

Université de Montréal

L'utilisation de l'halothane et de l'isoflurane  
en neurophysiologie visuelle chez le chat

par

Martin Villeneuve

Sciences neurologiques, Physiologie

Médecine

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures

en vue de l'obtention du grade M.Sc.

en sciences neurologiques

juillet, 2002

© Martin Villeneuve, 2002





Université de Montréal  
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulée:

L'utilisation de l'halothane et de l'isoflurane en  
neurophysiologie visuelle chez le chat

présenté par:

Martin Villeneuve

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Dr. Maurice Ptito

Président rapporteur

Dr. Christian Casanova

Directeur de recherche

Dr. Sophie Cuvelliez

Membre du jury

## RÉSUMÉ EN FRANÇAIS ET MOTS CLÉS

L'halothane est à l'heure actuelle, l'anesthésiant volatil le plus répandu en recherche animale. Comme plusieurs autres agents, il produit d'importantes altérations aux organes de l'animal, tout spécialement au cerveau. L'utilisation d'un agent plus récent, l'isoflurane, procure certains avantages comparativement à l'halothane. Par contre, personne n'est dans une bonne position pour recommander l'utilisation de l'isoflurane en électrophysiologie, car ses effets sur les fonctions cérébrales sont peu connus. En sachant que les deux agents agissent de façon différente sur l'activité globale du cerveau (EEG, PEV), il est probable qu'ils agissent également de façon différente sur l'activité unitaire des neurones. Il est fondamental de résoudre cette incertitude lorsqu'on considère qu'un bon nombre d'études explorent les fonctions de régions du cerveau en se basant sur les propriétés des cellules constituant ces régions. L'objectif de cette étude est de déterminer, entre l'halothane et l'isoflurane, l'anesthésique de choix pour l'étude des propriétés des champs récepteurs des cellules du cortex visuel primaire du chat. La distinction principale entre les deux agents anesthésiques testés est que, à des multiples de CAM équivalents, l'isoflurane réduit davantage l'amplitude des réponses visuelles optimales. Compte tenu de son effet dépressur, l'isoflurane ne serait pas l'agent anesthésique à recommander pour les études électrophysiologiques en vision et possiblement aussi pour tous les autres systèmes sensoriels.

Mots clés: halothane, isoflurane, électrophysiologie, vision, chat, anesthésiologie, pharmacodynamique, cortex strié

## ENGLISH SUMMARY AND KEY WORDS

Halothane is presently the most widely used volatile anesthetic in animal research. As many anesthetics, it produces several alterations on organs, especially on the brain. Recently, another volatile anesthetic, isoflurane, emerged in neuroscience laboratories. Despite the fact that isoflurane appears to be a better anesthetic than halothane for animal brain research, no one is in a firm position to recommend it in electrophysiology research because its effect on specific brain functions are relatively unknown. Given that both anesthetics yield different action on gross brain activity (EEG, VEP), it is likely that they may also differentially affect single neuron activity. This is fundamental when considering that many studies investigate the function of brain areas on the basis of response properties of their comprising neurons. The main goal of this study is to determine the best anesthetic between halothane and isoflurane to study receptive field properties of neurons in the cat's primary visual cortex. Results indicate that various cell response parameters differ under halothane compare to isoflurane anesthesia. The main difference between the two anesthetics tested is the greater depression of the cell optimal visual response amplitude induced by isoflurane anesthesia at equipotent concentration. Due to its depressive effects isoflurane may not be the ideal anesthetic for electrophysiological studies in vision as well as other sensory systems.

Key words: halothane, isoflurane, electrophysiology, vision, cat, anesthesiology, pharmacodynamic, striate cortex.

## TABLE DES MATIÈRES

<b>RÉSUMÉ EN FRANÇAIS ET MOTS CLÉS.....</b>	<b>iv</b>
<b>ENGLISH SUMMARY AND KEY WORDS.....</b>	<b>v</b>
<b>TABLE DES MATIÈRES.....</b>	<b>vi</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX.....</b>	<b>ix</b>
<b>LISTES DES FIGURES.....</b>	<b>x</b>
<b>LISTE DES ABRÉVIATIONS.....</b>	<b>xi</b>
<b>REMERCIEMENTS.....</b>	<b>xii</b>
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
<i>Techniques d'administration.....</i>	<i>3</i>
<i>Agents anesthésiques.....</i>	<i>5</i>
<i>Halothane.....</i>	<i>6</i>
<i>Isoflurane.....</i>	<i>8</i>
<i>Impact sur la physiologie de l'animal.....</i>	<i>9</i>
<i>Système respiratoire.....</i>	<i>9</i>
<i>Système cardio-vasculaire.....</i>	<i>11</i>
<i>Système cérébro-vasculaire.....</i>	<i>12</i>
<i>Système hépatique.....</i>	<i>13</i>
<i>Fonctions cérébrales.....</i>	<i>15</i>
<i>Implications pour le chercheur.....</i>	<i>18</i>
<i>Mécanismes d'action.....</i>	<i>21</i>
<i>Buts de l'étude.....</i>	<i>22</i>

ARTICLE .....	24
INTRODUCTION.....	26
MATERIALS AND METHOD .....	28
<i>Animal preparation</i> .....	28
<i>Electrophysiological recordings</i> .....	30
<i>Visual stimulation</i> .....	31
<i>Parameters of anesthesia</i> .....	31
<i>Experimental protocol</i> .....	32
<i>Data analysis</i> .....	34
<i>Histology</i> .....	35
RESULTS .....	37
<i>Physiological measures</i> .....	37
<i>Heart rate</i> .....	37
<i>Lungs pCO<sub>2</sub></i> .....	38
<i>Body temperature</i> .....	38
<i>Cerebral functions</i> .....	39
<i>Electroencephalogram</i> .....	39
<i>Single cell response amplitude</i> .....	40
<i>Optimal spatial frequency and tuning function</i> .....	41
<i>Orientation and direction selectivity functions</i> .....	42
<i>Response profile</i> .....	43
<i>Spontaneous activity</i> .....	44
DISCUSSION .....	46
<i>Cardiopulmonary functions</i> .....	46

<i>Brain recordings</i> .....	49
TABLE LEGEND .....	62
FIGURE LEGENDS.....	63
REFERENCES .....	66
<b>DISCUSSION .....</b>	<b>77</b>
<i>Fonctions cardio-pulmonaires</i> .....	78
<i>Fréquence cardiaque</i> .....	79
<i>pCO<sub>2</sub> pulmonaire</i> .....	81
<i>Température du corps</i> .....	82
<i>Électrophysiologie</i> .....	83
<i>Électroencéphalogramme</i> .....	84
<i>Enregistrements unitaires</i> .....	86
<i>Considérations méthodologiques</i> .....	91
<i>Expériences futures</i> .....	94
<i>Conclusion</i> .....	96
<b>SOURCES DOCUMENTAIRES .....</b>	<b>97</b>



**LISTE DES TABLEAUX****MÉMOIRE**

**Tableau I.** *Implications physiologiques d'une anesthésie.* ..... 20

**ARTICLE**

**Table 1.**..... 54

**LISTES DES FIGURES****MÉMOIRE**

**Figure 1.** *Structure chimique de l'halothane et de l'isoflurane.* ..... 7

**ARTICLE**

**Figure 1.**..... 55

**Figure 2.**..... 56

**Figure 3.**..... 57

**Figure 4.**..... 58

**Figure 5.**..... 59

**Figure 6.**..... 60

**Figure 7.**..... 61

**LISTE DES ABRÉVIATIONS**

Br	Brome
C	Carbone
c/deg	Cycle par degré
CAM	Concentration alvéolaire minimum
Cl	Chlore
EEG	Électroencéphalogramme
F	Fluor
GABA	acide gamma-aminobutyrique
GABA <sub>A</sub>	Récepteur acide gamma-aminobutyrique type A
H	Hydrogène
h. b.	Heart beat
MAC	Minimum alvéolar concentration
mV	Millivolt
N <sub>2</sub> O	Protoxyde d'azote
O	Oxygène atomique
O <sub>2</sub>	Oxygène
pCO <sub>2</sub>	Pression partielle de dioxyde de carbone
PEA	Potentiel évoqué auditif
PES	Potentiel évoqué somatosensoriel
PEV	Potentiel évoqué visuel
PSTH	Post stimulus time histogram
sec	Seconde
sp/bin	Spike per bin

**LISTE DES ABRÉVIATIONS (SUITE)**

VEP                      Visually evoked potential

## REMERCIEMENTS

Merci à Christian Casanova, mon directeur de recherche, pour tes judicieux conseils et commentaires. Merci surtout pour ta patience, qui m'a permis de compléter ce projet bien au-delà des échéanciers prévues et ce, sans trop me faire engueuler. Merci également de mettre en scène un laboratoire où on se sent rapidement chez soi et où l'apprentissage se mêle parfaitement avec la bonne humeur. Un atmosphère qui donne le goût de rester pour faire un doctorat de 8 ans avec 14 projets...

Un gros merci également à Karine qui m'a appris la vie de laboratoire avec une patience exceptionnelle et un professionnalisme remarquable. Merci également pour m'avoir enlevé énormément de stress lors de la pré-anesthésie et de m'avoir fais découvrir la joie des sushi.

Merci aussi à Brian et Fred sans quoi le début de ce projet aurait été des plus chaotique. Je me sens des plus fortunés d'avoir fait mes débuts en votre compagnie et d'avoir partager notre stress des premières chirurgies: «bon O.K., je vais la faire la canule!!!». Merci pour le fun qu'on se fait dans les congrès et pour les nombreuses discussions sur le sort de l'humanité et comment on fait une ligne droite dans Illustrator 9.0 ...

À Odile, pour m'avoir donné de judicieuses recommandations sur le PMLS et de m'avoir enseigné l'art de faire le ménage du labo. Merci surtout pour les nombreux entretiens à propos de tout et de rien qui commence toujours par un très subtil: «Pis..... comment ça va?».

Merci à l'équipe de filles du labo (Odile, Bénédicte et Karine) pour les multiples tentatives de me trouver quelqu'UNE pour me divertir lors des congrès, avec le succès qu'on connaît. Lâchez pas, c'est pas perdu!!!

À Gino, Monsieur Hyper-réponse, pour l'impressionnante rigueur dans ton travail, pour les nombreuses soirées qui se sont terminées beaucoup plus tard que prévues et les idées de génie que tu peux avoir à 10h55 PM. Un jour, j'ai espoir, nous ne serons plus trahi par le matériel!!!

Merci à Denis pour ton esprit critique infatigable, ton amour de la science et tes nombreuses aventures plus incroyables les unes que les autres.

Merci à ma petite sœur, Geneviève, pour ta bonne humeur, ta joie de vivre, bref merci d'être simplement là. Merci également d'écouter toutes mes niaiseries!

Merci au Réseau-Vision pour la bourse qui m'a permis d'arrêter de manger de la pizza à la pointe et d'aller voir ce qu'il y avait de l'autre côté de la rue chez ExoFruit.

Finalement, merci à ma famille: Mimi, Guy, Jean-Pat et Hugo pour le support qui m'a permis d'évacuer à plus d'une reprise, merci énormément, je vous aime. Un merci tout spéciale à mes parents pour ne pas m'avoir déshérité parce que je plante des clous dans la tête des chats...

Un gros MERCI à tous et à toutes!!!

## ACCORD DES COAUTEURS

### 1. Identification de l'étudiant et du programme

Martin Villeneuve ( [REDACTED] )

Maîtrise Sciences Neurologiques (2-530-1-0)

### 2. Description de l'article

Auteurs : Villeneuve, Martin et Casanova, Christian.

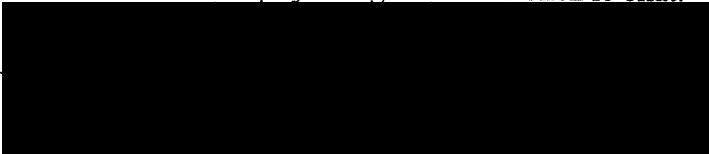
Titre : On the use of isoflurane versus halothane for single cell recording in the primary visual cortex.

L'article est en phase finale de préparation et sera soumis à la revue *Anesthesiology*.

### 3. Déclaration de tous les coauteurs autres que l'étudiant

À titre de coauteur de l'article identifié ci-dessus, je suis d'accord pour que Martin Villeneuve inclue cet article dans son mémoire de maîtrise qui a pour titre : L'utilisation de l'halothane et de l'isoflurane en neurophysiologie visuelle chez le chat.

Christian Casanova  
Coauteur



01-04-2002  
Date

*Se non è vero, è bene trovato*



## **INTRODUCTION**

Le cerveau et son fonctionnement demeure un des grands mystères de la nature. L'étude des mécanismes impliqués dans la perception visuelle est sans aucun doute le domaine de recherche le plus vaste et le plus prolifique pour décortiquer les mécanismes cognitifs. Les modèles animaux, principalement le singe et le chat, sont un choix de prédilection pour l'analyse et l'investigation de la fonction visuelle. Le chat est un choix très avantageux considérant qu'il requiert des installations beaucoup plus modestes que le singe. Les chats étant relativement difficiles à entraîner, les études utilisant comme modèle le chat éveillé sont plutôt rares, ce dernier étant généralement utilisé sous anesthésie. Il y a plusieurs aspects importants à regarder lorsqu'un animal est sous anesthésie: la circulation sanguine, la ventilation, l'oxygénation, l'état des fonctions neurologiques, etc. Plusieurs travaux se sont intéressés à la circulation, la ventilation et l'oxygénation de l'animal sous anesthésie, mais il n'existe pas d'études comparatives approfondies sur les effets de différents agents anesthésiques sur les fonctions neuronales.

Une anesthésie générale, que ce soit par inhalation ou injection, va affecter à divers degrés, les organes et fonctions de l'animal, tout particulièrement les fonctions cérébrales. Dans le domaine des neurosciences, où un des objectifs est de mieux comprendre les propriétés fonctionnelles des neurones et, par extension, des structures cérébrales, il est primordial de connaître les effets d'un protocole anesthésique sur les neurones pour ainsi permettre une interprétation juste et adéquate des résultats.

Dans le domaine des neurosciences de la vision utilisant le chat comme modèle animal pour déterminer les propriétés des neurones et structures visuelles, différents protocoles d'anesthésie sont utilisés. L'objectif de cette étude est de déterminer l'impact des deux protocoles anesthésiques les plus utilisés en électrophysiologie de la vision chez le chat, soit l'halothane et l'isoflurane administré en complément de 66% N<sub>2</sub>O et 33% d'O<sub>2</sub>.

### Techniques d'administration

(Les sections Techniques d'administration et Agents anesthésiques présentent des notions qui ont fait l'objet d'études intensives et qui sont généralement acceptées par la communauté scientifique. Les informations présentées dans ces sections sont, sauf lors d'avis contraire, tirées des livres de références suivants: Eger, 1985a; Hall et Taylor, 1994; Kohn et al., 1997; McKelvey et Hollingshead, 2000; Miller, 2000). L'anesthésie par inhalation est une des techniques les plus couramment utilisées tant dans le milieu de la médecine humaine, de la médecine vétérinaire qu'en recherche. Un contrôle de la concentration d'agent administré rendu facile avec les vaporisateurs est certainement un avantage qui favorise grandement cette technique. Les agents anesthésiques par inhalation entrent et sortent (voir plus loin) du corps par le système respiratoire, en grande majorité, ce qui permet de modifier rapidement la concentration d'anesthésique dans le sang et le cerveau. Si le niveau d'anesthésie est insuffisant, la concentration d'agent anesthésique administré

peut être augmentée, et inversement, si le niveau d'anesthésie est trop profond, la concentration inspirée peut être réduite et le surplus, éliminé par la ventilation. Au contraire, la profondeur d'anesthésie ne peut être modifiée avec aussi d'aisance avec les agents anesthésiques injectables. Si le niveau d'anesthésie est trop profond après une injection d'agent anesthésique, seul le temps peut engendrer une diminution de la profondeur d'anesthésie. C'est pourquoi les agents anesthésiques volatiles sont plus flexibles. De plus, les agents anesthésiques injectables engendrent un plus haut niveau de toxicité comparativement aux agents anesthésiques volatiles principalement dû aux mécanismes d'élimination impliqués (agent injectable: élimination après une redistribution des drogues dans tout le corps pour ensuite être métabolisées par le foie et les reins; agent volatils: élimination se fait principalement par l'expiration de l'agent par les poumons).

Outre le contrôle du niveau d'anesthésie et les procédés d'élimination, les agents anesthésiques volatils présentent d'autres avantages non négligeables. L'intubation de l'animal nécessaire à une anesthésie par inhalation permet une modification du niveau d'O<sub>2</sub> administré à l'animal (jusqu'à 100%). Sans l'ajout d'un masque ou d'une intubation, l'animal sous une anesthésie par injection est limitée au 20% d'O<sub>2</sub> de l'air ambiant. La présence d'un système de ventilation, qui inclue généralement un tube endotrachéal, augmente la sécurité de l'animal, car le personnel peut rapidement réagir à une hypoventilation ou un arrêt respiratoire. Ses composantes contribuent grandement à maintenir un support physiologique

adéquat (oxygénation et ventilation) et à réduire les risques de complications. Les vaporisateurs qui administrent les agents anesthésiques volatiles permettent également de mesurer avec précision les concentrations d'agents volatiles qui sont administrés à l'animal, ce qui en résulte une plus grande sécurité des conditions d'anesthésie.

L'anesthésie par inhalation n'est toutefois pas une technique parfaite. Contrairement aux agents injectables qui ne demandent pas d'équipement spécialisé et sont, en occurrence, plus économiques, les agents anesthésiques volatiles demandent un appareillage de base relativement plus complexe pour leur administration. De plus, le gaz expiré par l'animal ou par des fuites de l'équipement peuvent polluer l'environnement de la salle opératoire, ce qui risque de créer des complications sérieuses au niveau de la santé du personnel (voir plus loin) si le milieu n'est pas desservi par un système de ventilation adéquat.

Somme toute, l'anesthésie par inhalation présente des avantages certains comparativement à l'anesthésie par injection, ce qui explique pourquoi un protocole d'anesthésie par inhalation est plus souvent utilisé. C'est également pour cette raison que la présente étude se concentre sur l'évaluation de l'impact d'une anesthésie par inhalation sur les propriétés des cellules nerveuses du chat.

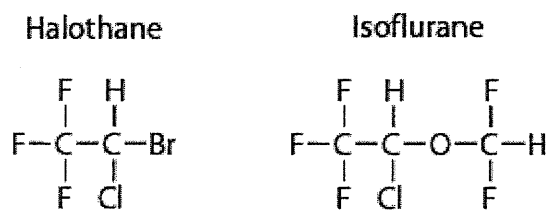
### Agents anesthésiques

Cette étude se concentre sur les protocoles anesthésiques les plus utilisés, particulièrement en recherche. L'agent anesthésique le plus utilisé est, encore aujourd'hui, l'halothane. Présentant moins de contre-indications pour l'animal et devenant de plus en plus populaire, l'isoflurane semble une bonne alternative à l'halothane.

### *Halothane*

Cet agent est le plus étudié au point de vue pharmacologique et le plus courant des agents anesthésiques en recherche. Le *2-bromo-2-chloro-1, 1, 1-trifluoro-ethane* ( $C_2HBrClF_3$ ; figure 1) a été synthétisé en 1951 par Suckling et Raventos (Bull, 1997). Ce liquide incolore, non-explosif, non-réactif à la chaux sodée est stable sous la lumière avec l'ajout de 0.01% de thymol. L'halothane a un coefficient de solubilité dans le sang bas et une solubilité modérée dans les graisses, ce qui procure une induction et une récupération de l'anesthésie relativement rapide. Une solubilité modérée dans les lipides engendre une absorption partielle de l'agent dans les graisses de l'animal au lieu d'être éliminé lors de l'expiration. Cette quantité d'halothane emmagasinée dans les graisses de l'animal est métabolisée par le foie avec une élimination des métabolites par les reins. Cet agent présente une concentration alvéolaire minimale (CAM; Merkel et Eger, 1963) de 1,14% (Steffey et al., 1974) se situant entre l'isoflurane (1.63%; Steffey et Howland, 1977) et le métoxyflurane

**Figure 1. Structure chimique de  
l'halothane et de l'isoflurane.**



(0.23% ; Cullen, 1986). Cette valeur représente la concentration d'agent anesthésique nécessaire pour que l'animal réagisse dans 50% des cas à une stimulation nociceptive. L'halothane est également modérément soluble dans le caoutchouc, ce qui peut être important pour le personnel, car l'halothane peut être absorbé par les différentes parties en caoutchouc du système d'anesthésie (boyaux, ballons, etc). Une relâche lente et continue d'agents anesthésiques peut ainsi produire un retardement du réveil de l'animal ou engendrer une exposition indésirée du personnel.

### *Isoflurane*

L'isoflurane a été utilisé pour la première fois en 1981. Le *1-chloro-2, 2, 2-trifluoroethyl* ( $C_3H_2ClF_5O$ ; figure 1) de plus en plus utilisé en clinique vétérinaire, mais son usage en recherche, qui demeure encore limité, augmente en popularité. Comparativement à l'halothane, l'isoflurane semble présenter certains avantages pour l'animal, ce qui explique l'intérêt grandissant qu'il suscite et les nombreuses études qui tentent de mieux saisir son fonctionnement. Le faible coefficient de solubilité dans le sang de l'isoflurane jumelé à une faible absorption dans le gras permet une induction et un recouvrement rapide de l'anesthésie, plus rapide que l'halothane (Hikasa et al., 1996). Ce faible coefficient de solubilité permet également un changement rapide du niveau d'anesthésie pendant le déroulement d'une chirurgie ou d'une expérience. Comme l'indique la valeur CAM de 1.63%, une concentration plus élevée d'isoflurane est nécessaire pour procurer une anesthésie cliniquement



significative par rapport à la concentration d'halothane. La solubilité de l'isoflurane dans le caoutchouc est très faible ce qui fait qu'il n'y a presque pas d'absorption de l'agent dans les différentes composantes du système d'anesthésie, ce dernier est donc moins susceptible de polluer l'environnement dans lequel gravite le personnel.

### Impact sur la physiologie de l'animal

#### *Système respiratoire*

De par la façon dont les agents anesthésiques volatiles sont administrés, il est clair que le système respiratoire est grandement affecté lors d'une anesthésie de ce type. Une analyse exhaustive des altérations du système respiratoire a déjà été accomplie par Benumof (2000). Chez le chat, la fréquence respiratoire est tout d'abord grandement réduite lors d'une augmentation de la concentration d'halothane (Nishoni et Honda, 1980). Chez le chien 2.9 CAM d'halothane provoque un arrêt respiratoire (Regan et Eger, 1967). En prenant en considération que l'halothane diminue davantage la fréquence respiratoire chez le chat que chez le chien (Grandy et al., 1989), cela suggère qu'un arrêt respiratoire chez le chat surviendrait à des valeurs plus basses que 2.9 CAM. Donc, la fréquence respiratoire du chat est très affectée par une anesthésie à l'halothane.

Les bronches sont également grandement affectées par l'halothane. Il a été démontré que l'halothane produit une broncodilatation importante (Algan et al., 1974), qui engendre une diminution de la résistance des voies respiratoires. Ce produit est donc grandement favorisé pour des sujets présentant des déficiences respiratoires.

Pour ce qui est de l'isoflurane, il semble que cet agent produise une plus grande irritation des voies respiratoires qu'une concentration équivalente d'halothane (Doi et Ikeda, 1993). Cela peut causer de sérieux problèmes si l'anesthésie de l'animal s'étend sur quelques jours comme dans les expériences électrophysiologiques, car une irritation importante de la trachée engendre une augmentation de la production de sécrétions trachéales et ainsi nuit à l'administration d'agents anesthésiques par les voies respiratoires.

Il semble que l'halothane diminue de façon moins importante la fréquence respiratoire de l'animal comparativement à l'isoflurane (Grandy et al., 1989; Hodgson et al., 1998). Par contre, les deux agents agissent de la même façon sur le volume respiratoire en le modifiant de façon inversement proportionnel à la concentration d'agent anesthésique (Grandy et al., 1989).

Malgré que ces deux agents altèrent différemment le système respiratoire, il ne semble pas que l'un ou l'autre se démarque grandement. Les deux agents affectent le système respiratoire à leur façon présentant des points positifs et négatifs. Les altérations produites par l'halothane et l'isoflurane sur le système respiratoire ne facilitent pas le choix sur lequel des deux agents devrait être favorisé pour le bien être de l'animal.

### *Système cardio-vasculaire*

Le système cardio-vasculaire est très affecté par une anesthésie générale. Une anesthésie à l'halothane diminue le débit sanguin et la pression artérielle du chat (Ingwersen et al., 1988). Cette relation est par surcroît sensible à la quantité d'halothane administrée car une augmentation de la concentration produit une diminution du débit sanguin ainsi que de la pression artérielle. La fréquence cardiaque, pour sa part, n'est pas affecté par l'administration d'halothane et c'est pour cette raison qu'il n'est pas un bon indicateur de la profondeur d'anesthésie, contrairement à la pression artérielle (Grandy et al., 1989). Malgré cette information, plusieurs laboratoires utilisent la fréquence cardiaque pour évaluer la profondeur d'anesthésie de l'animal.

Le cœur est également très affecté par l'halothane qui le rend sujet à l'arythmie en augmentant la sensibilité des cellules du nœud sinusal (Katz et Katz, 1966; Johnston et al., 1976; Merlos et al., 1980; Hikasa et al., 1996). Donc, l'halothane affecte de façon très importante le système cardio-vasculaire.

De façon similaire à l'halothane, l'isoflurane cause une diminution de la pression artérielle qui est généralement associée avec une vasodilatation systémique (Todd et Drummond, 1984). Une autre similarité entre l'halothane et l'isoflurane est qu'une augmentation de la concentration d'isoflurane ne semble pas affecter la fréquence cardiaque du chat (Steffey et Howland, 1977; Grandy et al., 1989). Cependant, l'isoflurane se démarque de l'halothane en

produisant un meilleur maintien du débit sanguin (Hodgson et al., 1998) et n'augmente pas la sensibilité du cœur aux catécholamines (Bednarski et Majors, 1986). C'est pourquoi l'isoflurane est généralement recommandé, au détriment de l'halothane, pour les animaux avec une déficience cardiovasculaire.

### *Système cérébro-vasculaire*

Les fonctions du système cérébro-vasculaire sont d'autres paramètres grandement affectés par une anesthésie générale. L'halothane est un agent qui augmente de façon importante le débit sanguin cérébral des chats, ce qui suggère que cet agent est un vasodilatateur cérébral très efficace (Todd et al., 1982; Todd et Drummond, 1984; Stoelting, 1987; Drummond et Patel, 2000). Une augmentation de la pression intracrânienne se produit en parallèle avec les modifications de la perfusion du cerveau, ce qui fait de l'halothane un anesthésique à éviter en neurochirurgie, spécialement lorsqu'une craniotomie est faite (Drummond et al., 1983; Todd et Drummond, 1984). Ce produit diminue également l'autorégulation du débit sanguin cérébral (Drummond et al., 1983; Todd et Drummond, 1984).

Par contre, l'isoflurane est généralement considéré comme l'agent anesthésique de choix en neurochirurgie. À de faibles concentrations (<1.2 CAM), l'isoflurane n'affecte pas le débit sanguin cérébral. Cependant, à des concentrations élevées (>1.2 CAM), le débit sanguin cérébral est augmenté, tout

en restant à des niveaux moindre que l'halothane (Theye et Michenfelder, 1968; Cucchiara et al., 1974; Michenfelder et Cucchiara, 1974; Murphy et al., 1974; Todd et al., 1982; Todd et Drummond, 1984). L'autorégulation cérébrale en réponse au changement de pression artérielle est préservée sous anesthésie à l'isoflurane, contrairement à l'halothane (Drummond et al., 1983; Todd et Drummond, 1984). Le maintien de l'autorégulation lors d'une anesthésie à l'isoflurane est bénéfique en limitant l'augmentation de la pression artérielle sur la pression intracrânienne (Frost, 1984). Une anesthésie à l'isoflurane engendre une augmentation de la pression intracrânienne, causée par une vasodilatation cérébro-vasculaire, mais ce à des niveaux beaucoup plus faibles que l'halothane (Todd et al., 1982; Todd et Drummond, 1984; Stoelting, 1987; Drummond et Patel, 2000). De plus, ces changements limités peuvent être contrôlés par une hyperventilation, car la circulation cérébrale répond aux changements de  $p\text{CO}_2$  (Eger, 1985a).

### *Système hépatique*

Comme toutes les autres drogues, les agents anesthésiques sont plus ou moins métabolisés par le foie. L'halothane est particulièrement impliqué lorsqu'il est question d'hépatotoxicité en anesthésie. Les effets néfastes sont souvent exagérés par le fait qu'il y a une diminution du débit sanguin du foie liée à une anesthésie à l'halothane (Stoelting, 1987). La capacité de métabolisme du foie est également atteinte lors d'une anesthésie à l'halothane

chez le chien (Reilly et al., 1985) et l'humain (Baden et Rice, 2000). La majeure partie de l'halothane inspiré est rejetée lors de l'expiration, mais une partie est métabolisée par le foie. Chez l'humain, l'halothane est l'agent anesthésique le plus métabolisé par le foie, après le méthoxyflurane (Rehder et al., 1967; Holaday et al., 1970). Les métabolites produits chez l'humain et le rat par l'halothane sont l'acide trifluoroacétique, qui est éliminé dans l'urine, ainsi que des ions de chlore, de brome et de fluor (Baden et Rice, 2000).

Comme pour l'halothane, une augmentation de la concentration d'isoflurane produit une diminution du débit sanguin du foie (Hall et Taylor, 1994). Par contre, l'intégrité et le fonctionnement des cellules du foie ne semblent pas être affectés lors d'une anesthésie à l'isoflurane. Ce maintien des fonctions hépatiques sous une anesthésie à l'isoflurane s'explique par le fait que chez l'humain, il n'y a que 0.2% de l'isoflurane administré qui subit un métabolisme hépatique (Holaday et al., 1975). La dégradation de l'isoflurane produit des ions fluorides, mais la quantité générée est très en deçà des niveaux cliniquement néfastes (Eger, 1985a; Eger, 1985b; Baden et Rice, 2000). Il n'y a pas de données analogues pour le chat, mais il est probable que les caractéristiques de biotransformations de l'isoflurane soient similaires à celles observés chez l'humain.

### *Fonctions cérébrales*

Un nombre limité d'études se sont concentrées sur les implications des agents anesthésiques dans le maintien des fonctions cérébrales. Les travaux réalisés se sont intéressés principalement à l'activité générale du cerveau révélée par des enregistrements électroencéphalographiques (EEG). Il a été démontré, il y a déjà plusieurs années, que la présence d'halothane affectait l'EEG du chat en augmentant la proportion d'ondes à fréquences lentes (Ikeda et Wright, 1974). Plus récemment, Ogawa et al. (1992) présentaient des résultats comparant les effets de l'halothane et de l'isoflurane sur le cerveau des chats. Leurs travaux démontraient qu'une augmentation de la concentration d'halothane ou d'isoflurane réduisait l'activité multi-unitaire des cellules de la formation réticulée, diminuant ainsi l'activité générale de l'EEG. Cette diminution de l'activité de l'EEG produite par l'halothane était moins importante que celle induite par des concentrations équivalentes d'isoflurane, ce qui a été confirmé par les travaux de Tsushima et al. (1998). Un profil d'EEG caractérisé par des bouffées lentes de haut voltage séparées par des périodes de silence électrique (*burst-suppression pattern*) est particulièrement trouvé lors d'une anesthésie profonde à l'isoflurane (1.2%). Une concentration deux fois plus élevée d'halothane doit être administrée pour que cet agent produise un tel profil de réponse (Stockard et Bickford, 1975).

L'étude des potentiels évoqués apporte également de l'information pertinente quant à l'impact des agents anesthésiques sur le fonctionnement du

cerveau. La majorité des travaux s'intéressent aux potentiels évoqués visuels (PEV) car ils sont généralement plus affectés par une drogue, comme les anesthésiques, que les potentiels évoqués somatosensoriels (PES) ou auditifs (PEA) (Miller, 2000). Les travaux sur les PEVs ont démontré que l'isoflurane réduit davantage l'amplitude des PEVs qu'un multiple équivalent de CAM d'halothane (Chi et Field, 1986; Sebel et al., 1986; Ogawa et al., 1992). L'halothane engendre une augmentation de la latence des PEVs sans affecté l'amplitude (Domino et al., 1963; Uhl et al., 1980).

Pour ce qui est de l'isoflurane, des concentrations en deçà de 1.8% provoquent une augmentation de la latence ainsi qu'une diminution de l'amplitude des PEVs, tandis qu'à des concentrations au-dessus de 1.8%, l'isoflurane engendre une suppression très importante des PEVs (Chi et Field, 1986; Sebel et al., 1986). Les PESs étant moins sensibles que les PEVs, l'influence des agents anesthésiques en est moins claire: certains auteurs ont observé que l'halothane a un impact plus grand que l'isoflurane (Pathak et al., 1989) alors que d'autres ont rapporté le contraire (Peterson et al., 1986). De par les travaux sur l'EEG et les PEVs, il est possible de constater que l'isoflurane semble avoir un effet dépressif plus important que des multiples équivalents de MAC d'halothane.

Seulement quelques études ont tenté de préciser ces effets sur l'activité générale du cerveau en s'intéressant aux effets des agents anesthésiques sur les propriétés des champs récepteurs des cellules visuelles de l'aire 17 du chat. Ikeda et Wright (1973) ont démontré que seulement 0.2% d'halothane mélangé



avec 80% de N<sub>2</sub>O affectait de façon significative la composante tonique des réponses visuelles des cellules toniques (réponse soutenue à une barre stationnaire blanche ou noire au centre du champ récepteur), tandis que 0.8% d'halothane était nécessaire pour altérer la composante phasique des réponses visuelles des cellules phasiques (réponse à une barre blanche ou noire qui revient au niveau de base en deçà de 5 secondes). Le profil de réponse est affecté, mais également la structure du champ récepteur semble être modifiée par l'anesthésie. Il a été démontré qu'une anesthésie à l'halothane engendre une modification importante de la structure du champ récepteur des cellules qui présentent des régions excitatrices juxtaposées aux régions inhibitrices (cellules simples; Lee, 1970). Par contre, l'halothane ne provoque pas de modification de la structure du champ récepteur pour les cellules présentant des régions excitatrices et inhibitrices superposées (cellules complexes). La sélectivité à la direction des cellules complexes est également modifiée par l'halothane. L'année suivante, le même groupe de recherche (Ikeda et Wright, 1974) a démontré que 0.2% d'halothane provoque une diminution importante de l'amplitude de la réponse des cellules du cortex strié du chat. De plus, cet ajout d'halothane provoque une diminution de la sélectivité des cellules à l'orientation et à la fréquence spatiale. Cependant, la position du champ récepteur, l'orientation et la fréquence spatiale optimale ne sont pas affectées par une anesthésie à l'halothane. Ces auteurs n'ont pu étudier l'isoflurane car cet agent anesthésique n'était pas encore disponible à l'époque.

Tigwell et Sauter (1992) sont les seuls à avoir démontré, chez le singe, qu'il est possible d'enregistrer des cellules de l'aire V1 lors d'une anesthésie à l'isoflurane. Par contre, cette étude survole de façon très générale les effets d'une anesthésie à l'isoflurane sur les propriétés des champs récepteurs, et ce pour une seule concentration, sans aucune comparaison à aucun autre agent anesthésique. Il est donc primordial de documenter les effets causés par une anesthésie à l'isoflurane chez le chat et de les comparer avec les effets de l'halothane pour déterminer quel agent est le plus adéquat pour l'étude des fonctions visuelles du chat.

Donc une anesthésie générale, que ce soit à l'halothane ou à l'isoflurane, provoque des altérations majeures de la physiologie ou de l'animal anesthésié (résumé dans le tableau I). Il est très important de considérer tous ces éléments quand vient le temps de déterminer lequel de ces deux agents est approprié à notre protocole expérimental.

#### Implications pour le chercheur

Bons nombres de vétérinaires et de scientifiques participent à l'anesthésie d'un nombre très important d'animaux au cours de leur carrière. Il est donc primordial de connaître les implications à court terme (une semaine) et à long terme (plusieurs années) d'une exposition à de faibles concentrations d'agent anesthésique. Il est primordial de vérifier les différents site susceptible d'accentuer la pollution de l'environnement de travail: grosseur adéquat

d'adaptateur trachéal, étanchéité de l'adaptateur, absence des fuites dans le système d'administration et l'efficacité du système d'évacuation des gaz. Depuis plusieurs années, il est connu que les agents anesthésiques ont des effets néfastes sur le personnel exposé à l'utilisation de ces drogues. Aussi tôt qu'en 1922, un auteur anonyme cité dans *Anesthetic Exposure in Workplace* (Cohen, 1980) illustre bien les préoccupations du monde médical sur ce problème. Il affirme que le décès du Dr. Edward Costain a été causé par l'exposition prolongée aux agents anesthésiques qu'il utilisait en tant qu'anesthésiste. Il écrit:

*«The public be not informed of his death when it occurred, lest the medical profession suffer a blow, when it became known that the administration of anesthetics had cost the life of a man who had spared the suffering of more than 30, 000 people undergoing operation.»*

Des études épidémiologiques ont révélées dans le milieu médical que le personnel affecté à l'utilisation d'agents anesthésiques était plus susceptible de développer un cancer (Corbett et al., 1973) et présente une incidence plus élevée de fausses couches (Vaisman, 1967; Askrog et Harvald 1970; Cohen et al., 1971). Il a été indiqué également que des anesthésistes régulièrement exposés à des concentrations minimales d'isoflurane et de N<sub>2</sub>O pendant trois mois, présentent davantage de dommages génétiques (*sister chromatid exchange*) comparativement à des médecins non-exposés (Hoerauf et al., 1999). De plus, les agents anesthésiques provoquent une neurotoxicité et une altération de la performance neuropsychologique tel que les temps de réaction (Lucchini

**Tableau I.** *Implications physiologiques d'une anesthésie.*

	Halothane	Isoflurane
Irritation des voies respiratoires	+	+++
Arythmie	+++	-
Altération du débit sanguin	+++	+
Vasodilatation cérébrale	+++	+
Altération de la pression intracrânienne	+++	+
Autorégulation cérébrale	---	-
Biotransformation (hépatotoxicité)	+++	-
Altération de l'EEG	+	+++
Altération des PEVs	+	+++
Altération des propriétés du champ récepteur des cellules nerveuses	+	???
Toxicité pour le personnel	+++	++

Résumé des principales implications d'une anesthésie à

l'halothane et à l'isoflurane. Voir le texte pour plus d'informations.

et al., 1996) et des fonctions hépatiques (Allan et al., 1987; Franco, 1989). Il semble également que les femmes sont plus sensibles à une exposition aux agents anesthésiques et présentent plus de modifications génétiques (Rozgaj et al., 2001) que les hommes. Les conditions expérimentales de ces recherches épidémiologiques étant fixées par l'environnement de travail des participants, plusieurs variables ne peuvent être parfaitement contrôlées, c'est pourquoi plusieurs travaux ont également été accomplis chez les animaux. Une exposition à un dixième de la dose cliniquement significative d'halothane pendant plusieurs heures par jour, cinq jours par semaine, pendant sept semaines, avait des effets importants sur différentes espèces animales (rats, lapin, cochon d'Inde; Chenoweth et al., 1972). Les animaux ont significativement perdu du poids, mais le changement le plus significatif est l'augmentation relative du poids du foie par rapport au poids du corps. Également, la présence d'importantes infiltrations hépatiques causées par l'administration d'halothane fut observée dans toutes les espèces.

D'après la littérature mentionnée ci-haut, il est clair que l'halothane est un agent qui présente des implications importantes pour le personnel médical, vétérinaire et scientifique exposé à des concentrations faibles de cet drogue.

#### Mécanismes d'action

Pendant longtemps, la communauté scientifique a cru que les agents anesthésiques n'ont pas de cibles moléculaires précises, mais produisent l'effet,

que l'on nomme «anesthésie», en altérant de façon non spécifique la membrane lipidique des cellules. Cette première théorie résulte des travaux réalisés par Meyer (1899) et Overton (1901) qui démontrent une forte corrélation entre l'efficacité de l'agent anesthésique et leur solubilité dans le gras (huile d'olive). Par contre, depuis le milieu des années '80, un changement de perception s'est fait grâce aux travaux de Franks et Lieb (1984) qui ont présenté un site d'action spécifique des agents anesthésiques: les protéines. Depuis ce temps, plusieurs éléments de la synapse ont été identifiés comme étant les sites d'actions des agents anesthésiques. Les récepteurs A des protéines acide gamma-aminobutyrique (GABA) semblent être une des cibles importantes de la plupart des agents anesthésiques, incluant l'halothane et l'isoflurane (Jones et Harrison, 1993). Ces récepteurs sont également très importants dans la construction de la sélectivité à l'orientation, à la direction et de la construction des régions composant de champ récepteur des cellules du cortex visuel du chat (Sillito, 1977; Tsumoto et al. 1979). L'étude des altérations provoquées par une anesthésie générale à l'halothane ou l'isoflurane sur les cellules du cortex visuel primaire permettra également de tirer de l'information sur les mécanismes d'actions des agents anesthésiques volatiles, tout en considérant qu'on connaît les modifications fonctionnelles engendrées par l'injection d'agoniste GABA (Sillito, 1977; Tsumoto et al., 1979).

### *Buts de l'étude*

L'objectif de la présente étude est de déterminer entre l'halothane et l'isoflurane, l'agent anesthésique le plus approprié pour l'investigation des propriétés fonctionnelles des champs récepteurs des cellules de l'aire visuelle primaire du chat. Les modifications de la sélectivité des cellules engendrées par une anesthésie générale à l'halothane et l'isoflurane, et ce pour un large éventail de concentration, sont comparées parallèlement aux altérations de la physiologie de l'animal. Tous ces paramètres fourniront de l'information pour déterminer lequel entre l'halothane et l'isoflurane est recommandable pour l'étude électrophysiologique des fonctions visuelles du chat. Les applications de cet agent pourrait être généralisé à l'ensemble des fonctions sensorielles et aux autres espèces.

**ARTICLE**



September 9, 2002, submitted to *Anesthesiology*

**On the use of isoflurane versus halothane for single cell  
recording in the primary visual cortex.**

M.Y. Villeneuve and C. Casanova

Laboratoire des neurosciences de la vision, École d'optométrie,  
Université de Montréal

Heading: Anesthesia in vision electrophysiology

Corresponding author:

Christian Casanova  
Laboratoire des neurosciences de la vision  
École d'optométrie,  
Université de Montréal, Québec  
Canada, H3C 3J7  
TEL :514-343-2407  
FAX : 514-343-2382  
e-mail :[Christian.Casanova@umontreal.ca](mailto:Christian.Casanova@umontreal.ca)

## INTRODUCTION

Halothane is the most widely used volatile anesthetic in animal research. As other anesthetics, it produces several specific alterations of bodily functions, especially brain functions. For instance, through its action on cardio-vascular system, halothane causes an increase in cerebral blood flow (Wollman et al., 1964; Theye and Michenfelder, 1968; Cucchiara et al., 1974; Todd et al., 1982; Eger, 1985), impairs the cerebral autoregulation (Drummond et al., 1983a; Drummond et al., 1983b) that yield to an increase in intra-cranial pressure (Drummond et al., 1983b; Todd and Drummond, 1984). It also produces a dose-related depression of cardiac output (Eger, 1985) and may produce cardiac arrhythmia (Katz and Katz, 1966; Johnston et al., 1976; Merlos et al., 1980; Hikasa et al., 1996). In addition to these effects, repeated exposure to halothane may be detrimental to the experimenter's health: this anesthetic produces a hepatic toxicity (Allan et al., 1987; Franco, 1989) and may also alter neurobehavioral performance (Lucchini et al., 1996).

In recent years, some neuroscience laboratories have used another volatile anesthetic, isoflurane, because it has little impact on cardio-vascular functions and intra-cranial pressure (Todd et al., 1982; Drummond et al., 1983b; Frost, 1984; Todd and Drummond, 1984). Despite the fact that isoflurane appears to be a better anesthetic than halothane for animal brain research, no one is in a firm position to recommend switching from halothane to isoflurane in electrophysiology because the effects of the latter on specific brain

functions are unknown. To our knowledge, only a few studies have demonstrated that isoflurane and halothane differentially affect electroencephalographic recordings (Grundy, 1983; Ogawa et al., 1992; Tsushima et al., 1998) and visual evoked potentials (Domino et al., 1963; Uhl et al., 1980; Chi and Field, 1986; Sebel et al., 1986; Ogawa et al., 1992). Given that both anesthetics yield different action on gross brain activity, it is likely that they may also differentially affect single neuron activity. This is of fundamental importance when one considers that many studies investigate the function of brain areas on the basis of response properties of their comprising neurons.

The main goal of this study is to determine whether isoflurane can be used to study receptive field properties of neurons in the cat's primary visual cortex. We investigated the effects of switching between halothane and isoflurane and of varying their concentration on the orientation, direction, and spatial frequency tuning functions of striate neurons. In addition, the present data will contribute to further the understanding of the mechanisms responsible for anesthesia. Part of this study was presented in abstract form (Villeneuve et al., 2000).

## MATERIALS AND METHOD

### Animal preparation

Nine adult cats of either sex weighing 2.5 - 4.5 kg were used in this study. They were treated in accordance with the guidelines of the Canadian Council for the Protection of Animals. The animals were starved 24 hours before the anesthesia. Cats were premedicated with a subcutaneous injection of acepromazine maleate (Atravet™ 10 mg/ml; 0.05ml/kg; Ayerst Veterinary Laboratories, Ontario, Canada) and atropine (0,4 mg/ml; 0.1 ml/kg; Sabex®, inc., Québec, Canada). Thirty minutes after the injection, anesthesia was induced by mask inhalation of 5% of isoflurane (Forane®, Bimeda-MTC Santé Animale, inc., Ontario, Canada) mixed with O<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>O (50:50) and gradually lowered and maintained at 2% for the preparatory surgery. The depth of anesthesia was determined by the lack of response to clamping the inter-digital web of the posterior paws.

Oxygen blood saturation and heart rate were monitored using an oxygen saturation meter (Model 8500, Nonin Medical, inc., Minnesota, USA). Lidocaine hydrochloride (Xylocaine® 2%, Astra Pharma, inc., Ontario, Canada) was infused or applied at all points of incision or pressure. Following cephalic vein cannulation and tracheotomy, the animal was paralyzed with gallamine triethiodide (C<sub>30</sub>H<sub>60</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>I<sub>3</sub>, 2%; Sigma Chemical, Missouri, USA) and placed in a stereotaxic frame (D. Kopf). Muscular relaxation provides stability of eye position and constant location of the visual receptive field while increasing the

stability of electrophysiological recordings. Throughout the experiment, the animal was artificially ventilated using a respiratory pump (Model 665, Harvard Apparatus) with a O<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>O (33%/66%) mixture supplemented using agent-specific Tec3-Ohmeda vaporizers of halothane (Fluothane<sup>®</sup>, Bimeda-MTC Santé Animale, inc., Ontario, Canada) or isoflurane (Forane<sup>®</sup>, Bimeda-MTC Santé Animale, inc., Ontario, Canada). End-tidal gas samples were drawn from a non-rebreathing circuit through a tube positioned at a Y-piece connection at the oral end of the endotracheal tube. End-tidal CO<sub>2</sub> partial pressure was monitored by a capnometer (Normocap<sup>®</sup> 200, Datex-Ohmeda, inc.) and kept constant between 28 and 38 mmHg by adjusting the rate and stroke volume of the respiratory pump. The temperature was maintained at 37±0.5°C by means of a feed back-controlled heating pad linked to a rectal probe. Electroencephalogram (EEG) recordings were made with stainless steel screws of 2 mm in diameter inserted in the frontal bone. Both EEG and electrocardiogram (ECG) were monitored throughout the experiment (Axoscope, Axon Instruments, Inc., USA). The animals were continuously infused with 5% dextrose in lactated Ringer's injection solution (Baxter Corporation, Ontario, Canada) containing gallamine triethiodide (50:50, 20 mg/kg/h). Pupils were dilated with atropine sulfate 1% (Isopto<sup>®</sup>, Alcon Canada, inc., Ontario, Canada) and nictitating membranes were retracted with local application of phenylephrine hydrochloride 2.5% (Mydfrin<sup>®</sup>, Alcon Canada,

inc., Ontario, Canada). The eyes were also protected using contact lenses of appropriate power.

Following a craniotomy overlying area 17, the dura was incised to be able to visualize the cortex. Once the electrode was positioned, the exposed cortex was covered with warm agar (Difco Laboratories, Michigan, USA), over which melted wax was applied to create a sealed recording chamber.

#### Electrophysiological recordings

Varnished tungsten microelectrodes (2-4M $\Omega$ ; A-M Systems, inc<sup>®</sup>., Carlborg, Washington State, U.S.A.) were utilized to record single-unit activity in area 17. Craniotomies were performed over area 17 on both hemispheres, at Horsley-Clark coordinates AP -1 to -7, and L 1.5 to 5. An angle of descent of  $16\pm 1^\circ$  in the coronal and sagittal plane in respect to the vertical was used, so the electrode was advanced roughly perpendicular to the surface of the cortex. The signals were amplified, displayed on an oscilloscope and played through an audio monitor. Neuronal activity of the recorded units was isolated from the overall signal using a window discriminator (WPI, inc., Florida, USA) and fed to an acquisition program (spike2 v3.x, CED Cambridge, UK) via an analogue digital interface (1401, CED). The responses were recorded as post-stimulus time histograms (PSTH) of 10 ms bin width.

### Visual stimulation

Receptive fields were first mapped and characterized with a manually controlled stimulus projected onto the tangent screen facing the animal using a hand-held projector and an ophthalmoscope. Each unit was then quantitatively tested with stimulus generation software, Pixx 2.03 (Sentinel Medical Research Corp., Québec, Canada) driven by a Macintosh G3 computer. The stimuli were back projected by a LCD projector (InFocus Systems) onto a translucent screen placed 57 cm in front of the animal and covering 70° X 85° of visual angle. The image had a resolution of 6.8 pixels/deg and the refresh rate was 67 Hz. Full-screen stimuli were presented for all cells, except for those showing inhibitory surrounds (end-stop cells) where only the receptive field was stimulated. Before data acquisition, the cell's optimal parameters were determined (i.e. preferred orientation, spatial and temporal frequency) using sinusoidal drifting gratings (60% contrast). During each test, the activity for a blank screen of equal mean luminance was recorded (spontaneous activity level). Each stimulus presentation and spontaneous activity recording lasted for 4 sec and was repeated 4 times. Presentations were randomly interleaved and in most cases only the dominant eye was stimulated.

### Parameters of anesthesia

To be able to compare different anesthetics, here halothane and isoflurane, Merkel and Eger (1963) described an "index of comparison" between anesthetics which used the term minimum alveolar concentration

(MAC). They defined 1.0 MAC as the “minimal anesthetic concentration in the alveoli required to keep an animal from responding by gross purposeful movement to a painful stimulus”. With this index, anesthetic doses could be transformed into multiples of MAC and be comparable on a single scale. Halothane and isoflurane have a 1.0 MAC value of 1.14 % (Steffey et al., 1974) and 1.63 % (Steffey and Howland, 1977), respectively. However, N<sub>2</sub>O, whose MAC is at 250% for the cat, has an additive effect on MAC values of the primary agent (Steffey et al., 1974; Hikasa et al., 1996) and therefore, modifies those values. Taken the effect of the addition of 66% N<sub>2</sub>O, it was possible to calculate the true 1.0 MAC values for this protocol: 0.72 % for halothane + 66 % N<sub>2</sub>O and 1.19 % for isoflurane + 66 % N<sub>2</sub>O.

There is a possibility that the premedicated agents have influenced MAC values. However, the recording period occurred after the completion of the synthesis of Atravet and Atropine, hence this influence is not considered here.

#### Experimental protocol

Following characterization of optimal properties of the cell (orientation, spatial and temporal frequency), the testing of the cell under different anesthetic condition began. All tests were set at the optimal parameters of the cell to reduce the variability of the neuronal response. Three interleaved orientation (varied over 360° usually in 24 steps of 15°) and spatial frequency (varied in relation to the bandwidth of each cell) tests were performed over a 30 minute period (one test starting every 5 minutes) at a control anesthetic condition. The



control condition was set at 0.42 MAC of halothane, a low clinical level of anesthesia to increase the probability of isolating visually tuned cells. This concentration is generally used in electrophysiology (Hoffmann and Fischer, 2001; Xi et al., 2001; Schröder et al., 2002; Sengpiel and Bonhoeffer, 2002; Suder et al., 2002; Young et al., 2002) and the depth of anesthesia was verified four times a day by the lack of modification of the heart rate to clamping the digits of the anterior paws. Once control tests were performed, a pseudo-random change in anesthetic and/or concentration was made and a 30 minute wash-out period was allotted. Following this wash-out time, it is generally agreed that there is no longer a mix of anesthetic or concentration neither in the lungs, the blood or the brain that could affect cell response (Ikeda and Wright, 1974; Ogawa et al. 1992; Tsushima et al. 1998). Orientation and spatial frequency tests were then performed to evaluate the effect of the new anesthesia condition (change in agent and/or concentration). This procedure was repeated for each new condition of anesthesia the cell was put trough. Finally, at the end of the testing session, a recovery condition consisting of a return to a low anesthetic level of halothane or isoflurane was made to assess if the cell was still responsive and if there was a reversible effect on cell properties. Eight experimental conditions were used (2 agents, 4 concentrations each) for a maximal recording time of 9 to 10 hours (including characterization of the optimal parameters). For each recording tests, the heart rate, electroencephalogram and temperature were also monitored.

Data analysis

The direction selectivity of each cell was measured by computing a direction index (DI):

$$DI = 1 - \frac{\text{response in the non-preferred direction} - \text{spontaneous activity}}{\text{response in the preferred direction} - \text{spontaneous activity}}$$

An index value of >0.5 indicates that the cell was selective for the direction of motion of the stimulus (Minville and Casanova, 1998). DI of <0.5 indicates that the cell was not selective to direction. The bandwidth of the orientation curve, which represents a measure of the sharpness of the selectivity of a cell, was calculated as the half-width of the tuning curve at half-height. Bandwidth of the spatial frequency tuning function was calculated as the full width and half-height. The organisation of the sub-regions of a cell's receptive field was also examined by measuring a modulation index (MI):

$$MI = \frac{\text{first harmonic of the optimal response (AC component)}}{\text{mean optimal response (DC component)}}$$

A classification of cell type based on the modulation of their discharge was then possible: MI >1 = strong modulation = simple cell; MI < 1 = low modulation = complex cell.

Response properties were pooled as standard deviation from the mean of a control condition

$$z\text{-score} = \frac{x - \mu}{\sigma}$$

set at halothane 0.42 MAC for every cell. Linear regressions

$$Y = A + B * X$$

were performed on all data recorded for both agents. All cell parameters were best described with a linear fit. Analyses of covariance were then conducted with Prism 3.0 (GraphPad Software, Inc.) to compare the linear regressions slopes and y-intercepts. Slopes gave information on the influence of the concentration of the agent on the property measured. If the responses presented the same slopes, y-intercepts were compared and provided information on the effect of the agent.

### Histology

Electrolytic lesions were made along recording tracks. At the end of each experiment, the animal was killed by an intravenous overdose of pentobarbital sodium (Euthanyl, 240mg/mL, 2cc/4.5kg, Bimeda-MTC Santé Animale, inc., Ontario, Canada). The brain was removed from the skull and immersed in a solution of buffered formalin (10%). Forty micrometer serial

sections (coronal plane) were cut using a Microtome Cryostat HM500 OM (Microm International GmbH, Walldorf, Deutschland) and stained with Cresyl Violet. The laminar position of the recorded cells was then assessed.

## RESULTS

### Physiological measures

#### *Heart rate*

The heart rate of the animal was affected by general anesthesia under both halothane and isoflurane. Table I shows the mean heart rate of all cats under all conditions. It illustrates the close relation between an increase in anesthetic concentrations of both agents and the slowing of the heart rate of the animal (halothane:  $F_{1, 96} = 81.75$ ,  $P < 0.0001$ ; isoflurane:  $F_{1, 45} = 59.19$ ,  $P < 0.0001$ ). This suppressive action was identical for both agents ( $F_{1, 141} = 2.97497$ ,  $P = 0.08675$ ), i.e. an increase of concentration of halothane will produce the same diminution of the heart rate as an equivalent increase of isoflurane concentration. Due to this correlation (halothane:  $r = -0.67817$ ,  $P < 0.0001$ ; isoflurane:  $r = -0.75372$ ,  $P < 0.0001$ ) and taken in consideration that both agent are not different at a given MAC value ( $F_{1, 142} = 3.06986$ ,  $P = 0.08191$ ), the heart rate is visibly a good indicator of the anesthetic depth. Taken as a whole, halothane and isoflurane clearly alter, in a similar manner, the heart rate of the animal in an inverse concentration-response relationship.

### *Lungs $pCO_2$*

Another important measure of the internal state of the animal is the partial pressure of  $CO_2$  in the lungs ( $pCO_2$ ), which reflects the condition of the animal's metabolism. The  $pCO_2$  was reduced when halothane or isoflurane concentrations are increased (halothane =  $F_{1, 66} = 21.70$ ,  $P < 0.0001$ ; isoflurane =  $F_{1, 30} = 5.474$ ,  $P = 0.0262$ ) as shown in the Table I. This relationship (halothane:  $r = -0.49743$ ,  $P < 0.0001$ ; isoflurane:  $r = -0.39282$ ,  $P = 0.02615$ ) between an increase of concentration and the diminution of  $pCO_2$  is identical for both anesthetics ( $F_{1, 96} = 0.0069$ ,  $P = 0.934$ ). However, a difference emerges between the two anesthetics when it is considered for a single concentration. For a fixed MAC value,  $pCO_2$  was more reduced under halothane than isoflurane ( $F_{1, 97} = 16.9136$ ,  $P < 0.0001$ ).

### *Body temperature*

The animal body temperature was clearly affected by the concentration of anesthetic. As Table I shows, an increase in the concentration of either anesthetic triggers a decrease in the body temperature of the animal (halothane:  $F_{1, 66} = 70.90$ ,  $P < 0.0001$ , isoflurane:  $F_{1, 30} = 10.83$ ,  $P = 0.0026$ ). This link between the anesthetic concentration and the body temperature (halothane:  $r = -0.71965$ ,  $P < 0.0001$ ; isoflurane:  $r = -0.5151$ ,  $P = 0.00255$ ) is identical for both agents ( $F_{1, 96} = 1.69974$ ,  $P = 0.1954$ ), i.e. the same increase in the MAC value of either product will induce an identical diminution of the body temperature.

Even if both agents keeps the temperature into normal range, halothane maintains the temperature of the animal to higher levels than isoflurane does ( $F_{1,97} = 19.0199$ ;  $P < 0.0001$ ). In spite of this, it is important to mention that all animals had to be accompanied with a feed-back controlled heating blanket for maintenance of normal temperature parameters, which greatly interferes with the interpretation of the results.

### Cerebral functions

#### *Electroencephalogram*

The EEG recordings, which measure the general activity of the brain, were greatly altered by a change in the administered concentration of either halothane or isoflurane. The recordings presented in figure 1 show representative recordings of cat's EEG. At 0.69 MAC, there was practically no qualitative differences between halothane and isoflurane anesthesia (upper traces). However, around 1.0 MAC, there was an increase in the amplitude and a decrease in the frequency of the EEG signals for both agents (middle traces). Despite those similar changes, a specificity of isoflurane anesthesia emerges at that level. At 1.0 MAC isoflurane, there were presence of burst-suppression patterns, which reflect a deep suppression of the brain activity. This activity was not present in any of the recordings made under halothane anesthesia. Burst-suppression patterns were largest at 1.38 MAC of isoflurane, suggesting

that the brain is not responsive. Still, the bursts present at 1.38 MAC of isoflurane were, in a majority of cases, generated by visual stimulation (gratings). Meaning that even if EEG recordings show deep state of anesthesia, known as isoelectric, it does not mean that the brain is silenced or not responsive, the brain retains the ability to react to basic visual stimulation. At 1.38 MAC of halothane, only an increased of the frequency of the signal can be seen, without the presence of burst-suppression patterns. These findings indicate that the suppression of general brain activity, as measured by EEG, is greater under isoflurane anesthesia when measured up to equipotent halothane concentration.

#### *Single cell response amplitude*

Twenty two cells of the primary visual cortex could be isolated for the investigation of their receptive field properties under different condition of anesthesia. Optimal responses to orientation and spatial frequency stimulation were strongly affected by the anesthetic: isoflurane anesthesia reduced more the optimal amplitude of visual responses of cells than halothane ( $F_{1, 219} = 4.98845$ ,  $P = 0.0265$ ). Figure 2A shows the optimal amplitude of response of a representative area 17 cell recorded under different anesthetic conditions and figure 2B illustrates the corresponding PSTHs. Those illustrations show, that for both agents, responsiveness also varies as a function of concentration (halothane:  $F_{1, 139} = 4.574$ ,  $P = 0.0342$ ; isoflurane:  $F_{1, 79} = 4.484$ ,  $P = 0.0374$ ).



As the MAC value of halothane and isoflurane increases, a decrease in the optimal amplitude visual response of the cell is observed. This inverse relationship (halothane:  $r = -0.17848$ ,  $P = 0.03422$ ; isoflurane:  $r = -0.23176$ ,  $P = 0.03736$ ) is similar for both agents ( $F_{1, 218} = 0.00256$ ,  $P = 0.9597$ ), i.e. an identical increase of halothane or isoflurane concentration will produce a similar diminution of the optimal response. More interestingly is the fact that the amplitude of the optimal responses is more strongly reduced with isoflurane. At 0.42 and 0.69 MAC the mean discharge of the neuron is respectively greater by a factor of 1.99 and 1.61 with halothane when compared to isoflurane. No reliable responses could be recorded when the cell was studied under isoflurane 1.38 MAC anesthesia. The strength of the response is an important key for a successful experiment and it is clear that halothane anesthesia provides better recording conditions than isoflurane.

#### *Optimal spatial frequency and tuning function*

Spatial frequency was also measured as a function of the concentration of halothane and isoflurane. Figure 3A illustrates representative spatial frequency tuning functions of a area 17 cell and it shows the preferred spatial frequency is not modified by changing the anesthetic agent ( $F_{1,91} = 0.416293$ ,  $P = 0.5204$ ) or concentration (halothane:  $F_{1,61} = 0.1571$ ,  $P = 0.6936$ ; isoflurane:  $F_{1, 29} = 3.156$ ,  $P = 0.0862$ ). The level of anesthesia did not interfere with the preferred spatial frequency (halothane:  $r = 0.05069$ ,  $P = 0.6936$ ; isoflurane:  $r =$

-0.31327,  $P = 0.08616$ ). This indicates that under all tested conditions of anesthesia, the optimal spatial frequency remains constant in area 17.

A different picture emerged when considering the spatial frequency selectivity. Figure 3B presents the corresponding bandwidths of the spatial frequency tuning curves presented in figure 3A. The cell behavior is representative of the units tested: 1) an increase in halothane concentration reduces the spatial selectivity of the cell by increasing its spatial frequency bandwidth ( $F_{1, 34} = 11.17$ ,  $P = 0.002$ ) 2) isoflurane enhanced spatial frequency selectivity with increasing concentration ( $F_{1, 20} = 4.41$ ,  $P = 0.0486$ ). This may come from the strong reduction of the cell mean discharges under isoflurane. The different effect of halothane and isoflurane on spatial frequency selectivity is emphasised by the different relation between an increased of halothane and isoflurane and the spatial selectivity (halothane:  $r = 0.49726$ ,  $P = 0.00203$ ; isoflurane:  $r = -0.42505$ ,  $P = 0.04861$ ) that indicates that an increase in the concentration of one agent produce divergent results compared to an increase of concentration of the other ( $F_{1, 54} = 14.164$ ,  $P = 0.0004147$ ).

#### *Orientation and direction selectivity functions*

Orientation selectivity was not affected by the condition of anesthesia. A representative example is shown in figure 4. This cell shows that changing the agent ( $F_{1, 159} = 0.210216$ ,  $P = 0.6472$ ) nor of concentration (halothane:  $F_{1, 106} = 0.8668$ ,  $P = 0.3540$ ; isoflurane:  $F_{1, 49} = 2.762$ ,  $P = 0.1029$ ) has no significant

influence on the cell orientation selectivity, measured by the bandwidth. A simple change of anesthetic, for a fixed MAC value, does not modify the orientation selectivity, i.e. both agents have the same action ( $F_{1, 159} = 0.210216$ ,  $P = 0.6472$ ) on orientation selectivity. The absence of relationship between the concentration and the orientation selectivity (halothane:  $r = 0.09006$ ,  $P = 0.35397$ ; isoflurane:  $r = -0.231$ ,  $P = 0.10291$ ) indicates that this parameter is independent from the anesthetic level.

Direction selectivity was also assessed under different conditions of anesthesia. As shown by the cells presented in figure 5A and B, direction selectivity was not affected by the agent of anesthesia ( $F_{1, 159} = 0.210216$ ,  $P = 0.6472$ ) nor the concentration (halothane:  $F_{1, 103} = 0.1678$ ,  $P = 0.6829$ ; isoflurane:  $F_{1, 55} = 0.4478$ ,  $P = 0.5062$ ). This was observed for direction selective (panel A) and non-direction selective cells (panel B). Here again, for a fixed MAC value, both agents are identical ( $F_{1, 158} = 0.210216$ ,  $P = 0.6472$ ) when the direction selectivity is considered. The absence of relationship between concentration and the direction selectivity (halothane:  $r = -0.04013$ ,  $P = 0.68438$ ; isoflurane:  $r = -0.089870$ ,  $P = 0.50618$ ) indicates that the level of anesthesia did not affect direction selectivity.

### *Response profile*

The response profile to drifting gratings provides information on the structural organization of the sub-regions of the receptive field (Hubel and

Wiesel, 1962). Figure 6A presents the modulation indices for a simple cell with the corresponding response profile shown in the PSTHs in panel B. On the other hand, figure 6C shows the modulation indices of a complex cell with the related PSTHs in panel 6D. They illustrate that the level of modulation of the neuronal discharge was not affected by the anesthetics ( $F_{1, 163} = 0.212827$ ,  $P = 0.6452$ ) nor their concentration (halothane:  $F_{1, 102} = 0.1760$ ,  $P = 0.6757$ ; isoflurane:  $F_{1, 60} = 0.4229$ ,  $P = 0.5180$ ). Both cells' response profiles remained identical throughout the testing period, the organisation of their ON-OFF regions are kept constant. In other words, simple and complex cells remained as such under any condition of anesthesia (agent/concentration). No level of anesthesia influences the structural composition of the sub-regions of the receptive field (halothane:  $r = -0.04151$ ,  $P = 0.6757$ , isoflurane:  $r = -0.08366$ ,  $P = 0.51796$ ) and indicates the absence of relation between the concentration and the modulation index. When compared on a single MAC value level, both agents are identical on all points on this parameter as well ( $F_{1, 159} = 0.210216$ ,  $P = 0.6472$ ).

#### *Spontaneous activity*

The spontaneous activity reflects the non-specific activity of the neuron. As shown by a representative cell in figure 7, isoflurane significantly reduces the level of spontaneous activity of the cell when compared to equipotent concentration of halothane ( $F_{1, 176} = 12.3902$ ,  $P = 0.0005495$ ). At all MAC

values, there is less spontaneous activity under isoflurane anesthesia than under halothane. It seems that an increase of concentration of anesthetic diminish the level of spontaneous activity, however it does not reach significance for both agents (halothane:  $F_{1, 109} = 0.4188$ ,  $P = 0.5189$ ; isoflurane:  $F_{1, 66} = 0.2953$ ,  $P = 0.5886$ ). The absence of link between the concentration of agent and the spontaneous activity (halothane:  $r = -0.06187$ ,  $P = 0.51891$ ; isoflurane:  $r = 0.06675$ ,  $P = 0.58864$ ) indicate that the spontaneous activity is independent of the level of anesthesia. Despite the fact that the concentration does not affect the level of spontaneous activity, the solely presence of isoflurane lowers more the spontaneous activity of the cell than halothane.

## DISCUSSION

The main result of this research is the lower amplitude of response of cortical neurons under isoflurane anesthesia when compared to equivalent level of halothane. The alteration of the single unit activity by isoflurane anesthesia was also reproduced in general brain activity revealed by EEG recordings. The functional visual parameters (orientation, direction selectivity, internal organization of the receptive field, optimal spatial frequency) were not altered by the condition of anesthesia. However, the spatial selectivity revealed agent specific and concentration specific alterations.

The physiology (heart rate,  $p\text{CO}_2$  and temperature) of the animal was also very sensitive to the level of anesthesia. When the concentration of both agents was increase, all three parameters decrease significantly. Also, agent specific modification occurred. For a set MAC value, halothane keeps the lungs  $p\text{CO}_2$  to lower levels and the temperature to higher levels than a equipotent concentration of isoflurane.

### Cardiopulmonary functions

Heart rate is often use has a guide to anesthetic depth (Grandy et al., 1989; McKelvey and Hollingshead, 2000). In our anesthetic protocol, the concentration of both anesthetics was closely linked with the heart rate of the animal. Increasing the MAC of both agents produced a related decrease of the

heart rate of the animal. This was observed for both agents in a similar fashion: halothane and isoflurane appear to have a comparable action on cardiac frequency, regardless of the concentration considered. The inverse concentration-heart rate relationship reported here is in agreement with findings of previous studies (Hartsfield and Sawyer, 1976; Hikasa et al., 1997; Hodgson et al., 1998; Ikeda and Wright, 1974; Ingwersen et al., 1988) and suggests that monitoring the heart rate would help the experimenter to determine and control the level of anesthesia even though it is a crude indicator. This statement is not supported however by a few studies. Grandy et al. (1989) reported that halothane does not produce alterations of the heart rate of cats when the concentration was increased from 1.3 to 2.0 MAC. In addition, Steffey and Howland (1977) described that isoflurane had virtually no effect on the cat heart rate when the anesthetic dose was increased from 1 to 2.4 MAC. Altogether, these two studies suggest that the heart frequency is not a reliable indicator of anesthetic depth. The range of concentration used in their protocol differs greatly from ours, this could be the main explication for the contradictory results. A non-linear relation between the level of anesthesia and the heart rate and the possibility that the relation change profile at 1.3 MAC (floor effect) could also explain the contradictory results. One may propose that it may come from differences between the experimental protocols (spontaneous vs. controlled ventilation; N<sub>2</sub>O-rich gas mixture vs. N<sub>2</sub>O free gas). These factors however are not believed to significantly alter heart rate (Grandy et al., 1989; Hikasa et al., 1996; Hodgson et al., 1998).

$p\text{CO}_2$  values are commonly used to evaluate the metabolism of the animal and to adjust the respiration parameters in artificially ventilated animals. In our experimental conditions, halothane tended to maintain  $p\text{CO}_2$  readings to values less than those observed during an equipotent isoflurane anesthesia. For both anesthetics, there is a dose-relationship such as increasing concentration produces a decrease in  $p\text{CO}_2$ . This finding is at odds with those previously described. Grandy et al. (1989), Hodgson et al. (1998) and Steffey and Howland (1977) reported that an increase in the concentration of halothane or isoflurane produces an increase in  $p\text{CO}_2$ . This discrepancy may result from important differences between their protocols and ours. Again here, the concentrations used are very different from ours and could have a major impact on results. Also, the time course of the experiment were very different (several hours vs. several days here) and could be a factor knowing that  $p\text{CO}_2$  is influenced by the time course of the surgery and consequently of the anesthesia (Hikasa et al., 1998). Furthermore, the ventilation mode was also dissimilar (spontaneous vs. artificially controlled) and it may have contributed to the observed discrepancy as controlled ventilation appears to reduce the  $p\text{CO}_2$  when compared to spontaneous breathing (Grandy et al., 1989; Hodgson et al., 1998). Nevertheless, it is important to note that, even if halothane reduces  $p\text{CO}_2$  to lower values than equipotent concentrations of isoflurane, the  $\text{CO}_2$  partial pressure of the expired volume always remains in a normal range, i.e. 28-38 mmHg.



Studying the effects of anesthesia on the temperature may seem odd given that our experimental design implies a rigorous feed-back control of this parameter using a thermostatically controlled heating blanket. However, it is worth pointing out the following observations: as reported earlier (Hall and Taylor, 1994; Kohn et al., 1997; McKelvey and Hollingshead, 2000; Miller, 2000), increasing the concentration of any of the two agents provokes a lowering of the animal temperature. Moreover, switching between both anesthetics revealed that isoflurane yields a greater transient reduction of the body temperature than that observed with halothane. The neurons of the hypothalamus that control the temperature of the animal (Sessler, 2000) seem to be altered in a similar manner as those of area 17. Isoflurane anesthesia reduced to a greater level the neuronal discharge of hypothalamus neurons, producing a lower temperature of the animal compared with a halothane anesthesia that maintained the amplitude of response of the neurons to a greater level. To our knowledge, this is the first evidence that halothane anesthesia is less detrimental to the temperature of the animal than isoflurane. Additional experiments on the temperature kinetics in an animal with no feed-back control may be carried out to better document this phenomenon.

### Brain recordings

In animal neuroscience research, the gross brain activity is almost always monitored to determine the state of activity (synchronized vs

desynchronized) and by extension the level of anesthesia. In agreement with Ogawa et al. (1992) and Tsushima et al. (1998), the present research demonstrates the presence of burst-suppression patterns in the EEG of isoflurane anesthetized animals but not in halothane preparations. This indicates that isoflurane has a more profound depressing effect on gross brain activity than halothane. This affirmation is confirmed by the fact that multi-unit activity in the reticular formation (source of unspecific projections to the cortex in relation with the state of vigilance (Mori et al., 1971)) is also more reduced with isoflurane (Ogawa, et al., 1992; Tsushima et al., 1998). More interesting perhaps given the context of our study is the reports by Chi and Field (1986) and Sebel et al. (1986) that the gross visual activity of the primary visual cortex (measured as visually evoked potential (VEPs) is considerably more affected under isoflurane than halothane anesthesia. While isoflurane reduced the VEPs amplitude and enhanced the peak implicit time, halothane only influenced the latter (also by enhancing latency: Domino et al., 1963; Uhl et al., 1980). Altogether, these data suggest that the recording and characterization of single neurons would be more difficult under isoflurane. Our main findings are indeed supporting this assumption. To our knowledge, this study is the first to clearly demonstrate that, when compared to equipotent halothane dosage, isoflurane has a more profound depressing effect on the spontaneous activity and optimal visual responses of cells in the cat primary visual cortex. The dose-response relationship (reduced optimal discharges with increasing concentration) was observed for both agent but the robustness of the reduction with isoflurane was

such that for higher MAC values, no reliable responses could be evoked with isoflurane while equipotent concentrations of halothane elicit clear responsiveness. To our knowledge, only two studies have investigated the effect of halothane and isoflurane on the activity of visual cells in the primary visual cortex, but none of those studies compared both agents (Ikeda and Wright, 1974; Tigwell and Sauter, 1992).

Ikeda and Wright (1974) showed as we did, that halothane decreased the amplitude of the responses evoked at all orientations and spatial frequencies as the concentration were increased. They reported, in contrast to us, that this reduction of amplitude was accompanied by a loss of both orientation and spatial frequency selectivity. More recently, Tigwell and Sauter (1992) presented some evidence that reliable visual responses in the monkey primary visual cortex could be evoked under isoflurane. While this study provided valuable information, it did not provide any point of comparison with other concentrations or agents. Their statement that responses could be recorded in isoflurane preparation was not surprising given the low concentrations they used (0.5-0.9%; MAC values not given), concentration at which visual responses in the cat could be easily recorded in the present study. Also, since the authors did not mentioned whether the concentration used represents vaporizer readings or actual end-tidal volume values, and no 'peripheral' recordings were made, it is virtually impossible to determine and compare the level of anesthesia of their subjects with ours.

As stated above, both anesthetics yield, in general, an overall decrease of the visual responses. Specific properties such as orientation selectivity, direction selectivity and the organization of the receptive field sub-regions (revealed by the modulation index) were not affected by the condition of anesthesia, at either MAC values. Interestingly, the mechanisms implicated in shaping orientation, direction selectivity and the organization of the receptive field are believed to be mediated by  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA; Sillito, 1977; Tsumoto et al., 1979). It is thus surprising that they were not sensitive to halothane or isoflurane if one considers that the activity of GABA<sub>A</sub> receptors is enhanced in presence of clinically relevant concentration of volatile anesthetics *in vitro* (Nakahiro et al., 1989; Jones et al., 1992; Lin et al., 1992; Franks and Lieb, 1994; Jenkins et al., 1999; Mihic et al., 1997; Scholz et al., 1998; Franks and Lieb, 1999; de Sousa et al., 2000). One possibility is that cortical inhibitory mechanisms are not solely involved in shaping receptive field properties in the visual cortex (Alonso et al., 1996). Another possibility would be that the effect of volatile anesthetics is more complex *in vivo* and/or that they do not act as GABA agonists only. Both possibilities are not mutually exclusive and may explain the apparent contradictory data obtained when studying spatial frequency selectivity. In contrast to orientation, the spatial frequency tuning width of cortical cells was affected by the anesthesia protocols: while halothane reduced the selectivity by increasing the bandwidth of the tuning curve (similarly reported by Ikeda and Wright (1974), isoflurane had the opposite

effect. The divergent action of the two anesthetic may further suggest that they have different molecular basis of action.

In conclusion, this study provides the first evidence that isoflurane has a more depressing effect on the evoked activity of sensory cortical neurons. Given its low toxicity, its weak effect on intracranial pressure and its low blood/gas partition, we proposed that isoflurane should be used for anesthesia induction and for the neurosurgical part of the experiment. We recommend switching to halothane during recording sessions as this anesthetic has proven to be less detrimental on neural discharges, allowing the recordings of robust and reliable responses. While this study concerns the visual system, it is likely that comparable findings would be obtained in other sensory areas.

	HALOTHANE			ISOFLURANE				
MAC values	0.42	0.69	0.97	1.38	0.25	0.69	1.0	1.38
Heart rate (h.b./min)	221±18	210±23	210±14	174±13	223±12	216±2.5	213±20	161±14
pCO <sub>2</sub> (mmHg)	31.92±1.5	32.45±2.3	28.25±1.7	28.4±1.9	32.2±2.3	33.9±2.5	32.5±2.3	28.8±2.5
Temperature (°C)	37.3±0.2	36.8±0.2	36.9±0.1	36.6±0.1	37±0.4	36.8±0.2	36.5±0.2	36.5±0.01

**Table I.** *Physiological measurements*

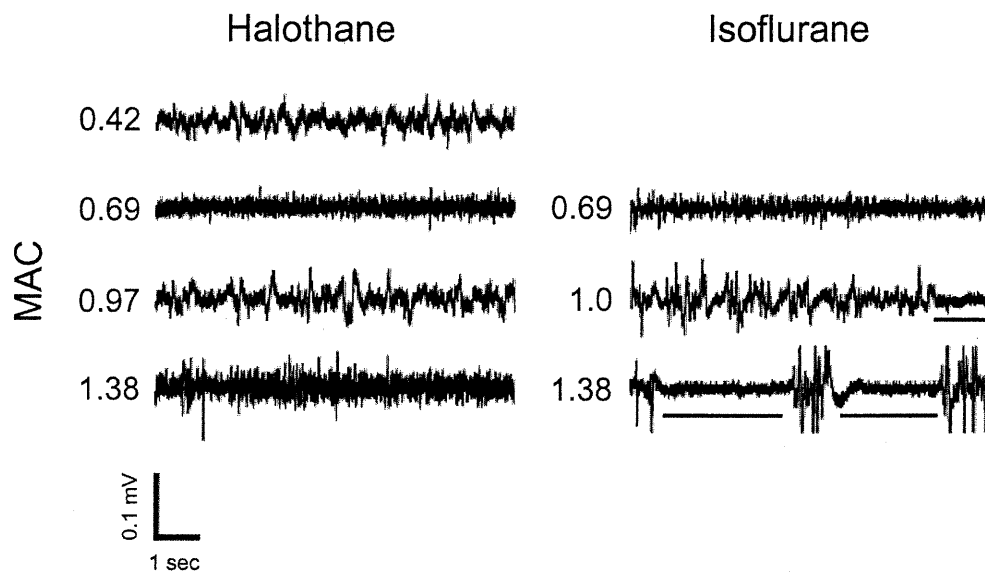


Figure 1. Villeneuve and Casanova

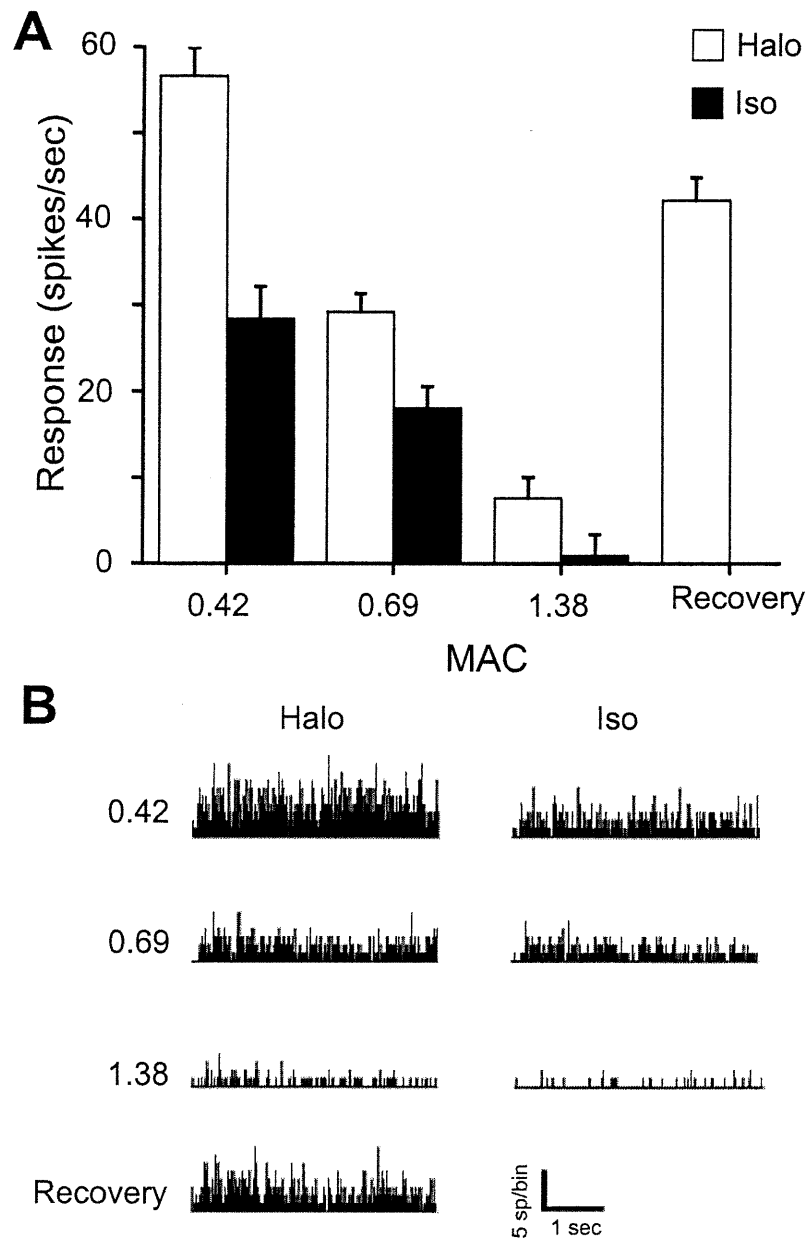


Figure 2. Villeneuve and Casanova



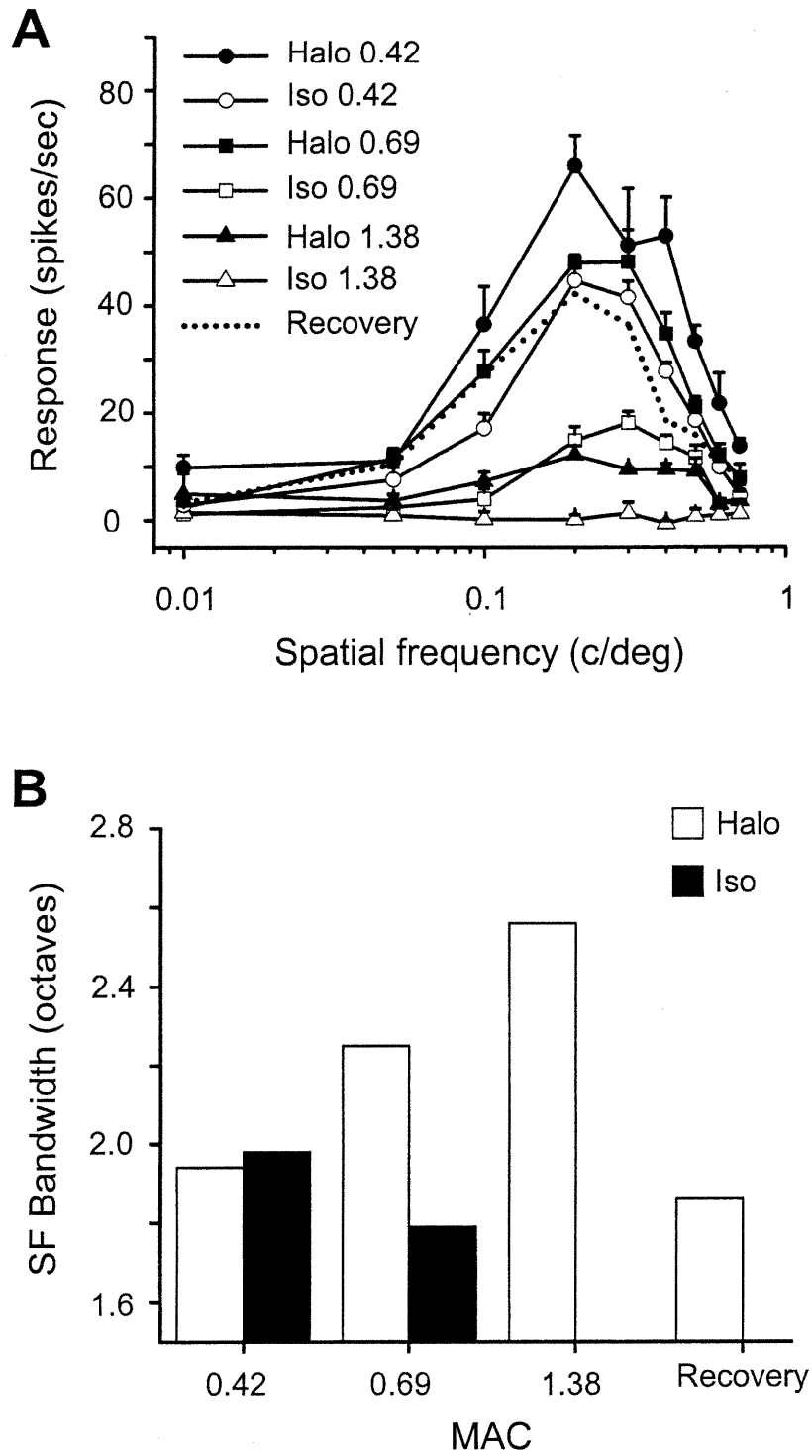


Figure 3. Villeneuve and Casanova

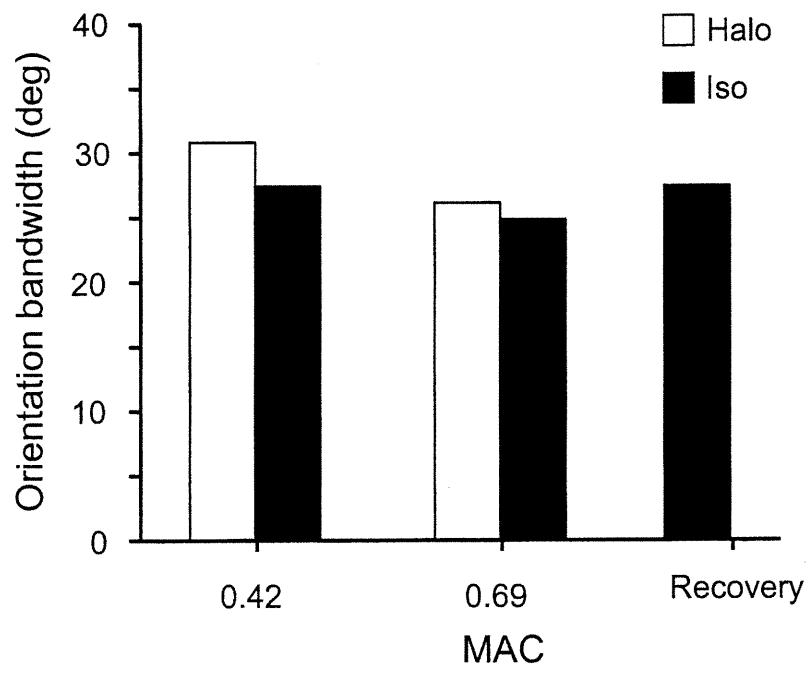


Figure 4. Villeneuve and Casanova

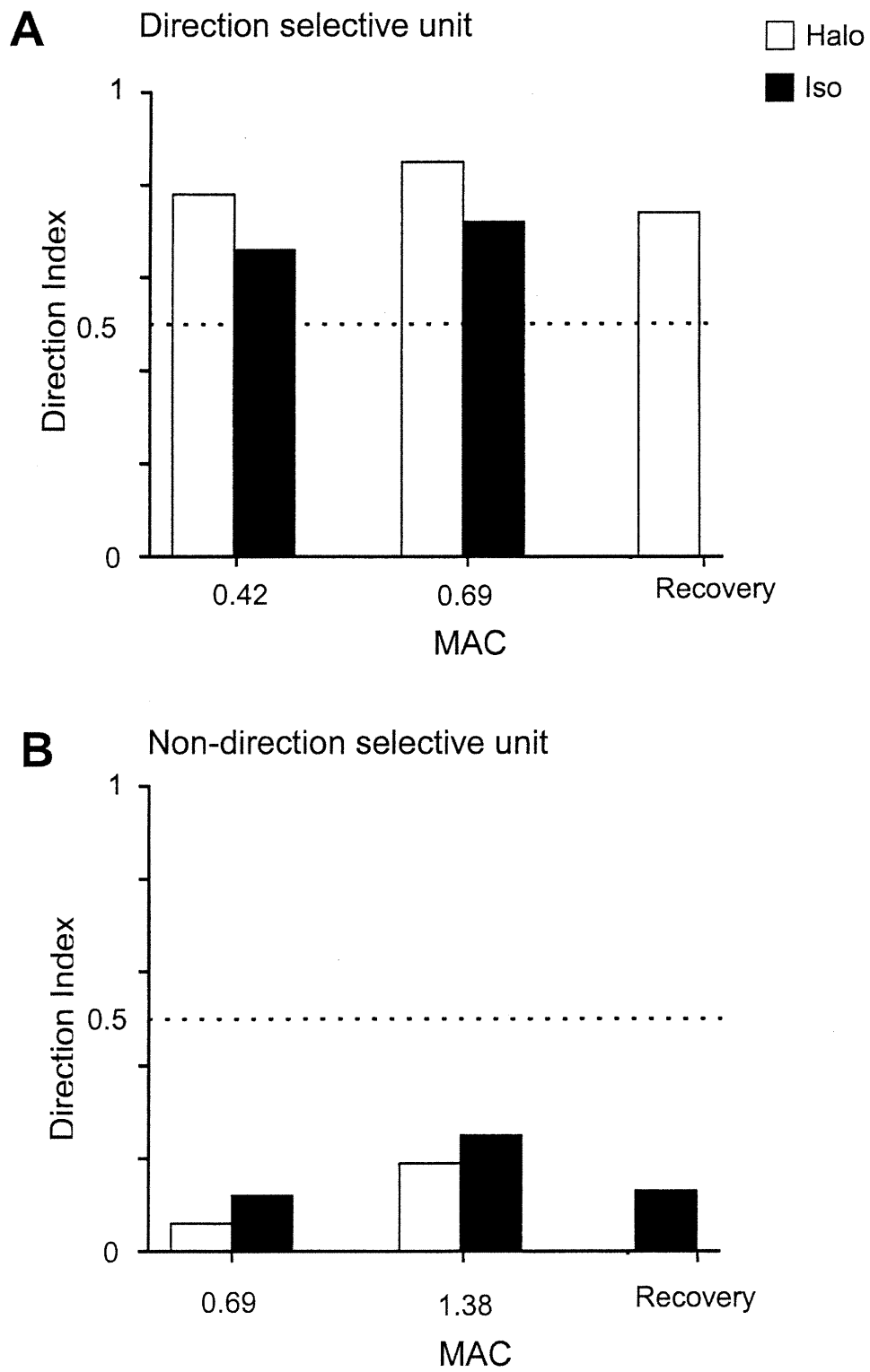


Figure 5. Villeneuve and Casanova

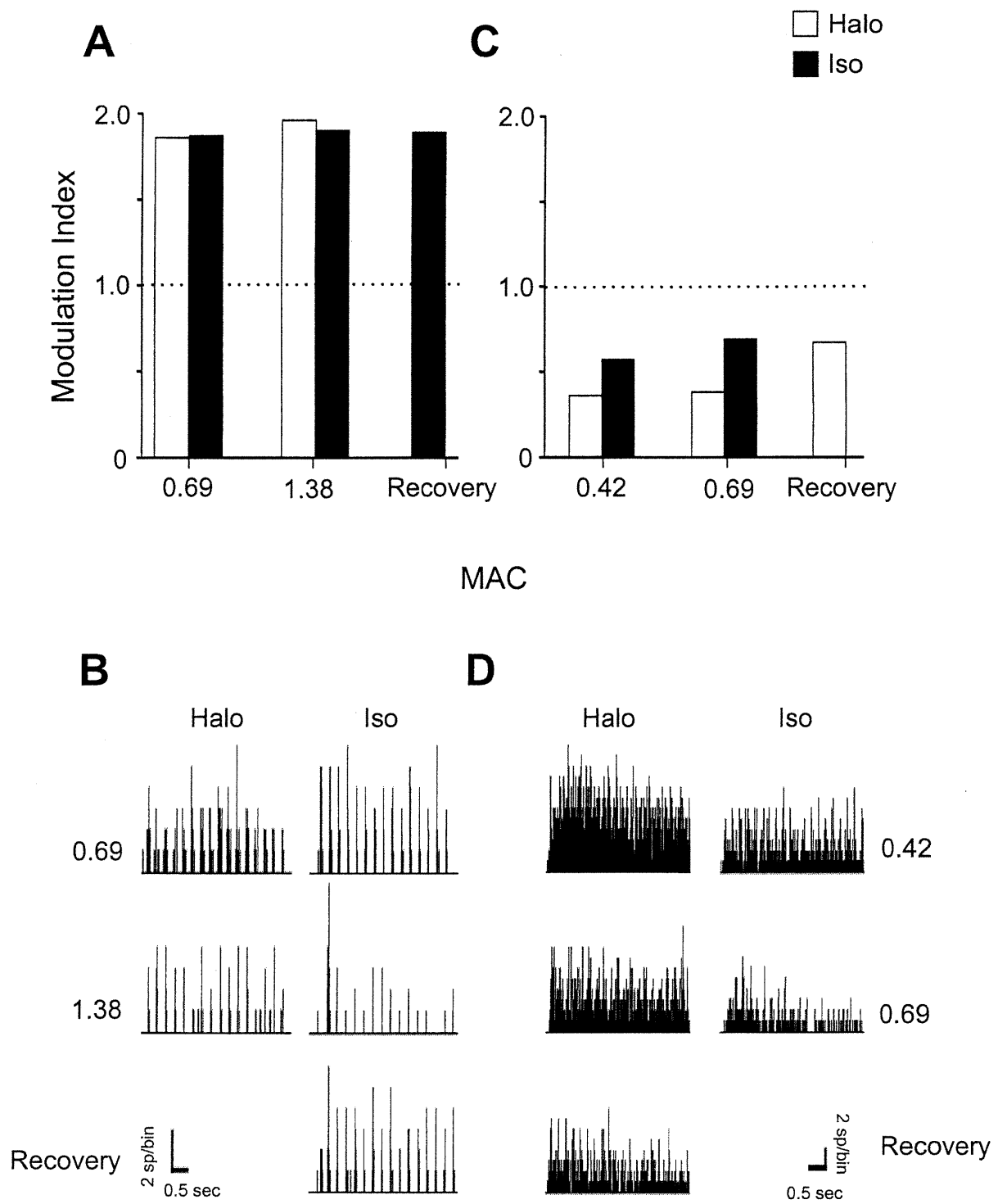


Figure 6. Villeneuve and Casanova

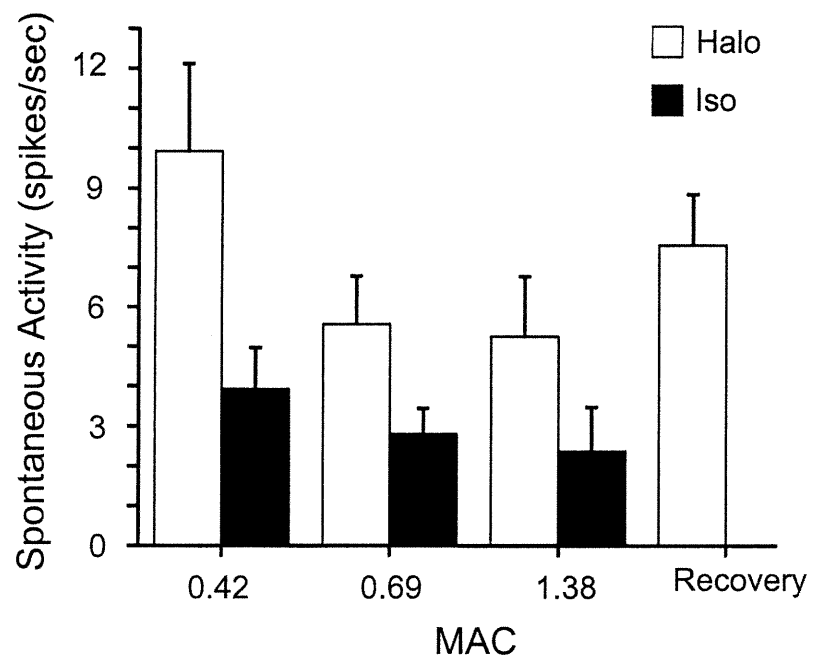


Figure 7. Villeneuve and Casanova

**TABLE LEGEND**

**Table I.** Summary of physiological measurements. Mean  $\pm$  standard deviation.

**FIGURE LEGENDS**

**Fig. 1.** EEG recordings of one cat under different levels of anesthesia (MAC) for halothane and isoflurane mixed with 66% of N<sub>2</sub>O and 33% of O<sub>2</sub>. The presence of burst-suppression patterns observed in isoflurane 1.0 and 1.38 MAC are underlined.

**Fig 2.** Amplitude of response in spike per second (mean and SEM) of a cell in area 17 to a drifting grating presented at optimal parameters (OR: 240°, SF: 0.3 c/deg, TF: 4 Hz) as a function of anesthesia level and type. Panel B shows the PSTHs corresponding. Note that the discharge remains unmodulated throughout the testing period (unaltered response profile). sp/bin: spikes per bin.

**Fig. 3.** Panel A presents spatial frequency tuning function in spike per second (mean and SEM) of a cell tested under different concentrations of halothane (filled symbols) and isoflurane (empty symbols). 0.42 MAC is represented with circles, 0.69 MAC with squares and 1.38 MAC with triangles. Recovery condition corresponds to 0.42 MAC halothane. Panel B presents the corresponding spatial frequency bandwidths of the same cell.

No bandwidth could be measured under 1.38 MAC of isoflurane due to the absence of visual response (see  $\rightarrow\Delta$  in panel A).

**Fig. 4.** Orientation tuning function bandwidths of a cell under different concentrations of halothane and isoflurane. The recovery condition consisted of halothane 0.42 MAC.

**Fig. 5.** Direction indices of two cells under different levels of anesthesia of halothane and isoflurane. Panel A presents the data for a direction selective cell and panel B, for a non-direction selective cell. The recovery conditions were 0.42 MAC of halothane for cell A and 0.69 MAC of isoflurane for cell B. The dot line represents the threshold between a direction selective cell ( $>0.5$ ) and a non-direction selective cell ( $<0.5$ ).

**Fig. 6.** Modulation indices of two cells under different conditions of anesthesia. Panel A shows representative response profiles of a simple cell and panel B is the corresponding PSTHs that illustrate the modulation of the response in relation to a drifting grating. Panel C shows representative response profiles of a complex cell and panel D is the corresponding PSTHs that indicate the absence of modulation of the response in relation to



a drifting grating. The recovery conditions were set at 0.69 MAC of isoflurane for cell A and 0.42 MAC of halothane for cell C. The dot lines represent the threshold between a simple cell ( $<1$ ) and a complex cell ( $>1$ ). sp/bin: spikes per bin

**Fig. 7.** Amplitude of the spontaneous activity in spike per second (mean and SEM) of a cell under different condition of anesthesia. The recovery condition consisted of 0.42 MAC of halothane.

**REFERENCES**

- Allan LG, Hussey AJ, Howie J, Beckett GJ, Smith AF, Hayes JD, Drummond GB (1987) Hepatic glutathione s-transferase release after halothane anaesthesia: open randomised comparison with isoflurane. *Lancet*; 1 (8536): 771-774
- Alonso JM, Usrey WM, Reid RC (1996) Precisely correlated firing in cells of the lateral geniculate nucleus. *Nature*; 383 (6603): 815-819
- Chi OZ and Field C (1986) Effects of isoflurane on visual evoked potential in humans. *Anesthesiology*; 65 (3):328-330
- Cucchiara RF, Theye RA, Michenfelder JD (1974) The effects of isoflurane on Canine Cerebral Metabolism and Blood Flow. *Anesthesiology*; 40 (6): 571-574
- de Sousa SLM, Dickinson R, Lieb WR, Franks NP (2000) Contrasting actions of the inhalational general anesthetics isoflurane and xenon. *Anesthesiology*; 92 (4):1055-1066
- Domino EF, Corssen G, Sweet RB (1963) Effects of various general anesthetics on visually evoked response in man. *Anesth Analg* 42 (6): 735-747

Drummond JC, Todd MM, Shapiro HM (1983a) Cerebral blood flow autoregulation in the cat during anesthesia with halothane and isoflurane. *Anesthesiology*; 59 (3): A305

Drummond JC, Todd MM, Toutant SM, Shapiro HM (1983b) Brain surface protrusion during enflurane, halothane and isoflurane anesthesia in cats. *Anesthesiology*; 59 (4): 288-293

Eger EI, II (1985) Isoflurane (Forane): a compendium and reference. Ohio Medical Products, Madison Wisconsin

Franco G (1989) Occupational exposure to anaesthetics: liver injury, microsomal enzyme induction and preventive aspects. *G Ital Med Lav*; 11 (5): 205-208

Franks NP, Lieb WR (1994) Molecular and cellular mechanisms of general anaesthesia. *Nature*; 367 (6464): 607-614

Franks NP and Lieb WR (1999) Background K<sup>+</sup> channels: an important target for volatile anesthetics? *Nature Neuroscience* 2 (5):395-396

Frost EAM (1984) Inhalation anaesthetic agents in neurosurgery. Br J Anaesth;  
56 Suppl 1: 47S-56S

Grandy JL, Hogdson DS, Dunlop CI, Curtis CR, Heath B (1989)  
Cardiopulmonary effects of halothane anesthesia in cats. AJVR; 50 (10):  
1729-1732

Grundy BL (1983) Electrophysiology monitoring: electroencephalography and  
evoked potentials. In: Handbook of neuroanesthesia: Clinical and  
physiologic essentials (editors Newfield and Cottrell). Boston, Toronto,  
pp 29-59

Hall LW and Taylor PM (1994) Anaesthesia of the cat (9<sup>th</sup> edition). London,  
Ballière Tindall, Toronto

Hartsfield SM and Sawyer DC (1976) Cardiopulmonary effects of rebreathing  
and non-rebreathing systems during halothane anesthesia in the cat.  
AJVR; 37 (12): 1461-1466

Hikasa Y, Kawanabe H, Takase K, Ogasawara S (1996) Comparison of  
sevoflurane, isoflurane and halothane anesthesia in spontaneously  
breathing cats. Vet Surg; 25 (3): 234-243

Hikasa Y, Ohe N, Takase K, Ogasawara S (1997) Cardiopulmonary effects of sevoflurane in cats: comparison with isoflurane, halothane, and enflurane. *Res Vet Sci*; 63 (3): 205-210

Hikasa Y, Yamashita M, Takase K, Ogasawara S (1998) Prolonged sevoflurane, isoflurane and halothane anaesthesia in oxygen using rebreathing or non-rebreathing system in cats. *J Vet Med A*; 45 (9): 559-575

Hodgson DS, Dunlop CI, Chapman PL, Grandy JL (1998) Cardiopulmonary effects of anesthesia induced and maintained with isoflurane in cats. *AJVR*; 59 (2): 182-185

Hoffmann KP and Fischer WH (2001) Directional effect of inactivation of the nucleus of the optic tract on the optokinetic nystagmus in the cat. *Vision Res*; 41 (25-26): 3389-3398

Hubel DH and Wiesel TN (1962) Receptive fields, binocular interaction and functional architecture in the cat's visual cortex. *J Physiol*; 160 (1): 106-154

- Ikeda H and Wright MJ (1974) Sensitivity of neurones in visual cortex (area 17) under different levels of anaesthesia. *Exp Brain Res*; 20 (5): 471-484
- Ingwersen W, Allen DG, Dyson DH, Pascoe PJ, O'Grady MR (1988) Cardiopulmonary effects of halothane/oxygen combination in healthy cats. *Can J Vet Res*; 52 (4): 386-391
- Jenkins A, Franks NP, Lieb WR (1999) Effects of temperature and volatile anaesthetics on GABA<sub>A</sub> receptors. *Anesthesiology*; 90 (2): 484-491
- Johnston RR, Eger EI, II, Wilson C (1976) A comparative interaction of epinephrine with enflurane, isoflurane, and halothane in man. *Anesth and Analg*; 55 (5): 709-712
- Jones MV, Brooks PA, Harrison NL (1992) Enhancement of  $\gamma$ -aminobutyric acid-activated Cl<sup>-</sup> currents in cultured rat hippocampal neurones by three volatile anaesthetics. *J Physiol*; 449 (Apr): 279-293
- Katz RL, Katz GJ (1966) Surgical infiltration of pressor drugs and their interaction with volatiles anaesthetics. *Br J Anaesth*; 38 (9): 712-718

Kohn DF, Wixson SK, White WJ, Benson GJ (1997) Anesthesia and analgesia in laboratory animals. Academic Press, New-York

Lin LH, Chen LL, Zirrolli JA, Harris RA (1992) General anesthetics potentiate GABA actions on GABA<sub>A</sub> receptors expressed by *Xenopus* oocytes: lack of involvement of intracellular calcium. *J Pharmacol Exp Ther*; 263 (2): 569-578

Lucchini R, Placidi D, Toffoletto F, Alessio L (1996) Neurotoxicity in operating room personnel working with gaseous and non-gaseous anesthesia. *Int Arch Occup Environ Health*; 68 (3): 188-192

McKelvey D and Hollingshead JW (2000) Small Animal Anesthesia & Analgesia, second edition. Toronto, Mosby

Merkel G and Eger EI, II (1963) A comparative study of halothane and halopropane anesthesia. Including method for determining equipotency. *Anesthesiology*; 24 (3): 346-357

Merlos JR, Bosnjak ZJ, Purtock RV, Turner LA, Kampine JP (1980) Halothane and enflurane effects on SA node cells. *Anesthesiology*; 53 (3): S143

Mihic SJ, Ye Q, WickMJ, Koltchine VV, Krasowski MD, Finn SE, Mascia MP, Valenzuela CF, Hanson K, Greenblatt EP, Harris RA, Harrison NL (1997) Sites of alcohol and volatile anaesthetic action on GABA<sub>A</sub> and glycine receptors. *Nature*; 389 (6649): 385-389

Miller RD (2000) *Anesthesia*, 5<sup>TH</sup> edn, Churchill Livingstone, New-York

Minville K, Casanova C (1998) Spatial frequency processing in the posteromedial lateral suprasylvian cortex does not depend on the projections from the striate-recipient zone of the cat's lateral posterior pulvinar complex. *Neuroscience*; 84 (3): 699-711

Mori K, Kawamata M, Mitani H, Yamazaki Y, Fujita M (1971) A neurophysiologic study of ketamine anesthesia in the cat. *Anesthesiology*; 35 (4): 373-383

Nakahiro M, Yeh JZ, Brunner E, Narahasi T (1989) General anesthetics modulate GABA receptor channel complex in rat dorsal root ganglion neurons. *FASEB J*; 3 (7): 1850-1854

Ogawa T, Shingu K, Shibata M, Osawa M, Mori K (1992) The divergent actions of volatile anaesthetics on background neuronal activity and



reactive capability in the central nervous system in cats. *Can J Anaesth*; 39(8): 862-872

Scholz A, Appel N, Vogel W (1998) Two types of TTX-resistant and one TTX-sensitive Na<sup>+</sup> channel in rat dorsal root ganglion neurons and their blockade by halothane. *Eur J Neurosci*; 10 (8): 2547-2556

Schröder JH, Fries P, Roelfsema PR, Singer W, Engel AK (2002) Ocular dominance in extrastriate cortex of strabismic cats. *Vision Res*; 42 (1): 29-39

Sebel PS, Ingram DA, Flynn PJ (1986) Evoked potentials during isoflurane anaesthesia. *Br J Anaesth*; 58 (6): 580-585

Sengpiel F and Bonhoeffer T (2002) Orientation specificity of contrast adaptation in visual cortical pinwheel centers and iso-orientation domains. *Eur J Neurosci*; 15 (5):876-886

Sessler DI (2000) Temperature monitoring. In: *Anesthesia 5<sup>th</sup> edition*, editor RD. Miller. pp. 1367-1389

- Sillito AM (1977) Inhibitory processes underlying the directional specificity of simple, complex and hypercomplex cells in the cat's visual cortex. *J Physiol*; 271 (3): 699-720
- Steffey EP, Gillespie JR, Berry JD, Eger EI, II, Munson ES (1974) Anesthetic potency (MAC) of nitrous oxide in the dog, cat, and stump-tail monkey. *J Appl Physiol*; 36 (5): 530-532
- Steffey EP and Howland D, jr (1977) Isoflurane potency in the dog and cat. *AJVR*; 38 (11): 1833-1836
- Suder K, Funke K, Zhao Y, Kerscher N, Wennekers, Wörgötter F (2002) Spatial dynamics of receptive fields in cat primary visual cortex related to the temporal structure of thalamocortical feedforward activity. *Exp Brain Res*; 144 (4): 430-444
- Theye RA and Michenfelder JD (1968) The effects of halothane on canine cerebral metabolism. *Anesthesiology*; 29 (6): 1113-1118
- Tigwell DA and Sauter J (1992) On the use of isoflurane as an anesthetic for visual neurophysiology. *Exp Brain Res*; 88 (1): 224-228

- Todd MM and Drummond JC (1984) A comparison of the cerebrovascular and metabolic effects of halothane and isoflurane in the cat. *Anesthesiology*; 60 (4): 276-282
- Todd MM, Drummond JC, Shapiro HM (1982) Comparative cerebrovascular and metabolic effects of halothane, enflurane and isoflurane. *Anesthesiology (ASA Abs)*; 57 (3): A332
- Tsumoto T, Eckart W, Creutzfeldt OD (1979) Modification of orientation sensitivity of cat visual cortex neurons by removal of GABA-mediated inhibition. *Exp Brain Res*; 34 (2): 351-363
- Tsushima K, Shingu K, Ikeda S, Kimura H, Yamada K, Murao K (1998) Suppression actions of volatile anaesthetics on response capability in cats. *Can J Anaesth*; 45 (3): 240-245
- Uhl RR, Squires KC Bruce DL, et al. (1980) Effect of halothane anesthesia on the human cortical visual evoked response. *Anesthesiology*; 53 (4): 273-276
- Villeneuve MY, Ouellette BG, Huppé-Gourgues F, Casanova C (2000) On the use of Isoflurane versus Halothane for single cell recording in the primary visual cortex. *SFN Abs*; 26: 140

- Wollman H, Alexander SC, Chen PJ, Smith TC, Chase PE, Melman E, Behar MG (1964) Cerebral circulation of the man during halothane anesthesia. *Anesthesiology*; 25 (2): 180-184
- Xi MC, Fung SJ, Yamuy, Morales FR, Chase MH (2002) Induction of active (REM) sleep and motor inhibition by hypocretin in the nucleus pontis oralis of the cat. *J Neurophysiol*; 87 (6): 2880-2888
- Young JM, Waleszczyk WJ, Burke W, Calford MB, Dreher B (2002) Topographic reorganization in area 18 of adult cats following circumscribed monocular retinal lesions in adolescence. *J Physiol*; 541 (1): 601-612

## **DISCUSSION**

Les résultats indiquent qu'une anesthésie générale produit une altération importante des fonctions cérébrales. Les enregistrements de l'activité cérébrale générale des chats ont démontré que l'isoflurane modifie davantage l'intégrité de ces fonctions que l'halothane. Ces modifications observées lors des enregistrements d'EEG se reflètent également au niveau cellulaire, car les neurones enregistrés sous une anesthésie à l'isoflurane affichaient une moins grande amplitude de réponse neuronale visuelle que lorsqu'ils étaient sous anesthésie à l'halothane. La sélectivité à la fréquence spatiale des champs récepteurs des cellules est également modifiée spécifiquement par l'agent anesthésique. Par surcroît, ce n'est pas tous les paramètres fonctionnels des cellules qui sont affectée. Les sélectivités à l'orientation, à la direction ainsi que l'organisation interne du champ récepteur sont indépendantes des conditions d'anesthésie (agent/concentration).

La physiologie des chats est grandement affectée par le niveau d'anesthésie. Le rythme cardiaque, le  $p\text{CO}_2$  pulmonaire expiré ainsi que la température du corps diminuent tous en relation à une augmentation de la concentration administrée d'halothane ou d'isoflurane. Également, des altérations spécifiques aux agents émergents, lors d'une anesthésie à l'halothane, le  $p\text{CO}_2$  pulmonaire expiré est plus bas et la température de corps est plus haute que lors d'une anesthésie à l'isoflurane.

#### Fonctions cardio-pulmonaires

### *Fréquence cardiaque*

La fréquence cardiaque est souvent utilisé pour déterminer la profondeur d'anesthésie de l'animal (Grandy et al., 1989; Kohn et al., 1997; McKelvey et Hollingshead, 2000). Dans le présent protocole, la fréquence cardiaque est influencée par la concentration de l'agent. Une augmentation de la concentration des deux agents engendre une diminution importante de la fréquence cardiaque. Cette diminution est semblable pour les deux agents: ils ont le même effet sur la fréquence cardiaque du chat et ce à différents multiples de CAM. Cette relation étroite entre la fréquence cardiaque et le niveau d'anesthésie a déjà été soulignée dans plusieurs études antérieures (Ikeda et Wright, 1974; Hartsfield et Sawyer, 1976; Ingwersen et al., 1988; Hikasa et al., 1997; Hodgson et al., 1998) et des livres de références (Kohn et al., 1997; McKelvey et Hollingshead, 2000) et réaffirme que l'évaluation de la fréquence cardiaque est un moyen efficace pour contrôler et déterminer le niveau d'anesthésie de l'animal. Par contre, ce lien entre le niveau d'anesthésie et la fréquence cardiaque de l'animal n'a pas été décrit dans toutes les études. Une augmentation de la concentration de 1.3 à 2.0 CAM d'halothane ne change pas la fréquence cardiaque chez le chat (Grandy et al., 1989). Cependant, les valeurs étudiées dans la présente étude ne dépassaient pas 1.38 CAM, tandis que les multiples CAM de Grandy et al. débutaient à 1.3 CAM. Un changement dans la relation entre le niveau d'anesthésie et la fréquence cardiaque semble émerger vers 1.3 CAM (effet plancher), ce qui expliquerait la divergence des

résultats entre les deux études. D'autre part, l'isoflurane ne produit pas de modification importante de la fréquence cardiaque du chat lorsque la dose est augmentée de 1.0 à 2.4 CAM (Steffey et Howland, 1977). Encore un fois, l'étendue des concentrations choisies est potentiellement un élément qui expliquerait la divergence des résultats. Il semble donc que la relation entre le niveau d'anesthésie et la fréquence cardiaque décrite dans la présente étude ne soit pas linéaire pour un grand éventail de concentrations. La fréquence cardiaque n'étant pas la seule mesure importante à considérer pour évaluer l'impact d'un agent sur les fonctions cardiaques, des études sur le débit sanguin et l'arythmie ont démontré la présence de différences importantes entre l'halothane et l'isoflurane sur les fonctions cardio-vasculaires. Il semble que l'isoflurane protège davantage les fonctions cardiaques comparativement à l'halothane car une anesthésie à l'isoflurane n'engendre pas de modification du débit sanguin, contrairement à l'halothane (Wollman et al., 1964; Theye et Michenfelder, 1968; Cucchiara et al., 1974; Todd et al., 1982; Eger, 1985a). L'halothane rend le cœur plus sensible à la relâche de catécholamines, ce qui explique la relation étroite entre cet agent et l'arythmie (Katz et Katz, 1966; Johnston et al., 1976; Merlos et al., 1980; Hikasa et al., 1996). Par une observation qualitative, nous avons remarqué que la rare présence d'arythmie chez quelques animaux a toujours été en présence d'halothane. Remarquant une relation entre l'halothane et l'arythmie, il était de mise de changer l'agent anesthésique pour l'isoflurane, qui n'est pas lié à ce trouble cardiaque. Quelques minutes suivant le changement d'agent, l'arythmie diminuait



considérablement (il n'y avait pas d'enregistrements de fait durant les périodes d'arythmies). Comme Harvey et Short (1983) l'ont démontré empiriquement, nous avons observé que l'isoflurane n'est pas lié à l'arythmie contrairement à l'halothane. Somme toutes, les deux agents agissant de façon similaire sur la fréquence cardiaque, aucun des deux agents ne se démarquent sur ce paramètre. En considérant que l'halothane peut produire un certain niveau d'arythmie, il semble que les effets limités de l'isoflurane sur ce paramètre favorisent cet agent. Il faut souligner que les cas d'arythmies étaient rares et brefs et que l'utilisation de l'halothane ne semble pas avoir de contre-indications majeures sur les fonctions cardiaques. Toutefois, pour des sujets présentant une défaillance cardiaque, l'halothane semble l'agent de prédilection.

#### *pCO<sub>2</sub> pulmonaire*

Les valeurs de  $pCO_2$  pulmonaire sont généralement utilisées pour évaluer l'état du métabolisme et de la ventilation de l'animal et ainsi ajuster le rythme respiratoire en conséquence. Les résultats démontrent que l'halothane maintient le  $pCO_2$  du chat à des niveaux plus bas qu'une anesthésie de niveau équivalent d'isoflurane. Ce dernier semble déprimer davantage le centre de contrôle respiratoire. Le  $pCO_2$  pulmonaire est sensible à la concentration des deux agents anesthésiques: une augmentation de la concentration de l'un ou l'autre des agents produit une diminution du  $pCO_2$ . Ces données sont à l'encontre des autres études évaluant le  $pCO_2$  en fonction du degré d'anesthésie

qui décrivent un effet inverse, i.e. une augmentation du degré d'anesthésie engendre une augmentation du  $p\text{CO}_2$  (Steffey et Howland, 1977; Grandy et al., 1989; Hodgson et al., 1998). Des différences importantes entre les protocoles d'anesthésies peuvent expliquer ces différences. Les concentrations utilisées dans les études mentionnées ci haut s'étendent sur des valeurs CAM plus élevées que le présent protocole (1.0 à 2.4 CAM vs 0.42 à 1.38 CAM). De plus, la durée des expériences est considérablement différente (quelques heures vs quelques jours) ainsi que le mode de ventilation utilisé (spontanée vs contrôlée). En sachant que la durée de l'anesthésie a une influence significative sur le  $p\text{CO}_2$  (Hikasa et al., 1998), ce facteur peut expliquer la différence entre les résultats. Une autre possibilité est que la diminution du  $p\text{CO}_2$  qui accompagne généralement une ventilation contrôlée (Grandy et al., 1989; Hodgson et al., 1998) provoque une modification de certains paramètres importants dans le métabolisme de l'animal qui n'était pas observé dans les études antérieures. Cependant, il est important de mentionner que malgré la différence observée entre l'halothane et l'isoflurane, les valeurs de  $p\text{CO}_2$ , sous l'un ou l'autre des agents sont demeurées dans un écart normal (28-38 mmHg).

#### *Température du corps*

Il peut sembler surprenant d'évaluer les modifications de la température de l'animal lorsque celui-ci est placé sur un tapis chauffant rétroactif. Il est intéressant de découvrir que malgré un tel système, une altération de la

température de l'animal en relation avec le niveau d'anesthésie est encore possible. Une augmentation de la concentration des agents anesthésiques engendre en effet une baisse de la température de l'animal, une relation courante en anesthésie (Hall et Taylor, 1994; Kohn et al., 1997; McKelvey et Hollingshead, 2000; Miller, 2000). L'halothane préserve la température de l'animal à des niveaux plus haut que des concentrations équivalentes d'isoflurane est un résultat plutôt inattendu. À notre connaissance, c'est la première fois qu'une distinction entre ces deux agents est faite basée sur des paramètres de thermorégulation. Les neurones de l'hypothalamus qui contrôlent la température du corps de l'animal (Sessler, 2000) sont probablement affectés de la même façon que les neurones de l'aire 17. La présence d'isoflurane engendre une diminution plus importante du niveau de réponse optimal des neurones de l'hypothalamus, ce qui engendre une plus grande diminution de la température de l'animal lors d'une anesthésie à l'isoflurane comparativement à l'halothane qui maintien le niveau de réponse des cellules à un niveau plus élevé. Une évaluation plus rigoureuse des modifications engendrées par les agents anesthésiques, sans tapis chauffant rétroactif, est donc nécessaire pour bien saisir la portée des résultats présentés ici.

### Électrophysiologie

### *Électroencéphalogramme*

Une évaluation globale de l'activité cérébrale est généralement faite en neurosciences pour déterminer l'état du cerveau et, ainsi juger du niveau d'anesthésie de l'animal. Comme il a été démontré dans d'autres laboratoires (Ogawa et al., 1992; Tsushima et al., 1998), les résultats présentés ici démontrent bien que l'activité du cerveau est altérée de façon spécifique à l'agent anesthésique. Les mesures d'EEG sont plus affectées par une anesthésie à l'isoflurane que par une anesthésie à l'halothane. La principale modification provoquée par l'isoflurane est l'apparition de patrons de réponses caractérisés par des pointes spontanées de haut voltage, de faible latence, séparées par ce qui ressemble à un silence électrique (*burst-suppression patterns*; Eger, 1985a). Ce patron de réponse a été observé à aucune des concentrations d'halothane. Cette corrélation entre une anesthésie à l'isoflurane et l'apparition de pointes spontanées est établie depuis plusieurs années (Julien et Kavan, 1974; Kavan et al., 1974; Kavan et Julien 1974; Grundy et al., 1983; Ogawa et al., 1998; Tsushima et al., 1998). L'isoflurane est un agent anesthésique dans une classe à part car il augmente le niveau de synchronie et produit une plus grande incidence de pointes spontanées que la plupart des autres agents anesthésiques volatiles (Stockard et Brickford, 1975; Eger, 1985a). Ce genre d'altération de l'activité globale du cerveau ne survient qu'à des concentrations de 3-4 CAM d'halothane (Stockard et Brickford, 1975; Miller, 2000). Il est même suggéré de ne pas tenter de produire ce genre de patron de réponse avec l'halothane car des

concentrations aussi élevées sont très toxiques pour le système cardiovasculaire de l'animal (Miller, 2000). Ogawa et al. (1992) et Tsushima et al. (1998) ont également souligné les différentes implications entre les deux agents en mentionnant que les EEG sous une anesthésie à l'halothane sont similaires à ceux de concentrations plus basses d'isoflurane. Ils mentionnent également qu'une augmentation de la concentration des deux agents engendre des modifications des EEG, mais que les changements produits par l'halothane sont moindres que ceux produits par l'isoflurane. L'activité neuronale de la formation réticulée, qui est étroitement relié avec l'état général d'activité du cerveau (Mori et al., 1971) est également davantage diminuée par une anesthésie à l'isoflurane qu'une anesthésie à l'halothane (Ogawa et al., 1992; Tsushima et al., 1998). Donc, les modifications enregistrées sur l'EEG proviennent du cortex ou de la modification de l'activité des neurones ascendants de la formation réticulée. Cependant, il semble que l'apport de la formation réticulée dans l'état anesthésique soit limité, car Rampil et al. (1993) ont démontré qu'un rat décérébré présente les mêmes valeurs CAM qu'un rat normal.

Les mesures d'EEG ont l'avantage d'offrir, par un moyen relativement facile, une évaluation globale de l'activité cérébrale. Par contre, l'état fonctionnel du cerveau n'est pas révélé de façon précise par ce type d'enregistrement. Des mesures de l'activité générale fonctionnelle du cerveau sont donc des instruments qui donnent un supplément d'informations primordiales pour bien saisir l'impact des drogues sur le cerveau. Tout en

restant des évaluations de l'activité globale du cerveau, les différents types de potentiels évoqués corroborent nos observations obtenues avec les enregistrements EEG. Il a été démontré que les potentiels évoqués visuels (PEVs) présentent une altération spécifique à l'agent d'anesthésie. Les PEVs sont davantage altérés par une anesthésie à l'isoflurane que par l'halothane (Ogawa et al., 1992). Une augmentation de la concentration d'isoflurane engendre une augmentation de la latence ainsi qu'une diminution de l'amplitude des PEVs (Chi et Field, 1986; Sebel et al., 1986). Par contre, une augmentation de la concentration d'halothane engendre seulement une augmentation de la latence sans influencer l'amplitude des PEVs (Domino et al., 1963; Uhl et al., 1980).

De par les enregistrements d'EEG et les PEVs, l'halothane devrait être préféré à l'isoflurane lorsque l'activité du cerveau est un élément principal du protocole de recherche.

#### *Enregistrements unitaires*

Les enregistrements au niveau cellulaire confirment les observations faites à l'aide d'EEG. Une modification des propriétés cellulaires spécifiques aux agents en cause a été observée à l'aide des enregistrements unitaires. En l'occurrence, l'isoflurane réduit davantage l'amplitude de la réponse neuronale optimale comparativement à une concentration équivalente d'halothane. L'amplitude de la réponse neuronale est un élément important relié au succès

d'une expérience électrophysiologique. La diminution importante de l'amplitude de la réponse neuronale engendrée par l'isoflurane est donc un aspect majeur. Cette modification est étroitement reliée aux altérations observées sur les EGG et est en accord avec la littérature sur les PEVs (Domino et al., 1963; Uhl et al., 1980; Chi et al., 1986; Sebel et al., 1986; Ogawa et al., 1992). La présente étude souligne également que la concentration d'agent utilisé altère les propriétés des cellules de l'aire 17 du chat. Les modifications de certaines propriétés cellulaires ont déjà été investiguées par Ikeda et Wright (1974), mais seulement pour l'halothane, car l'isoflurane n'était pas disponible à cette époque. Aucune étude ne s'est penchée sur le sujet de l'isoflurane. Seul Tigwell et Sauter (1992) ont démontré qu'il est possible d'enregistrer des réponses cellulaires chez le singe lors d'une anesthésie à l'isoflurane, ce qui n'est pas surprenant considérant les faibles concentrations d'anesthésiants utilisées (0.5-0.9%). Dans la présente étude, des réponses neuronales ont également été enregistrées chez le chat à des concentrations similaires d'isoflurane. De plus, les auteurs ne fournissent pas d'information quant aux mesures de concentrations d'anesthésiants (expirée ou sur le vaporisateur), ce qui rend la comparaison entre leur résultats et les nôtres impossible. La présente recherche fournit de l'information additionnelle de par l'étude parallèle des altérations produites par l'halothane et l'isoflurane, et ce pour un large éventail de concentrations cliniquement significatives.

Comme l'amplitude de la réponse neuronale spécifique à un stimulus visuelle, l'amplitude de la réponse cellulaire non spécifique mesurée par

l'activité spontanée est affectée de façon similaire. L'halothane maintient l'amplitude de l'activité spontanée spécifique à des niveaux plus élevés qu'une anesthésie à l'isoflurane, ce qui corrobore les résultats exécutés sur l'activité multi unitaire de la formation réticulée (Ogawa et al., 1992; Tsushima et al., 1998). Ces deux laboratoires ont démontré que la présence d'isoflurane dans le protocole anesthésique engendre une diminution plus marquée de l'activité des neurones de la formation réticulée que l'halothane. Également, Ogawa et al. (1992) soulignent que le niveau d'activité des cellules de la formation réticulée n'est pas sensible à la concentration de l'agent anesthésique, ce qui concorde avec le fait que le niveau d'activité spontanée des cellules corticales n'est pas influencé par la concentration d'agent anesthésique.

D'autres paramètres importants lors d'une investigation des propriétés de bases des champs récepteurs des cellules de l'aire 17 ont également été considérés. La fréquence spatiale optimale reste stable lors des différentes profondeurs d'anesthésie pour le deux agents, ce qui confirme les résultats déjà obtenue pour l'halothane (Ikeda et Wright, 1974). Par contre, la sélectivité à la fréquence spatiale des cellules visuelles présente une dynamique différente selon l'agent anesthésique et la concentration de celui-ci. Une augmentation de la concentration d'halothane engendre une diminution de la sélectivité à la fréquence spatiale, ce qui corrobore les résultats obtenus par Ikeda et Wright (1974). Par contre, la présente étude ajoute énormément d'information en comparant ces résultats à l'isoflurane. Une anesthésie à l'isoflurane provoque une modification de la sélectivité à la fréquence spatiale de façon contraire à la



modification engendrée par l'halothane: une augmentation de la concentration d'isoflurane provoque une augmentation de la sélectivité à la fréquence spatiale. De par l'étude conjointe de ces deux agents, il est maintenant possible d'identifier que l'halothane et l'isoflurane présentent des effets spécifiques et très différents sur la sélectivité à la fréquence spatiale des cellules de l'aire 17 du chat. Des effets divergents de ces deux anesthésiques qui peuvent potentiellement produire des résultats conflictuels seulement sur la base de l'agent anesthésique. L'étude de Spengpiel et Bonhoeffer (2002), en est un bon exemple. Lors d'une étude sur les mécanismes de l'adaptation, ils ont souligné le fait que les cellules répondaient de façon différentes en relation à l'agent anesthésique choisi, en l'occurrence, l'halothane ou l'isoflurane. Ils mentionnent que les cellules sous l'influence de l'isoflurane démontraient une adaptation de leur réponse neuronale significative lors de la présentation d'un réseau orthogonal, contrairement aux cellules sous l'halothane. Par contre, l'évaluation des différences provoquées par les agents anesthésiques n'étant pas l'objet principal de cette recherche, ils n'explicitent pas les implications engendrées par l'agent anesthésique en relation avec les fonctions cérébrales. La présente étude est la première qui identifie clairement les implications de l'agent anesthésique dans un protocole de recherche en neurosciences.

Les agents anesthésiques produisent donc des altérations spécifiques des paramètres fonctionnels des cellules. Par contre, certaines caractéristiques des champs récepteurs ne sont pas affectées par les conditions d'anesthésie. La sélectivité à l'orientation, la sélectivité à la direction et l'organisation interne

des champs récepteurs ne sont pas modifiées par les conditions d'anesthésie, i.e. malgré un changement de concentration et/ou d'agent, ces paramètres fonctionnels des cellules de l'aire 17 ne sont pas modifiés. Cependant, l'absence de relation entre une augmentation de la concentration d'halothane et la sélectivité à l'orientation contredit les résultats obtenus par Ikeda et Wright (1974). Ils ont démontré qu'une augmentation de la concentration d'halothane est reliée à une diminution de la sélectivité à l'orientation. Par contre, les différences observées dans leur étude sont le mieux illustrées entre les deux condition suivante: N<sub>2</sub>O (80%) vs N<sub>2</sub>O (80%) + 0.2% d'halothane. Ces niveaux d'anesthésie n'ont pas été étudiés dans la présente recherche, par crainte d'une anesthésie trop légère pour l'animal. Les différences entre les résultats des deux études peuvent se situées au niveau de la profondeur d'anesthésie utilisée par les protocoles respectifs.

Les paramètres ci haut mentionnés, la sélectivité à l'orientation, à la direction ainsi que l'organisation interne du champ récepteur, sont des caractéristiques fonctionnelles qui sont modulées par le GABA (Sillito, 1977; Tsumoto et al., 1979). De plus, il semble que des concentrations d'agents anesthésique cliniquement significative *in vitro* accentue l'activité des récepteurs de ce système, plus précisément les récepteurs GABA<sub>A</sub> (Nakahiro et al., 1989; Jones et al., 1992; Lin et al., 1992; Franks and Lieb, 1994; Mihic et al., 1997; Scholz et al., 1998; Franks and Lieb, 1999; Jenkins et al., 1999; de Sousa et al., 2000). Donc, si les observations *in vitro* sont généralisable *in vivo*, une modification importante de la sélectivité à l'orientation, à la direction et

l'organisation interne du champ récepteur devrait être reliée à une augmentation de la concentration de l'un ou l'autre des agents. Cependant, les résultats présentés ici indiquent que l'activation des récepteurs GABA, qui devrait suivre une augmentation de la concentration d'halothane ou d'isoflurane, ne provoque pas de changement fonctionnel significatif, car les différents types de sélectivités (orientation et direction) et l'organisation interne du champ récepteur ne sont pas modifiées significativement lors d'une augmentation de la concentration des agents. Les résultats présentés ici posent ainsi un certain doute sur l'hypothèse généralement acceptée que les agents anesthésiques volatiles agissent, entre autre, comme agonistes GABA. Une évaluation approfondie des mécanismes d'action moléculaires des agents anesthésiques *in vivo* pourrait expliquer, avec davantage de précision, l'absence d'altération des paramètres mentionnés ci haut suivant une augmentation de la profondeur d'anesthésie.

#### Considérations méthodologiques

Un certains nombres d'ajustements à la méthodologie de la présente étude pourraient améliorer la portée scientifique de ses conclusions. Une évaluation pré-anesthésie de fonctions physiologiques de bases (température et rythme cardiaque) aurait fourni davantage d'information sur les modifications physiologiques induites par les différents agents. Une évaluation de ces paramètres lors de l'induction de l'anesthésie générale aurait également permis

d'identifier les altérations de la température et du rythme cardiaque lors d'une administration de concentrations élevées d'agents anesthésiques. Également, de l'information sur le déroulement temporel des modifications observées pendant l'induction (modification graduelle ou spontanée) aurait accru nos connaissances des agents.

La pression sanguine, qui est un aspect important à évaluer lors d'une anesthésie, n'est généralement pas monitoré en neurosciences. Par manque d'équipement, il nous était impossible d'évaluer les modifications de la pression sanguine sous différentes conditions d'anesthésie, mais il est évident que ces données auraient procurées plus amples informations sur la sensibilité du système cardio-vasculaire lors d'une anesthésie. Se procurer l'instrumentation nécessaire pour mesurer la température de l'animal au niveau de l'œsophage serait également un aspect à considérer pour les prochaines études, ce qui permettrait de réagir plus rapidement lors d'une chute de température de l'animal car la température du rectum chute plus lentement que la température centrale du corps (Sessler, 2000).

Le protocole expérimental aurait pu également subir quelques modifications qui auraient permis de répondre à un plus grand nombre de questions. L'utilisation de l'halothane et de l'isoflurane seul, sans l'ajout de  $N_2O$ , aurait ciblée plus précisément les effets de ces agents en limitant l'interaction qu'il peut se produire avec le  $N_2O$ . Par contre, la longue durée de l'expérience nous contraint à fournir un niveau limité d' $O_2$ . Donner 100% d' $O_2$  à l'animal pendant quelques jours créerait un haut niveau de toxicité et

limiterait le bon fonctionnement de l'expérience. L'ajout de 66% N<sub>2</sub>O permet de réduire le taux d'O<sub>2</sub> en conséquence et ainsi réduire la toxicité et augmenter les chances de succès de l'expérience. De plus, le N<sub>2</sub>O sert comme agent anesthésique.

Par contre, un enregistrement continue des paramètres physiologiques (température, pCO<sub>2</sub> expiré et fréquence cardiaque) et cérébraux (EEG et unitaire) aurait été un changement sans grandes répercussions pour le présent projet tout en fournissant de l'information considérables sur le décours temporel des changements observés lors des changements de concentration et d'agents. Cela aurait fournie de l'information précieuse sur la dynamique des modifications observées.

De plus, il semble qu'un seul changement de concentration ou d'agent à la fois aurait été plus judicieux, i.e. prendre les mesures pour la situation contrôle, faire un changement de concentration et/ou de l'agent pour revenir immédiatement à la situation contrôle. Ce genre de protocole expérimental aurait été plus approprié, mais lorsque le nombre de condition est considéré (2 agents X 4 concentrations), on se rend compte que le nombre de cellules enregistrées pour chaque conditions aurait été très limité et aurait ainsi affecté grandement les valeurs statistiques des tests. Une autre alternative aurait été de soumettre chaque cellule à toutes les conditions d'anesthésies. Également dans cette situation, un nombre extrêmement limité de cellules auraient été en mesure de demeurer actives pour une période de temps aussi longue (9 à 10 heures). Donc, le présent protocole, quoiqu'il n'est pas idéal, est un bon

compromis pour avoir un échantillon représentatif de toute la région étudiée tout en fournissant des résultats statistiquement fiables.

### Expériences futures

Le domaine des agents anesthésiques et de leurs implications au niveau des fonctions cérébrales n'est pas un domaine récent. French et al. se sont intéressés à cette question dès 1953. Malgré la littérature abondante concernant ce domaine à l'aide des enregistrements EEG et des potentiels évoqués, il est encore très rare de voir une investigation au niveau cellulaire *in vivo* des effets des agents anesthésiques. La présente étude s'intéressait particulièrement aux paramètres de bases des cellules du cortex visuel primaire du chat. Plusieurs autres paramètres sont également susceptibles de subir des modifications spécifiques aux agents anesthésiques. Il semble que l'halothane et l'isoflurane agissent de façon spécifique sur le niveau d'adaptation des cellules de l'aire 17 de chat (Spengpiel et Bonhoeffer, 2002), il est donc possible que différentes relations existent entre les propriétés des champs récepteurs et les agents anesthésiques. De plus, il serait intéressant de vérifier les modifications engendrées par d'autres agents anesthésiques. L'enflurane semble être un agent anesthésique produisant un effet excitateur sur les fonctions cérébrale de par l'augmentation de l'amplitude des PEVs qu'il engendre, par contre il agit sur l'EEG de façon semblable à l'isoflurane (Ogawa et al., 1992). Ce produit

semble présenté une dynamique totalement différente des autres agents anesthésiques sur les fonctions cérébrales.

Une dichotomie importante est présente dans le choix d'un protocole anesthésique: agents injectables vs agents volatiles. Les mécanismes d'actions des agents injectables sont mieux connus que ceux impliquant les agents volatiles, une comparaison de leur effets sur les fonctions cérébrales *in vivo* semble primordiale dans l'établissement d'un modèle complet des mécanismes d'actions des agents anesthésiques. De plus, chez les petits animaux comme les rongeurs, les agents injectables sont de mise tandis que pour les chats et singes, les agents volatiles sont habituellement utilisés. Par contre, personne n'est en mesure de prouver que l'une ou l'autre de ces techniques est plus appropriées pour l'étude des fonctions cérébrales. L'anesthésie par inhalation est une technique plus flexible (voir introduction), mais pour le maintien des fonctions cérébrales, rien n'a été fait pour résoudre cette question.

L'étude de ses effets chez d'autres espèces animales, tel le singe qui est très utilisé en recherche, est également d'un grand intérêt. Seul Tigwell et Sauter (1992) ont souligné le fait qu'il est possible d'enregistrer des cellules de l'aire visuelle primaire chez le singe avec de faible concentration d'isoflurane. Une étude approfondie des modifications observées par différentes concentrations de plusieurs agents chez cette espèce fréquemment utilisée en neurosciences procurerait de l'information essentielle aux laboratoires concernés. De plus il serait possible d'identifier s'il y a une correspondance

inter-espèce des altérations des fonctions cérébrales provoquées par les agents anesthésiques.

### Conclusion

La présente étude est la première à identifier que l'isoflurane a un effet dépresseur plus marqué que l'halothane sur l'activité évoquée des neurones visuels. La moins grande toxicité de l'isoflurane et son faible effet sur la pression intracrânienne font que ce produit devrait être l'agent de prédilection pour la portion neurochirurgie de l'expérience. Cependant, l'halothane devrait être considéré comme l'agent à favoriser pour l'évaluation électrophysiologique des fonctions cérébrales, que ce soit par enregistrements unicellulaires ou par EEG, car cet agent permet l'enregistrement de réponses neuronales d'une plus forte amplitude. Les agents anesthésiques agissant sur tout le cerveau, il est possible que les autres systèmes sensoriels soient atteints de façon similaire au système visuel.



**SOURCES DOCUMENTAIRES**

Algan B, Pierre I, Leyder JL (1974) Les anesthésiques en ophtalmologie. Doin editeur, Paris

Allan LG, Hussey AJ, Howie J, Beckett GJ, Smith AF, Hayes JD, Drummond GB (1987) Hepatic glutathione s-transferase release after halothane anaesthesia: open randomised comparison with isoflurane. *Lancet*; 1 (8536): 771-774

Anonyme (1922) Noted anesthetist dies a martyr to his skill. *Anesth Analg (Cleve)* 1:18

Askrog V et Harvald B (1970) Teratogenic effects of inhalation anesthetics. *Nord Med*; 83 (16): 498-500

Baden JM et Rice SA (2000) Metabolism and toxicity. In: *Anesthesia*, 5<sup>th</sup> edn (editor RD Miller) Churchill Livingstone, New-York, p. 147

Bednarski RM et Majors LJ (1986) Ketamine and the arrhythmogenic dose of epinephrine in cats anesthetized with halothane and isoflurane. *Am J Vet Res*; 47 (10): 2122-2125

Benumof JL (2000) Respiratory physiology and respiratory function during anesthesia. In: Anesthesia 2<sup>nd</sup> (editor RD Miller), Churchill Livingstone, New-York

Bull A (1997) The start of the halothane story. World Anesthesia; 1 (1): article 7

Chenoweth MB, Leong BKJ, Sparschu GL, et al. (1972) Toxicities of methoxyfurane, halothane, and diethyl ether in laboratory animal repeated inhalation at sub-anesthetic concentrations. In: Cellular biology and toxicity of anesthetics. Baltimore, Maryland: Williams and Wilkins Company.

Chi OZ et Field C (1986) Effects of isoflurane on visual evoked potentials in humans. Anesthesiology; 65 (3): 328-330

Cohen EN (1980) Anesthetic exposure in the workplace. Littleton, Mass

Cohen EN, Bellville JW, Brown BW (1971) Anesthesia, pregnancy, and miscarriage: A study of operating room nurses and anesthesiologists. Anesthesiology; 35 (4): 343-347

Corbett TH, Cornell RG, Lieding K, Endres JL (1973) Incidence of cancer among Michigan nurse-anesthetists. *Anesthesiology*; 38 (3): 260-263

Cucchiara RF, Theye RA, Michenfelder JD (1974) The effects of isoflurane on canine cerebral metabolism and blood flow. *Anesthesiology*; 40 (6): 571-574

Cullen DJ (1986) Anesthetic depth and MAC. In: *Anesthesia 2<sup>nd</sup>* (editor RD Miller), Churchill Livingstone, New-York

de Sousa SLM, Dickinson R, Lieb WR, Franks NP (2000) Contrasting actions of the inhalational general anesthetics isoflurane and xenon. *Anesthesiology*; 92 (4): 1055-1066

Doi M et Ikeda K (1993) Airway irritation produced by volatile anaesthetics during brief inhalation: comparison of halothane, enflurane, isoflurane and sevoflurane. *Can J Anaesth*; 40 (2): 122-126

Domino EF, Corssen G, Sweet RB (1963) Effects of various general anesthetics on the visually evoked response in man. *Anesth Analg* 42 (6): 735-747

Drummond JC et Patel PM (2000) Cerebral physiology and the effects of anesthetics and techniques. In: Anesthesia, 5th edn (editor RD Miller) Churchill Livingstone, New-York

Drummond JC, Todd MM, Shapiro HM (1983) Cerebral blood flow autoregulation in the cat during anesthesia with halothane and isoflurane. *Anesthesiology*; 59 (3): A305

Eger EI, II (1985a) Isoflurane (Forane): a compendium and reference. Ohio Medical Products, Madison Wisconsin

Eger EI, II (1985b) Nitrous oxide/N<sub>2</sub>O. Elsevier, New-York

Franco G (1989) Occupational exposure to anaesthetics: liver injury, microsomal enzyme induction and preventive aspects. *G Ital Med Lav*; 11 (5): 205-208

Franks NP et Lieb WR (1984) Do general anaesthetics act by competitive binding to specific receptors? *Nature*; 310 (5978): 599-601

Franks NP et Lieb WR (1994) Molecular and cellular mechanisms of general anaesthesia. *Nature*; 367 (6464): 607-614

Franks NP et Lieb WR (1999) Background  $K^+$  channels: an important target for volatile anesthetics? *Nature Neuroscience* 2 (5):395-396

French JD, Verzeano M, Magoun HW (1953) A neural basis of the anesthetic state. *Arch. Neurol. Psychiat*; 69 (4):519-529

Frost EAM (1984) Inhalation anaesthetic agents in neurosurgery. *Br J Anaesth*; 56 Suppl 1: 47S-56S

Grandy JL, Hogdson DS, Dunlop CI, Curtis CR, Heath RB (1989) Cardiopulmonary effects of halothane anesthesia in cats. *AJVR*; 50 (10): 1729-1732

Grundy BL (1983) Electrophysiology monitoring: electroencephalography and evoked potentials. In: *Handbook of neuroanesthesia: clinical and physiologic essentials* (editors Newfield and Cottrell); pp. 29-59

Hall LW et Taylor PM (1994) *Anaesthesia of the cat* (9<sup>th</sup> edition). London, Ballière Tindall, Toronto

- Hartsfield SM et Sawyer DC (1976) Cardiopulmonary effects of rebreathing and nonrebreathing systems during halothane anesthesia in the cat. *AJVR*; 37 (12): 1461-1466
- Harvey RC et Short CE (1983) The use of isoflurane for safe anesthesia in animals with traumatic myocarditis or other myocardial sensitivities. *Canine Pract*; 10: 18-23
- Hikasa Y, Kawanabe H, Takase K, Ogasawara S (1996) Comparison of sevoflurane, isoflurane and halothane anesthesia in spontaneous breathing cats. *Vet Surg*; 25 (3): 234-243
- Hikasa Y, Ohe N, Takase K, Ogasawara S (1997) Cardiopulmonary effects of sevoflurane in cats: comparison with isoflurane, halothane, and enflurane. *Res Vet Sci*; 63 (3): 205-210
- Hikasa Y, Yamashita M, Takase K, Ogasawara S (1998) Prolonged sevoflurane, isoflurane and halothane anaesthesia in oxygen using rebreathing or non-rebreathing system in cats. *J Vet Med A*; 45 (9): 559-575.

- Hodgson DA, Dunlop CI, Chapman PL, Grandy JL (1998) Cardiopulmonary effects of anesthesia induced and maintained with isoflurane in cats. *AJVR*; 59 (2): 182-185
- Hoerauf KH, Wiesner G, Schroegendorfer KF, Jobst BP, Spacek A, Harth M, Sator-Katzenschlager S, Rüdiger HW (1999) Waste anaesthetics gases induce sister chromatid exchanges in lymphocytes of operating room personnel. *Br J Anaesth*; 82 (5): 764-766
- Holaday DA, Fiserova-Bergerova V, Latta IP, Zuimbiel MA (1975) Resistance of isoflurane to biotransformation in man. *Anesthesiology*; 43 (3): 325-332
- Holaday DA, Rudofsky S, Treuhofft RS (1970) Metabolic degradation of methoxyflurane on man. *Anesthesiology*; 33 (6): 589-593
- Ikeda H et Wright MJ (1973) Effect of halothane/nitrous oxide anaesthesia on the behaviour of 'sustained' and 'transient' visual cortical neurones. *Proc Physiol Soc*; 237 (17) 20P-21P
- Ikeda H et Wright MJ (1974) Sensitivity of neurones in visual cortex (area 17) under different levels of anaesthesia. *Exp Brain Res*; 20 (5): 471-484



- Ingwersen W, Allan DG, Dyson DH (1988) Cardiopulmonary effects of halothane/oxygen combination in healthy cats. *Can J Vet Res*; 52 (4): 386-391
- Jenkins A, Franks NP, Lieb WR (1999) Effects of temperature and volatile anesthetics on GABA<sub>A</sub> receptors. *Anesthesiology*; 90 (2): 484-491
- Johnston RR, Eger EI, II, Wilson C (1976) A comparative interaction of epinephrine with enflurane, isoflurane, and halothane in man. *Anesth Analg*; 55 (5): 709-712
- Jones MV, Brooks PA, Harrison NL (1992) Enhancement of  $\gamma$ -aminobutyric acid-activated Cl<sup>-</sup> currents in cultured rat hippocampal neurones by three volatile anaesthetics. *J Physiol*; 449 (Apr): 279-293
- Jones MV, Harrison NL (1993) Effects of volatile anesthetics on the kinetics of the inhibitory postsynaptic currents in cultured rat hippocampal neurons. *J Neurophysiol*; 70 (4): 1339-1349
- Julien RM et Kavan EM (1974) Electrographic studies of isoflurane (Forane). *Neuropharmacology*; 13 (7): 677-681

- Katz RL et Katz GJ (1966) Surgical infiltration of pressor drugs and their interaction with volatiles anaesthetics. *Br J Anaesth*; 38 (9): 712-718
- Kavan EM et Julien RM (1974) Central nervous systems' effects of isoflurane (Forane). *Can Anaesth Soc J*; 21 (4): 390-402
- Kavan EM, Julien RM, Lucero JL (1974) Persistent electroencephalographic alterations following administration of some volatiles anaesthetics. *Br J Anaesth*; 46 (10): 714-721
- Kohn DF, Wixson SK, White WJ, Benson GJ (1997) Anesthesia and analgesia in laboratory animals. Academic Press, New-York
- Lee BB (1970) Effect of anaesthetics upon visual responses of neurones in the cat's striate cortex. *J Physiol*; 207 (2): 74P-75P
- Lin LH, Chen LL, Zirrolli JA, Harris RA (1992) General anesthetics potentiate GABA actions on GABA<sub>A</sub> receptors expressed by *Xenopus* oocytes: lack of involvement of intracellular calcium. *J Pharmacol Exp Ther*; 263 (2): 569-578

Lucchini R, Placidi D, Toffoletto F, Alessio L (1996) Neurotoxicity in operating room personnel working with gaseous and non-gaseous anesthesia. *Int Arch Occup Environ Health*; 68 (3): 188-192

McKelvey D et Hollingshead JW (2000) *Small Animal Anesthesia & Analgesia*, 2<sup>th</sup> edition. St-Louis, MO; Toronto: Mosby

Merkel G et Eger EI, II (1963) A comparative study of halothane and halopropane anaesthesia. *Anesthesiology*; 24 (3): 346-357

Merlos JR, Bosnjak ZJ, Purtock RV, Turner LA, Kampine JP (1980) Halothane and enflurane effects on SA node cells. *Anesthesiology*; 53 (3): S143

Meyer HH (1899) *Archiv experimentell pathologisch pharmakologie*; 421: 109

Michenfelder JD et Cucchiara RF (1974) Canine general oxygen consumption during enflurane anesthesia and its modification during induced seizures. *Anesthesiology*; 40 (6): 575-580

Mihic SJ, Ye Q, WickMJ, Koltchine VV, Krasowski MD, Finn SE, Mascia MP, Valenzuela CF, Hanson K, Greenblatt EP, Harris RA, Harrison NL (1997) Sites of alcohol and volatile anaesthetic action on GABA<sub>A</sub> and glycine receptors. *Nature*; 389 (6649): 385-389

- Miller RD (2000) Anesthesia, 5<sup>th</sup> edition, Churchill Livingstone, New-York
- Murphy FL, Kennel EM, Johnston et al. (1974) The effect of enflurane, isoflurane, and halothane on cerebral blood flow and metabolism in man. In: Abstracts of the annual meeting of the American Society of Anesthesiologists; p.62
- Nakahiro M, Yeh JZ, Brunner E, Narahasi T (1989) General anesthetics modulate GABA receptor channel complex in rat dorsal root ganglion neurons. FASEB J; 3 (7): 1850-1854
- Nishoni T et Honda Y (1980) Changes in the respiration pattern induced by halothane in the cat. Brit J Anaesth; 52 (12): 1191-1197
- Ogawa T, Shingu K, Shibata M, Osawa M, Mori K (1992) The divergent actions of volatile anaesthetics on background neuronal activity and reactive capability in the central nervous system in cats. Can J Anaesth; 39 (8): 862-872
- Overton E (1901) Studien uber die Narkose. Jena: G Fisher

- Pathak KS, Amaddio BS, Scoles PV, Shaffer JW, Mackay W (1989) Effects of halothane, enflurane, and isoflurane in nitrous oxide on multilevel somatosensory evoked potentials. *Anesthesiology*; 70 (2): 207-212
- Peterson DO, Drummond JC, Todd MM (1986) Effects of halothane, enflurane, isoflurane, and nitrous oxide on somatosensory evoked potentials in humans. *Anesthesiology*; 65 (1): 35-40
- Rampil IJ, Manson P, Singh H (1993) Anesthetic potency (MAC) is independent of forebrain structures in rat. *Anesthesiology*; 78 (4): 707-712
- Regan MJ et Eger EI, II (1967) Effect of hypothermia in dogs on anesthetizing and apneic doses of inhalation agents. Determination of the anesthetic index (apnea/MAC). *Anesthesiology*; 28 (4): 689-700
- Rehder K, Forbes J, Alter H, Hessler O, Stier A (1967) Halothane biotransformation in man: a quantitative study. *Anesthesiology*; 28 (4): 711-715
- Reilly CS, Wood AJ, Koshakji RP, Wood M (1985) The effect of halothane on drug disposition: contribution of changes in intrinsic drug metabolizing capacity of hepatic blood flow. *Anesthesiology*; 63 (1): 70-76

- Rozgaj R, Kasuba V, Jazbec A (2002) Preliminary study of cytogenetic damage in personnel exposed to anesthetic gases. *Mutagenesis*; 16 (2): 139-143
- Scholz A, Appel N, Vogel W (1998) Two types of TTX-resistant and one TTX-sensitive Na<sup>+</sup> channel in rat dorsal root ganglion neurons and their blockage by halothane. *Eur J Neurosci*; 10 (8): 2547-2556
- Sebel PS, Ingram DA, Flynn J (1986) Evoked potentials during isoflurane anaesthesia. *Br J Anaesth*; 58 (6): 580-585
- Sessler DI (2000) Temperature monitoring. In: *Anesthesia 5<sup>th</sup> edition*, editor RD. Miller. 1367-1389
- Sengpiel F et Bonhoeffer T (2002) Orientation specificity of contrast adaptation in visual cortical pinwheel centres and iso-orientation domains. *Eur J Neurosci*; 15 (5): 876-886
- Sillito AM (1977) Inhibitory processes underlying the directional specificity of simple, complex and hypercomplex cells in the cat' visual cortex. *J Physiol*; 271 (3): 699-720

- Steffey EP, Gillespie JR, Berry JD, Eger EI, II, Munson ES (1974) Anesthetic potency (MAC) of nitrous oxide in the dog, cat, and stump-tail monkey. *J Appl Physiol*; 36 (5): 530-532
- Steffey EP et Howland D jr (1977) Isoflurane potency in the dog and cat. *AJVR*; 38 (11): 1833-1836
- Stockard JJ et Bickford RG (1975) The neurophysiology of anesthesia. In: A basis and practice of neuroanaesthesia. 2<sup>nd</sup> edition, editor E. Gordon Amsterdam: Excerta Medica; pp 3-46
- Stoelting RK (1987) Pharmacology and physiology in anesthetic practice. Lippincott, Philadelphie
- Theye RA et Michenfelder JD (1968) The effects of halothane on canine cerebral metabolism. *Anesthesiology*; 29 (6): 1113-1118
- Tigwell DA et Sauter J (1992) On the use of isoflurane as an anesthetic for visual neurophysiology. *Exp Brain Res*; 88 (1): 224-228
- Todd MM et Drummond JC (1984) A comparison of the cerebrovascular and metabolic effects of halothane and isoflurane in the cat. *Anesthesiology*; 60 (4): 276-283

Todd MM, Drummond JC, Shapiro HM (1982) Comparative cerebrovascular and metabolic effects of halothane, enflurane, and isoflurane. *Anesthesiology (ASA Abs)*; 57 (3): A332

Tsumoto T, Eckart W, Creuzfeldt (1979) Modification of orientation sensitivity of cat visual cortex neurons by removal of GABA-mediated inhibition. *Exp Brain Res*; 34 (2):351-363

Tsushima K, Shingu K, Ikeda S, Kimura H, Yamada K, Murao K (1998) Suppression actions of volatile anaesthetics on response capability in cats. *Can J Anaesth*; 45 (3): 240-245

Uhl RR, Squires KC, Bruce DL, Starr A (1980) Effect of halothane anesthesia on the human cortical visual response in man. *Anesthesiology*; 53 (4): 273-276

Vaisman AI (1967) Working condition in surgery and their effect on health of anesthesiologists. *Eksp Khir Anestheziol*; 12 (3):44-49

Wollman H, Alexandre SC, Cohen PJ, Chase PE, Melman E, Behar MG (1964) Cerebral circulation of man during halothane anesthesia: effects of hypocarbia and of d-tubocurarine. *Anesthesiology*; 25 (2): 180-184