1977**, 269, 819-820. <https://doi.org/10.1038/269819a0>
- Cantor R. S. *Biochemistry* **1997**, 36, 2339-2344. <https://doi.org/10.1021/bi9627323>
- Booker, R. D.; Sum, A. K. *Biochim. Biophys. Acta* **1828**, 2013, 1347-1356. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2013.01.016>
- Moskovitz, Y.; Yang, H. *Soft Matter* **11**, 2015, 2125-2138. <https://doi.org/10.1039/C4SM02667E>
- Jedlovsky, P. Simulation of Membranes Containing General Anesthetics. In: *Biomembrane Simulations. Computational Studies of Biological Membranes*; Berkowitz, M. L., Ed.; Taylor and Francis: New York, 2019; pp. 177-198, és az ott szereplő hivatkozások. <https://doi.org/10.1201/9781351060318-10>
- Ly, H. V.; Block, D. E.; Longo, M. L. *Langmuir* **18**, 2002, 8988-8995. <https://doi.org/10.1021/la026010q>
- Ly, H. V.; Longo, M. L. *Biophys. J.* **87**, 2004, 1013-1033. <https://doi.org/10.1529/biophysj.103.034280>
- Patra, M.; Salonen, E.; Terama, E.; Vattulainen, I.; Faller, R.; Lee, B. W.; Holopainen, J.; Karttunen, M. *Biophys. J.* **90**, 2006, 1121-1135. <https://doi.org/10.1529/biophysj.105.062364>
- Dickey, A. N.; Faller, R. *Biophys. J.* **92**, 2007, 2366-2376. <https://doi.org/10.1529/biophysj.106.097022>
- Oh, K. J.; Klein, M. L. *Bull. Korean Chem. Soc.* **30**, 2009, 2087-2092. <https://doi.org/10.5012/bkcs.2009.30.9.2087>
- Reigada, R. J. *Phys. Chem. B* **115**, 2011, 2527-2535. <https://doi.org/10.1021/jp110699h>
- Chen, J.; Chen, L.; Wang, Y.; Wang, X.; Zeng, S. *Sci. Rep.* **5**, 2015, 17235-1-6. <https://doi.org/10.1038/srep17235>
- Fábián, B.; Darvas, M.; Picaud, S.; Sega, M.; Jedlovsky, P. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2015**, 17, 14750-14760. <https://doi.org/10.1039/C5CP00851D>
- Hantal, G.; Fábián, B.; Sega, M.; Jójárt, B.; Jedlovsky, P. *BBA - Biomembranes* **1861**, 2019, 594-609. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2018.12.008>
- Rózsa, Z. B.; Hantal, G.; Szőri, M.; Fábián, B.; Jedlovsky, P. *J. Phys. Chem. B* **127**, 2023, 6078-6090. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.3c02976>
- Rózsa, Z. B.; Fábián, B.; Hantal, G.; Szőri, M.; Jedlovsky, P. *J. Mol. Liquids* **386**, 2023, 122405-1-9. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2023.122405>
- Janoff, A. S.; Miller, K. W. In *Biological Membranes*, Chapman, D., Ed.; Academic Press: London, 1982, pp. 417-476.
- Forrest, B. J.; Rodham, D. K. *Biochim. Biophys. Acta* **814**, 1985, 281-288. [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(85\)90446-8](https://doi.org/10.1016/0005-2736(85)90446-8)
- Heimburg, T.; Jackson, A. D. *Biophys. J.* **92**, 2007, 3159-3165. <https://doi.org/10.1529/biophysj.106.099754>
- Sierra-Valdez, F. J.; Ruiz-Suárez, J. C. *J. Phys. Chem. B* **117**, 2013, 3167-3172. <https://doi.org/10.1021/jp400367t>
- Græsbøll, K.; Sasse-Middelhoff, H.; Heimburg, T. *Biophys. J.* **106**, 2014, 2143-2156. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2014.04.014>
- Pickholz, M.; Saiz, L.; Klein, M. L. *Biophys. J.* **88**, 2005, 1524-1534. <https://doi.org/10.1529/biophysj.104.044354>
- Chanda, J.; Bandyopadhyay, S. *Langmuir* **22**, 2006, 3775-3781. <https://doi.org/10.1021/la053398r>
- Teräma, E.; Ollila, O. H. S.; Salonen, E.; Rowat, A. C.; Trandum, C.; Westh, P.; Patra, M.; Karttunen, M.; Vattulainen, I. *J. Phys. Chem. B* **112**, 2008, 4131-4139. <https://doi.org/10.1021/jp0750811>
- Darvas, M.; Hoang, P. N. M.; Picaud, S.; Sega, M.; Jedlovsky, P. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **14**, 2012, 12956-12969. <https://doi.org/10.1039/c2cp41581j>
- Fábián, B.; Sega, M.; Voloshin, V. P.; Medvedev, N. N.; Jedlovsky, P. *J. Phys. Chem. B* **121**, 2017, 2814-2824. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.7b00990>
- Fábián, B.; Imre, A.; Horvai, Gy.; Jedlovsky, P. *Magy. Kém. Folyóirat* **124**, 2018, 157-164. <https://doi.org/10.24100/MKF.2018.04.157>
- Klauda, J. B.; Venable, R. M.; Freitas, J. A.; O'Connor, J. W.; Tobias, D. J.; Mondragon-Ramirez, C.; Vorobyov, I.; MacKerell Jr., A. D.; Pastor, R. W. *J. Phys. Chem. B* **114**, 2010, 7830-7843. <https://doi.org/10.1021/jp101759q>
- Neria, E.; Fischer, S.; Karplus, M. *J. Chem. Phys.* **105**, 1996, 1902-1921. <https://doi.org/10.1063/1.472061>
- Berger, O.; Edholm, O.; Jähnig, F. *Biophys. J.* **72**, 1997, 2002-2013. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(97\)78845-3](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(97)78845-3)
- Berendsen, H. J. C.; Grigera, J. R.; Straatsma, T. P. *J. Phys. Chem.* **91**, 1987, 6269-6271. <https://doi.org/10.1021/j100308a038>
- Nagle, J. F.; Zhang, R.; Tristram-Nagle, S.; Sun, W.; Petrache, H. I.; Suter, R. M. *Biophys. J.* **70**, 1996, 1419-1431. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(96\)79701-1](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(96)79701-1)
- Pronk, S.; Páll, S.; Schulz, R.; Larsson, P.; Bjelkmar, P.; Apostolov, R.; Shirts, M. R.; Smith, J. C.; Kasson, P. M.; van der Spoel, D.; et al. *Bioinformatics* **29**, 2013, 845-854. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt055>
- Sega, M.; Fábián, B.; Jedlovsky, P. *J. Chem. Theory Comput.* **12**, 2016, 4509-4515. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.6b00576>
- <https://github.com/Marcello-Sega/gromacs/tree/virial/>

48. Nagle, J. F. *Biophys. J.* **64**, 1993, 1476-1481.
[https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(93\)81514-5](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(93)81514-5)
49. Wiener, M. C.; Tristram-Nagle, S.; Wilkinson, D. A.; Campbell, L. E.; Nagle, J. F. *Biochim. Biophys. Acta - Biomembranes* **938**, 1988, 135-142.
[https://doi.org/10.1016/0005-2736\(88\)90153-8](https://doi.org/10.1016/0005-2736(88)90153-8)
50. López-Cascales, J. J.; García de la Torre, J.; Marrink, S. J.; Berendsen, H. J. C. *J. Chem. Phys.* **104**, 1996, 2713-2720.
<https://doi.org/10.1063/1.470992>
51. Mezei, M.; Jedlovsky, P. Statistical Thermodynamics via Computer Simulation to Characterize Phospholipid Interactions in Membranes. In: *Methods in Molecular Biology, vol. 400: Methods in Membrane Lipid*; Dopico, A. M., Ed.; Humana Press: Totowa, NJ, 2007; pp. 127-144.
https://doi.org/10.1007/978-1-59745-519-0_9
52. Douliez, J. P.; Léonard, A.; Dufourc, E. J. *Biophys. J.* **68**, 1995, 1727-1739.
[https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(95\)80350-4](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(95)80350-4)
53. Allen, M. P.; Tildesley, D. J. *Computer Simulation of Liquids*; Clarendon Press: Oxford, 1987.
54. Pavel, M. A.; Petersen, E. N.; Wang, H.; Lerner, R. A.; Hansen, S. B. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **117**, 2020, 13757-13766.
<https://doi.org/10.1073/pnas.2004259117>

Molecular mechanism of general anesthesia

Although general anesthesia is used in the surgical practice for more than one and a half centuries, its molecular mechanism is still largely unknown. Well-established scientific results only indicate that the site of its action is the cell membrane, and the anesthetic effect is reverted at high pressure. Also, there is a growing consensus that whatever this mechanism is, it only affects certain properties of the cell membrane directly, while it affects only indirectly, through these membrane-related changes, the conformation of the relevant membrane-bound proteins.

Based on computer simulation results, here we propose a potential molecular mechanism which, together with the Cantor hypothesis (i.e., that anesthetics-induced non-uniform changes in the lateral pressure profile can result in a conformational switch of the related, most likely channel-forming proteins) can provide a causal explanation of general anesthesia. The key point is that the main positional preference of the slightly polar or strongly polarizable

general anesthetics – unlike that of chemically or, at least structurally similar non-anesthetics – is to stay at the apolar side of the apolar/polar interface, close to the dense region of the polar headgroups. Anesthetics located in this region push the nearby lipid tails farther away from each other, leading to a lateral swelling of the membrane which, in turn, increases lipid mobility and the free volume fraction, and decreases lipid tail ordering. More importantly, pushing the lipid molecules farther away from each other leads to a weakening of their lateral interaction, in particular, close to the position of the anesthetics and also in the dense region of the strongly interacting polar headgroups. As a consequence, lateral pressure decreases in the presence of anesthetics (while, evidently, it increases with increasing pressure) at the polar side of the apolar/polar interface, at the region of the ester groups, providing thus the non-uniform change of the lateral pressure profile required by the Cantor hypothesis.