

DISERTASI

**EFEK PEMBERIAN KETAMIN TERHADAP
KONSENTRASI KALSIMUM MITOKONDRIA PADA
SEL NEURON *DORSAL ROOT GANGLIA*:
Analisis Kemampuan Ketamin dalam Menghambat
Depolarisasi pada Sel Model Nyeri Akut**

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar
Doktor Ilmu Sains Biomedis pada UNIVERSITAS SRIWIJAYA**



RIZAL ZAINAL

04013622025005

PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU SAINS BIOMEDIS

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS SRIWIJAYA

2024

HALAMAN PENGESAHAN

**EFEK PEMBERIAN KETAMIN TERHADAP KONSENTRASI
KALSIMUM MITOKONDRIA PADA SEL NEURON
DORSAL ROOT GANGLIA:
Analisis Kemampuan Ketamin dalam Menghambat Depolarisasi
pada Sel Model Nyeri Akut**

LAPORAN AKHIR DISERTASI

Diajukan Untuk Melengkapi Salah Satu Syarat
Memperoleh Gelar Doktor Ilmu Sains Biomedis

Oleh:

RIZAL ZAINAL

04013622025005

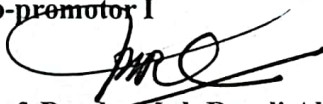
Palembang, 30 Desember 2024

Promotor



Prof. Dr. dr. Irfannuddin, Sp.K.O., M.Pd.Ked
NIP 197306131999031001

Ko-promotor I



Prof. Dr. dr. Muh Ramli Ahmad,
Sp.An., KMN., KAP
NIP 195903231987021001

Ko-promotor II



Dr. dr. Legiran, M.Kes
NIP 197211181999031002

Mengetahui,

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya



dr. Syarif Husin, M.S
NIP 196112091992031003

HALAMAN PERSETUJUAN

Karya tulis ilmiah berupa Laporan Akhir Disertasi ini dengan judul “Efek Pemberian Ketamin Terhadap Konsentrasi Kalsium Mitokondria Pada Sel Neuron *Dorsal Root Ganglia*: Analisis Kemampuan Ketamin dalam Menghambat Depolarisasi pada Sel Model Nyeri Akut” telah dipertahankan dihadapan Tim Penguji Karya Tulis Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya pada Tanggal 30 Desember 2024.

Palembang, 30 Desember 2024

Ketua:

Prof. Dr. dr. Mgs. Irsan Saleh, M.Biomed.
NIP 196609291996011001

Anggota:

Prof. Dr. dr. Irfannuddin, Sp.KO, M.Pd.Ked
NIP 197306131999031001

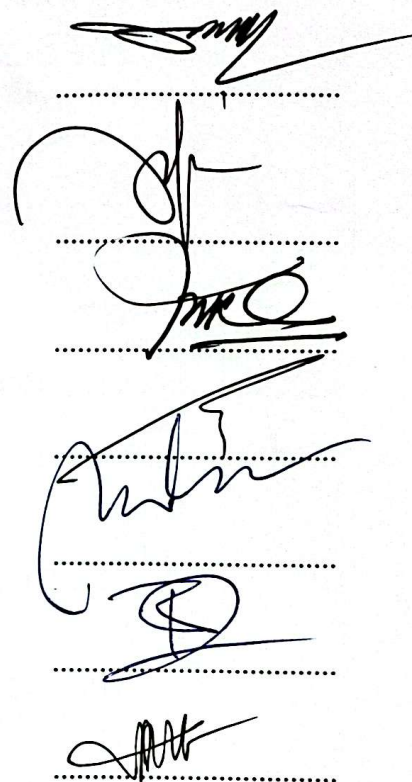
Prof. Dr. dr. Muh Ramli Ahmad, Sp.An., KMN., KAP
NIP 195903231987021001

Dr. dr. Legiran, M.Kes
NIP 197211181999031002

dr. Nurhadi Ibrahim, PhD
NIP 196101051989031003

Dr. dr. Trinovita Andraini, M.Biomed
NUP 011003143

Dr. dr. Rendra Leonas, Sp.OT(K) MHKes, MARS
NIP 196307081990031002

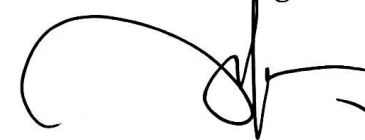


Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. Syarif Husin, M.S
NIP 196112091992031003

Wakil Dekan Bidang Akademik



Prof. Dr. dr. Irfannuddin, Sp.K.O., M.Pd.Ked
NIP 197306131999031001

HALAMAN PERNYATAAN INTEGRITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rizal Zainal
NIM : 04013622025005
Judul : Efek pemberian ketamin terhadap konsentrasi kalsium mitokondria pada sel neuron *dorsal root ganglia*: analisis kemampuan ketamin dalam menghambat depolarisasi pada sel model nyeri akut

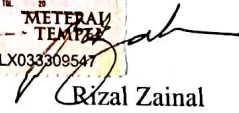
Menyatakan bahwa Disertasi saya merupakan hasil karya sendiri didampingi Promotor dan Ko-Promotor dan bukan hasil penjiplakan/plagiat. Apabila ditemukan unsur penjiplakan/plagiat dalam Disertasi ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademi dari Universitas Sriwijaya sesuai aturan yang berlaku.

Demikian, pernyataan ini saya buat dalam keadaan sadar dan tanpa ada paksaan dari siapapun.



Palembang, 30 Desember 2024




Rizal Zainal
NIM. 04013622025005

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rizal Zainal
NIM : 04013622025005
Judul : Efek pemberian ketamin terhadap konsentrasi kalsium mitokondria pada sel neuron *dorsal root ganglia*: analisis kemampuan ketamin dalam menghambat depolarisasi pada sel model nyeri akut

Memberikan izin kepada Pembimbing/Promotor dan Universitas Sriwijaya untuk mempublikasikan hasil penelitian saya untuk kepentingan akademik apabila dalam waktu 1 (satu) tahun tidak mempublikasikan karya penelitian saya. Dalam kasus ini saya setuju untuk menempatkan Pembimbing/Promotor sebagai Penulis Korespondensi (*Corresponding Author*).

Demikian, pernyataan ini saya buat dengan sadar dan tanpa ada paksaan dari siapapun.

Palembang, 30 Desember 2024



METSEK
TEMPEL
D 53AALX033309538

Rizal Zainal

NIM. 04013622025005

ABSTRAK

EFEK PEMBERIAN KETAMIN TERHADAP KONSENTRASI KALSIMUM MITOKONDRIA PADA SEL NEURON *DORSAL ROOT GANGLIA*: Analisis Kemampuan Ketamin dalam menghambat Depolarisasi pada Sel Model Nyeri Akut

Ketamin, obat multimodal yang digunakan dalam manajemen nyeri, bekerja sebagai antagonis reseptor *N-metil-D-aspartat* (NMDA). Ketamin menghambat transportasi Ca^{2+} intraseluler dan pada dosis tertentu dapat mengganggu fungsi mitokondria. Penelitian ini bertujuan untuk mengukur efek pemberian ketamin pada dosis subanestetik terhadap konsentrasi kalsium mitokondria dalam sel model nyeri.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental *in vitro* yang dilakukan di *Indonesian Medical Education and Research Institute* Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dari Juli 2023 hingga Desember 2024. Penelitian pendahuluan dilakukan untuk membuat model sel nyeri akut, dengan menilai: (1) hari diferensiasi optimal dari sel F-11 yang diukur berdasarkan morfologi dan potensial membran istirahat; (2) dosis optimal Substansi P (sP) untuk mendepolarisasi membran sel yang diukur dengan *patch clamp*. Kemudian ketamin ditambahkan pada sel neuron *dorsal root ganglia* (DRG) sebelum induksi nyeri dengan sP. Konsentrasi kalsium mitokondria dan potensial membran mitokondria dinilai dengan mikroskop konfokal, sedangkan aktivitas potensial membran sel diukur dengan *patch clamp*. Sebelumnya, uji toksisitas dilakukan untuk memastikan semua kelompok dosis ketamin *viable* terhadap sel.

Berdasarkan uji pendahuluan, diferensiasi sel yang paling optimal terjadi pada hari ke-4 dan kelompok dosis sP yang mampu mendepolarisasi neuron DRG adalah kelompok dosis 0,3 μM hingga 30 μM . Selain itu, ketamin prainduksi diketahui mampu menghambat depolarisasi yang disebabkan oleh sP, tetapi tidak didapatkan perbedaan pada potensial membran mitokondria dan konsentrasi kalsium mitokondria untuk setiap kelompok.

Pada dosis subanestetik ketamin tidak menyebabkan gangguan pada aktivitas mitokondria, tetapi memiliki efek penghambatan depolarisasi pada membran sel.

Kata kunci: *Dorsal root ganglia*, kalsium mitokondria, ketamin, potensial membran istirahat (PMI), potensial membran mitokondria (PMM), sel F-11, substansi P

Wakil Dekan Bidang Akademik



Prof. Dr. dr. Irfannuddin, Sp.K.O., M.Pd.Ked
NIP. 197306131999031001

Promotor



Prof. Dr. dr. Irfannuddin, Sp.K.O., M.Pd.Ked
NIP. 197306131999031001

ABSTRACT

EFFECT OF KETAMINE ADMINISTRATION ON MITOCHONDRIAL CALCIUM CONCENTRATION IN DORSAL ROOT GANGLIA: Analysis of Ketamine's Ability to inhibit Depolarization in Acute Pain Model Cells

Ketamine, a multimodal drug used in pain management, functions as an *N-methyl-D-aspartate* (NMDA) receptor antagonist. It inhibits intracellular Ca^{2+} transport and has the potential to interfere with mitochondrial function. This study aimed to evaluate the effect of subanesthetic doses of ketamine on mitochondrial calcium concentration in a pain model cell.

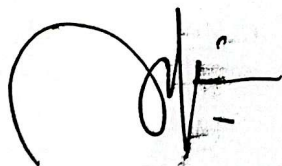
This in vitro experimental study was conducted at the Indonesian Medical Education and Research Institute (IMERI) from July 2023 to December 2024. A preliminary study was performed to establish an acute pain cell model by determining the optimal differentiation day of the F-11 cell line based on morphology and resting membrane potential, as well as the optimal dose of substance P (sP) to induce cell membrane depolarization, measured via patch clamp. Ketamine was then administered to DRG cells prior to pain induction with sP. Mitochondrial calcium concentration and mitochondrial membrane potential were assessed using a confocal microscope, while cell membrane potential activity was measured using patch clamp techniques. Toxicity testing was conducted beforehand to ensure cell viability at all ketamine doses.

The preliminary tests identified the fourth day as the most optimal for cell differentiation, while the effective dose range of sP for depolarizing DRG neurons was 0.3 μ M to 30 μ M. Pre-induction administration of ketamine inhibited depolarization caused by sP; however, no significant differences were observed in mitochondrial membrane potential or mitochondrial calcium concentration across the groups.

Ketamine at subanesthetic doses does not impair mitochondrial activity but exhibits a depolarization-inhibiting effect on cell membranes.

Keywords: Ketamine, substance P, F-11 cells, dorsal root ganglia, resting membrane potential, mitochondrial membrane potential, mitochondrial calcium

Wakil Dekan Bidang Akademik



Prof. Dr. dr. Irfannuddin, Sp.K.O., M.Pd.Ked
NIP. 197306131999031001

Promotor



Prof. Dr. dr. Irfannuddin, Sp.K.O., M.Pd.Ked
NIP. 197306131999031001

RINGKASAN

EFEK PEMBERIAN KETAMIN TERHADAP KONSENTRASI KALSIUM MITOKONDRIA PADA SEL NEURON *DORSAL ROOT GANGLIA*:

Analisis Kemampuan Ketamin dalam Menghambat Depolarisasi pada Sel Model Nyeri Akut

Karya tulis ilmiah berupa Disertasi, 30 Desember 2024

Rizal Zainal; Dipromosikan oleh Prof. Dr. dr. Irfannuddin, Sp.KO, M.Pd.Ked

Program Studi Doktor Ilmu Sains Biomedis Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya

xxv + 155 halaman, 10 tabel , 27 gambar

Nyeri akut merupakan keluhan umum yang sering ditemukan di berbagai tingkat layanan kesehatan, termasuk fasilitas primer dan lanjutan, serta menjadi salah satu tantangan utama pascaoperasi. Nyeri didefinisikan sebagai pengalaman sensorik dan emosional yang tidak menyenangkan, sering kali terkait dengan kerusakan jaringan aktual atau potensial. Pada 2014, laporan di Amerika Serikat menunjukkan bahwa 86% pasien mengalami nyeri pascaoperasi, dengan 75% di antaranya berada pada skala nyeri sedang hingga berat. Di Indonesia, nyeri pascaoperasi, terutama pada pasien operasi abdomen, menjadi keluhan yang paling umum, dengan 2-10% orang dewasa dilaporkan mengalami nyeri persisten.

Ketamin merupakan salah satu agen multimodal yang digunakan dalam manajemen nyeri akut dengan mekanisme kerja sebagai antagonis reseptor *N-methyl-D-aspartate* (NMDA) melalui hambatan nonkompetitif pada saluran reseptor yang terbuka. Secara molekuler, ketamin diketahui menghambat transportasi Ca^{2+} intraseluler secara independen dari kerjanya pada kanal kalsium reseptor NMDA. Ca^{2+} memiliki peran penting dalam berbagai fungsi neuron, termasuk pelepasan neurotransmitter, eksitabilitas saraf, plastisitas sinaptik, dan apoptosis. Ketamin menghambat aliran masuk ion Na^+ dan Ca^{2+} melalui pengikatan pada reseptor glutamatergik dan *voltage-dependent calcium channel* (VDCC), yang dapat mengganggu homeostasis Ca^{2+} intraseluler dan fungsi mitokondria.

Meskipun terdapat penelitian yang menunjukkan efek ketamin pada mobilisasi kalsium sitosolik, studi mengenai pengaruhnya terhadap konsentrasi kalsium mitokondria dalam dosis subanestetik masih terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efek pemberian ketamin dalam dosis subanestetik sebelum induksi nyeri terhadap konsentrasi kalsium mitokondria pada sel ganglion akar dorsal (*dorsal root ganglion/DRG*), yang berperan dalam penghantaran rangsang nyeri ke kornu dorsalis.

Penelitian ini merupakan studi eksperimental *in vitro* dengan desain *post-test only control group* untuk mengevaluasi efek ketamin dosis subanestetik pada sel model nyeri akut. Objek penelitian adalah sel F-11 yang telah berdiferensiasi menyerupai sel ganglion akar dorsal (DRG). Uji pendahuluan menunjukkan bahwa diferensiasi sel paling optimal terjadi pada hari ke-4, dan substansi P pada dosis 0,3–30 μ M efektif menyebabkan depolarisasi sel neuron. Induksi nyeri dilakukan menggunakan substansi P, sementara konsentrasi kalsium mitokondria diukur menggunakan mikroskop konfokal dengan pewarnaan Fluo4AM setelah pemberian ketamin prainduksi dalam dosis 100 ng/mL, 150 ng/mL, dan 200 ng/mL. Potensial membran sel dianalisis menggunakan *patch clamp*, dan potensial membran mitokondria dinilai menggunakan pewarnaan TMRM.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ketamin prainduksi mampu menghambat depolarisasi yang disebabkan oleh substansi P, namun tidak menyebabkan perubahan signifikan pada potensial membran mitokondria maupun konsentrasi kalsium mitokondria. Dengan demikian, ketamin dosis subanestetik tidak memengaruhi aktivitas mitokondria, tetapi memiliki efek protektif terhadap depolarisasi membran sel akibat induksi nyeri.

Kata kunci: Ketamin, substansi P, sel F-11, *dorsal root ganglia*, potensial membran istirahat (PMI), potensial membran mitokondria (PMM), kalsium mitokondria
Studi kepustakaan: 79

SUMMARY

EFFECT OF KETAMINE ADMINISTRATION ON MITOCHONDRIAL CALCIUM CONCENTRATION IN DORSAL ROOT GANGLIA:

Analysis of Ketamine's Ability to Inhibit Depolarization in Acute Pain Model Cells
Scientific paper in the form of a Dissertation, December 30, 2024

Rizal Zainal; Promoted by Prof. Dr. dr. Irfannuddin, Sp.KO, M.Pd.Ked

Doctoral Study Program in Biomedical Science, Faculty of Medicine, Universitas Sriwijaya

xxv + 155 pages, 10 tables, 27 images

Acute pain is the most common complaint encountered in primary and secondary healthcare facilities and is a frequent postoperative complication. It is defined as an unpleasant sensory and emotional experience associated with actual or potential tissue damage or described as tissue injury. In 2014, approximately 86% of patients in the United States reported experiencing postoperative pain, with 75% experiencing moderate to severe pain. In Indonesia, postoperative pain is the most common complaint among patients following abdominal surgery, with 2–10% of adults experiencing persistent pain.

Ketamine is a multimodal drug used in acute pain management, functioning as a non-competitive open-channel blocker of N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors. At the molecular level, ketamine inhibits intracellular Ca^{2+} transport independently of its interaction with calcium channels in NMDA receptors. Ca^{2+} plays a vital role in regulating neuronal metabolism, neurotransmitter release, excitability, synaptic plasticity, cell differentiation and migration, neurite growth, and neuronal apoptosis. The flexibility of Ca^{2+} as an intracellular messenger depends on cytosolic Ca^{2+} concentration fluctuations, regulated by permeable calcium channels in the plasma membrane and organelles. Ketamine binding to glutamatergic receptors and voltage-dependent calcium channels (VDCC) inhibits Na^+ and Ca^{2+} influx in neuronal cells. Disrupted Ca^{2+} homeostasis can lead to prolonged intracellular Ca^{2+} concentration changes, which alter intracellular pathways and mitochondrial functions.

While several studies have explored ketamine's effect on cytosolic calcium mobilization, data on its impact on mitochondrial calcium concentrations at subanesthetic doses remain limited. The dorsal root ganglion (DRG) plays a key role in transmitting pain stimuli to the dorsal horn. This study was designed to evaluate the effect of subanesthetic doses of ketamine administered pre-induction of pain on mitochondrial calcium concentrations in DRG cells.

This *in vitro* experimental study used a post-test-only control group design. F-11 cells, which mimic DRG neuron characteristics, were differentiated, and the optimal differentiation day was identified based on morphology and resting

membrane potential. Acute pain was induced using substance P (0.3–100 μM), and the optimal dose for inducing depolarization was determined using patch-clamp techniques. Mitochondrial calcium concentrations were assessed using confocal microscopy and Fluo4AM staining in acute pain model cells treated with pre-induction ketamine at doses of 100 ng/mL, 150 ng/mL, and 200 ng/mL, alongside a negative control group. Additional assessments included cell membrane potential via patch-clamp and mitochondrial membrane potential via TMRM staining. Toxicity tests confirmed cell viability across all ketamine dose groups.

Preliminary results showed that optimal cell differentiation occurred on day 4, and substance P doses between 0.3 μM and 30 μM effectively depolarized DRG neurons. Pre-induction ketamine inhibited depolarization caused by substance P; however, no significant differences were observed in mitochondrial membrane potential or calcium concentrations between groups.

In conclusion, subanesthetic doses of ketamine do not impair mitochondrial activity but effectively inhibit cell membrane depolarization.

Keywords: Ketamine, substance P, F-11 cells, dorsal root ganglia, resting membrane potential, mitochondrial membrane potential, mitochondrial calcium

Citations: 79

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh

Alhamdulillahirobbil Alamiin, puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunianya sehingga disertasi ini dapat diselesaikan. Disertasi merupakan hasil penelitian akhir untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Doktor di Program Studi Sains Biomedis Program Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya. Disertasi berjudul “Efek Pemberian Ketamin Terhadap Konsentrasi Kalsium Mitokondria Pada Sel Neuron *Dorsal Root Ganglia*”. Shalawat dan salam saya ucapkan kepada junjungan kita Rasulullah Muhammad SAW, beserta keluarga dan sahabat yang telah menyampaikan tuntunan berakhlak mulia dan menjadi suri tauladan bagi kita semua.

Dengan segala kerendahan dan ketulusan hati, izinkan saya menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah membantu proses pendidikan dan penelitian saya, sehingga saya dapat menyelesaikan disertasi ini.

Kepada kedua orang tua yang amat saya kasihi, Almarhum H. Zainal Abidin dan Almarhumah Hj. Masroh, telah mendidik saya dengan sabar dan ikhlas, selalu mendukung saya dalam doa dan kasih sayang yang tiada terputus, serta mertua saya Prof. Rusdi Ismail, dr., SpA(K) dan Syamsinar atas segala dukungan, nasehat dan doanya. Kepada Istri yang saya cintai, Dr. dr. Yulia Iriani, Sp.A(K) dan Anak yang saya sayangi, Irzi Ahmad Rizani, dari mereka saya melihat contoh nyata ketaatan, ketekunan, kesabaran serta rasa cinta terhadap agama, negara dan ilmu pengetahuan, yang mendorong dan memberikan semangat bagi saya untuk tegar dalam melanjutkan dan mengembangkan pendidikan.

Kepada Rektor Universitas Sriwijaya, Prof. Dr. Taufiq Marwa, S.E., M.Si. atas kesempatan diberikan untuk mengajukan disertasi dan menyelesaikan pendidikan program doktor di Universitas Sriwijaya. Terima kasih saya ucapkan kepada dekan fakultas kedokteran Universitas Indonesia dr. Syarif Husinm M.S.

telah memberikan saya kesempatan untuk mengikuti dan menyelesaikan program studi dokter ini.

Ucapan terima kasih juga saya sampaikan kepada dr. Siti Khalimah, Sp.KJ., MARS. sebagai direktur utama RSMH Palembang, atas kesempatan yang diberikan untuk mengikuti pendidikan S3.

Pada kesempatan ini, saya menyampaikan penghargaan dan terima kasih setinggi-tingginya kepada promotor sekaligus Koordinator Program Studi (KPS) Program Doktor Ilmu Sains Biomedik FK Unsri, Prof. Dr. dr. Irfannuddin, Sp.KO, M.Pd.Ked. telah berkenan membimbing dan mendidik saya, membangun kepercayaan diri, mempromosikan saya, serta memberikan solusi saat saya mengalami kesulitan sehingga saya mampu menyelesaikan disertasi ini, bahkan beliau juga bersedia menjadi promotor saya di antara aktivitas dan kesibukan yang sangat padat. Kepada Prof. Dr. dr. Muh Ramli Ahmad, Sp.An., KMN., KAP dan Dr. dr. Legiran, M.Kes. berkenan menjadi kopromotor saya, saya ucapkan rasa hormat dan terima kasih banyak atas bimbingan, masukan, serta arahan dalam membantu saya menyelesaikan pendidikan ini.

Kepada Dewan Penguji, dr. Nurhadi Ibrahim, PhD., Dr. dr. Trinovita Andraini, M.Biomed., dan Dr. dr. Rendra Leonas, Sp.OT(K).Spine, MHKes, MARS. saya ucapkan terimakasih atas dorongan, semangat, koreksi serta masukan untuk perbaikan penulisan disertasi ini.

Ucapan terima kasih saya sampaikan kepada sejawat saya yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian dan penulisan disertasi ini, dr. Zulkifli, Sp.An-Ti., Subsp. TI(K), M.Kes., MARS., Dr. dr. Rose Mafiana, Sp.An-TI., Subsp.NA(K), Subsp.AO(K), MARS., dr. Yusni Puspita, Sp.An-TI, Subsp.AKV(K), Subsp.TI(K), M.Kes., dr. Agustina Br Haloho, Sp.An-TI, Subsp.TI(K), M.Kes., dr. Fredi Heru, Sp.An-TI., Subsp.AKV(K), dr. Andi Miarta, Sp. An-TI., Subsp.TI(K), dr. Mayang Indah Lestari, Sp. An-TI., Subsp.TI(K), dr. Aidyl Fitriyah, Sp.An-TI., Subsp.MN(K), dr. Ferriansyah Gunawan, Sp.An-TI., Subsp.An.Ped.(K), dr. Nurmala Dewi Maharani, Sp.An-TI., Subsp.NA(K), dr. M. David Riandy, Sp.An-TI, dr. Dipta Anggara, Sp.An-TI, dan dr. Aldiar, Sp.An-TI atas semua dukungan, masukan, kritikan, dan pengertiannya yang tulus, serta selalu

memberikan semangat untuk saya terus melanjutkan penelitian dan menyelesaikan disertasi ini.

Saya ingin menyampaikan rasa terima kasih yang mendalam kepada tim penelitian: Ayu Nurdiantika Sari, S.Si., M.Epid., Nuzli Fahdia Mazfufah., S.Pd., M.Biomed., Gulshan Fahmi El Bayani, S.Gz., M.Biomed., dr. Junoretta Haviva Ernanto, dr. M. Anugerah Yusro, Sp.An-TI., dan dr. M. Nurshaffria'al Rusdi. Terima kasih telah menjadi tempat berbagi ilmu, semangat, dan kebahagiaan sepanjang masa studi ini. Kehadiran dan dukungan kalian tidak hanya memperkaya proses penelitian, tetapi juga memberikan kekuatan dan inspirasi yang luar biasa bagi saya.

Dengan penuh rasa hormat dan penghargaan, saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Dr. dr. Ristiawan Muji Laksono, Sp.An-TI., Subsp. M.N. (K)., FIPP dan Yuslinda Annisa, S.Si.,M.Si atas kebaikan dan dukungannya yang luar biasa dalam menghibahkan sel F-11 untuk digunakan dalam penelitian saya. Bantuan ini menjadi kontribusi yang sangat berarti bagi kelancaran dan keberhasilan penelitian saya.

Akhir kata, semoga rahmat dan karunia Allah Yang Maha Kuasa selalu beserta semua yang telah membantu saya, yang tidak dapat disebutkan satu persatu. Kiranya terimalah permohonan maaf saya apabila terdapat kesalahan dan kekurangan dalam disertasi ini.

Palembang, 30 Desember 2024

Rizal Zainal

DAFTAR ISI

| | |
|---|--------------|
| HALAMAN PENGESAHAN | ii |
| HALAMAN PERSETUJUAN | iii |
| HALAMAN PERNYATAAN INTEGRITAS | iv |
| HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI | v |
| ABSTRAK | vi |
| ABSTRACT | vii |
| RINGKASAN | viii |
| SUMMARY | x |
| KATA PENGANTAR | xii |
| DAFTAR ISI | xv |
| DAFTAR GAMBAR | xx |
| DAFTAR TABEL | xxii |
| DAFTAR LAMPIRAN | xxiii |
| DAFTAR SINGKATAN | xxiv |
| BAB I PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Identifikasi Masalah | 4 |
| 1.3 Rumusan Masalah | 5 |
| 1.4 Tujuan Penelitian | 5 |
| 1.4.1 Tujuan Umum | 5 |
| 1.4.2 Tujuan Khusus | 5 |
| 1.5 Manfaat Penelitian | 6 |
| 1.5.1 Manfaat Ilmiah..... | 6 |
| 1.5.2 Manfaat Praktis | 6 |
| 1.6 Hipotesis Penelitian | 6 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | 7 |

| | | |
|---------|---|----|
| 2.1 | Nyeri | 7 |
| 2.1.1 | Definisi..... | 7 |
| 2.1.2 | Anatomi Terkait Jaras Nyeri..... | 7 |
| 2.1.2.1 | Neuron | 7 |
| 2.1.2.2 | Akson..... | 7 |
| 2.1.2.3 | Jalur Asenden dan Jalur Desenden..... | 8 |
| 2.1.3 | Klasifikasi Nyeri | 10 |
| 2.1.3.1 | Durasi | 10 |
| 2.1.3.2 | Mekanisme Patofisiologi..... | 11 |
| 2.1.4 | Mekanisme Nyeri | 14 |
| 2.1.4.1 | Transduksi | 14 |
| 2.1.4.2 | Transmisi | 16 |
| 2.1.4.3 | Persepsi Nyeri..... | 22 |
| 2.1.4.4 | Modulasi Nyeri..... | 22 |
| 2.1.5 | Peranan Substansi P Pada Mekanisme Nyeri..... | 23 |
| 2.1.6 | Nyeri dan Penanda Inflamasi | 24 |
| 2.1.7 | Peranan Voltage-Dependent Calcium Channels Pada Nyeri | 27 |
| 2.1.8 | Tantangan Penilaian Nyeri..... | 29 |
| 2.2 | Ketamin..... | 30 |
| 2.2.1 | Sejarah dan Struktur Ketamin..... | 30 |
| 2.2.2 | Farmakokinetik Ketamin | 31 |
| 2.2.2.1 | Metabolisme | 31 |
| 2.2.2.2 | Absorpsi..... | 33 |
| 2.2.2.3 | Distribusi | 33 |
| 2.2.2.4 | Eliminasi..... | 34 |

| | | |
|--|---|-----------|
| 2.2.3 | Pemberian Ketamin..... | 34 |
| 2.3 | Regulasi Kalsium Pada Neuron | 34 |
| 2.3.1 | Regulasi Kalsium Pada Retikulum Endoplasma..... | 35 |
| 2.3.2 | Regulasi Kalsium Pada Mitokondria | 37 |
| 2.3.2.1 | Interaksi Kalsium dan Mitokondria..... | 37 |
| 2.3.2.2 | Transport Kalsium ke Mitokondria | 38 |
| 2.3.3 | Gangguan Regulasi Kalsium Terhadap Disfungsi Mitokondria.... | 42 |
| 2.4 | Peranan Mitokondria Pada Nyeri Nosiseptif | 43 |
| 2.5 | Ketamin dan Homeostasis Kalsium | 45 |
| 2.5.1 | Efek Ketamin Intraseluler dan Mobilisasi Kalsium Mitokondria . | 46 |
| 2.5.2 | Penelitian Pengaruh Ketamin Terhadap Kalsium Intraselular | 48 |
| 2.6 | Sel F-11 | 52 |
| 2.7 | Kerangka Teori | 53 |
| 2.8 | Kerangka Konsep..... | 54 |
| BAB III METODE PENELITIAN | | 55 |
| 3.1 | Jenis Penelitian..... | 55 |
| 3.2 | Waktu dan Tempat Penelitian..... | 55 |
| 3.3 | Populasi Penelitian..... | 55 |
| 3.4 | Sampel Penelitian..... | 56 |
| 3.5 | Variabel Penelitian..... | 56 |
| 3.6 | Definisi Operasional | 57 |
| 3.7 | Cara Kerja | 58 |
| 3.7.1 | Uji Pendahuluan | 58 |
| 3.7.1.1 | Optimasi Durasi Diferensiasi Sel | 58 |
| 3.7.1.2 | Pengamatan Morfologi Sel Neuron | 59 |

| | |
|--|-----------|
| 3.7.1.3 Optimasi Dosis Substansi P..... | 59 |
| 3.7.2 Uji Toksisitas Ketamin Terhadap Sel | 63 |
| 3.7.3 Pengukuran Variabel Penelitian..... | 64 |
| 3.7.3.1 Penilaian Konsentrasi Kalsium Mitokondria..... | 64 |
| 3.8 Analisis Data..... | 67 |
| 3.9 Alur Penelitian | 68 |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN | 69 |
| 4.1 Uji Pendahuluan..... | 69 |
| 4.1.1 Optimasi Durasi Diferensiasi Sel | 69 |
| 4.1.2 Optimasi Dosis Substansi P | 72 |
| 4.1.3 Uji Toksisitas Ketamin..... | 74 |
| 4.1.4 Optimasi dosis pewarnaan <i>Tetramethylrhodamine Methyl Ester</i> (Perklorat) (TMRM) dan <i>Fluo4 acetoxymethyl (Fluo4AM)</i> | 74 |
| 4.2 Efek Ketamin Terhadap Aktivitas Potensial Membran Pada Sel Model Nyeri Akut | 76 |
| 4.3 Efek Ketamin Terhadap Potensial Membran Mitokondria Pada Sel Model Nyeri Akut | 78 |
| 4.4 Efek Ketamin Terhadap Konsentrasi Kalsium Mitokondria Pada Sel Model Nyeri Akut..... | 80 |
| BAB V PEMBAHASAN | 83 |
| 5.1 Uji Pendahuluan..... | 83 |
| 5.1.1 Optimasi Durasi Diferensiasi Sel | 83 |
| 5.1.2 Optimasi Dosis Substansi P..... | 84 |
| 5.1.3 Uji Toksisitas Ketamin..... | 85 |
| 5.1.4 Optimasi Dosis Pewarnaan <i>Tetramethylrhodamine Methyl Ester</i> (Perklorat) (TMRM) dan <i>Fluo4 acetoxymethyl (Fluo4AM)</i> | 86 |

| | | |
|--|---|------------|
| 5.2 | Efek Ketamin Terhadap Aktivitas Potensial Membran Pada Sel Model Nyeri Akut | 85 |
| 5.3 | Efek Ketamin Terhadap Potensial Membran Mitokondria Pada Sel Model Nyeri Akut | 85 |
| 5.4 | Efek Ketamin Terhadap Konsentrasi Kalsium Mitokondria Pada Sel Model Nyeri Akut | 85 |
| 5.5 | Keterbatasan Penelitian..... | 89 |
| BAB VI SIMPULAN DAN SARAN | | 90 |
| 6.1 | Simpulan | 90 |
| 6.2 | Saran | 90 |
| DAFTAR PUSTAKA | | 92 |
| LAMPIRAN..... | | 101 |

DAFTAR GAMBAR

| | |
|---|----|
| Gambar 2.1 Ringkasan persepsi dan respons terhadap nyeri | 10 |
| Gambar 2.2 <i>Noxious soup</i> | 16 |
| Gambar 2.3 Ilustrasi kontak sinaptik dan transmisi nyeri antara neuron orde pertama (neuron aferen primer) dan neuron orde kedua di kornu dorsalis | 17 |
| Gambar 2.4 Hubungan antara serabut aferen primer dan medula spinalis..... | 19 |
| Gambar 2.5 Anatomi jalur nyeri..... | 21 |
| Gambar 2.6 Kaskade inflamasi: patogenesis dan temuan klinis | 25 |
| Gambar 2.7 Kaskade Inflamasi | 27 |
| Gambar 2.8 Struktur Ketamin | 31 |
| Gambar 2.9 <i>Major metabolic pathways</i> | 32 |
| Gambar 2.10 <i>Minor metabolic pathway</i> | 33 |
| Gambar 2.11 Representasi skematis dari interaksi kalsium mitokondria..... | 39 |
| Gambar 2.12 Mitokondria meregulasi dan diregulasi oleh Ca^{2+} | 40 |
| Gambar 2.13 RE dan Mitokondria dihubungkan oleh Ca^{2+} | 41 |
| Gambar 2.14 Kerangka Teori | 53 |
| Gambar 2.15 Kerangka Konsep | 54 |
| Gambar 3.1 Proses melakukan <i>patch clamp</i> | 62 |
| Gambar 3.2 Alur Penelitian | 68 |
| Gambar 4.1 Morfologi pertumbuhan sel F-11 sesuai hari..... | 70 |
| Gambar 4.2 Pemeriksaan potensial membran menggunakan <i>patch clamp</i> dengan metode <i>current clamp</i> pada kultur sel hari ke-4. | 71 |
| Gambar 4.3 Tren dosis terhadap depolarisasi sel | 73 |
| Gambar 4.4 Optimasi dosis substansi P 3 μ M..... | 73 |
| Gambar 4.5 Tren perubahan potensial membran terhadap waktu pada masing-masing kelompok dosis..... | 77 |
| Gambar 4.6 Efek ketamin prainduksi terhadap aktivitas potensial membran pada sel model nyeri akut..... | 78 |

| | |
|---|----|
| Gambar 4.7 Tren perubahan potensial membran mitokondria terhadap waktu pada masing-masing kelompok dosis..... | 79 |
| Gambar 4.8 Gambaran flurosens potensial membran mitokondria menggunakan pewarna TMRM keadaan basal dan perlakuan (Perbesaran 10x).... | 80 |
| Gambar 4.9 Gambaran flurosens konsentrasi kalsium mitokondria menggunakan pewarna Fluo4AM keadaan basal dan perlakuan (Perbesaran 10x). 81 | |
| Gambar 4.10 Tren perubahan konsentrasi kalsium mitokondria ($[Ca^{2+}]_m$) terhadap waktu pada masing-masing kelompok dosis. | 82 |

DAFTAR TABEL

| | |
|---|----|
| Tabel 2. 1 Subtipe serat nosiseptif..... | 9 |
| Tabel 2.2 Perbedaan klinis nyeri akut dan nyeri kronik..... | 11 |
| Tabel 2.3 Representasi patofisiologi nyeri | 13 |
| Tabel 2.4 Biomarker nyeri yang berpotensi pada berbagai uji klinis..... | 29 |
| Tabel 2. 5 Penelitian pengaruh ketamin terhadap kalsium intraselular..... | 48 |
| Tabel 3.1 Definisi operasional..... | 57 |
| Tabel 4.1 Uji toksisitas ketamin | 74 |
| Tabel 4.2 Optimasi dosis perwarnaan TMRM dan Fluo4AM..... | 75 |
| Tabel 4.3 Efek ketamin terhadap potensial membran mitokondria menggunakan TMRM..... | 79 |
| Tabel 4.4 Efek ketamin terhadap konsentrasi kalsium mitokondria | 81 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|--|-----|
| Lampiran 1. Rincian biaya penelitian | 101 |
| Lampiran 2. Jadwal penelitian | 113 |
| Lampiran 3. Optimasi diferensiasi sel berdasarkan pemeriksaan <i>patch clamp</i> dengan metode <i>current clamp</i> | 114 |
| Lampiran 4. Optimasi dosis substansi P..... | 117 |
| Lampiran 5. Optimasi dosis substansi P..... | 127 |
| Lampiran 6. Uji toksisitas ketamin..... | 128 |
| Lampiran 7. Rekaman patch clamp pengamatan terhadap efek ketamin terhadap aktivitas potensial membran sel model nyeri akut | 130 |
| Lampiran 8. Lampiran interpretasi data konfokal menggunakan ImageJ | 131 |
| Lampiran 9. Sertifikat layak etik penelitian | 145 |
| Lampiran 10. Surat permohonan izin melakukan penelitian di Klaster NBD IMERI FK UI | 146 |
| Lampiran 11. Surat permohonan izin penggunaan fasilitas Klaster MBPCF IMERI FK UI | 147 |
| Lampiran 12. Surat permohonan izin penggunaan fasilitas Klaster HCRC IMERI FK UI..... | 148 |
| Lampiran 13. Surat permohonan izin penggunaan fasilitas PRVKP FK UI..... | 149 |
| Lampiran 14. Surat izin pemeriksaan sampel di Klaster SCTE-RC FK UI..... | 150 |
| Lampiran 15. Surat permohonan izin penggunaan Mikroskop Konfokal FK UI | 151 |
| Lampiran 16. Surat permohonan observasi asisten peneliti | 152 |

DAFTAR SINGKATAN

| | |
|--------------|--|
| AA | : Asam Arakidonat |
| A β | : Serabut A-beta |
| A δ | : Serabut A-delta |
| AMPA | : <i>Amino-3-hydroxyl-5-methyl-4-propionic acid</i> |
| ASRM | : <i>American society of reproductive medicine</i> |
| BK | : Bradikinin |
| cAMP | : <i>Cyclic adenosine monophosphate</i> |
| CICR | : <i>Ca²⁺-induced Ca²⁺ release</i> |
| CCK | : <i>Cholecystokinin</i> |
| CGRP | : <i>Calcitonin gene-related protein</i> |
| COX-2 | : Cyclooxygenase 2 |
| DHMK | : <i>Dehydronorketamine</i> |
| DRG | : <i>Dorsal Root Ganglia</i> |
| ENK | : <i>Enkephalin</i> |
| EPSPs | : <i>Excitatory postsynaptic potentials</i> |
| GABA | : <i>γ-aminobutyric acid</i> |
| Glu | : Glutamat |
| Gly | : Glysin |
| HNK | : <i>Hydroxynorketamine</i> |
| HTM | : <i>High Threshold Mechanical</i> |
| IASP | : <i>International Association of the Study of Pain</i> |
| iGluR | : <i>ionotropic glutamate receptor</i> |
| IL-6 | : <i>Interleukin 6</i> |
| IL-1 β | : <i>Interleukin 1β</i> |
| i.p. | : Intraperitoneal |
| IP3Rs | : <i>Inositol-1,4,5-triphosphate receptors</i> |
| i.v. | : Intravena |

| | |
|------------------|---|
| KAR | : <i>Kainite receptor</i> |
| L-type VDCCs | : <i>L-type voltage-dependent calcium channel</i> |
| LTP | : <i>Long-term potentiation</i> |
| MOP | : <i>μ-opioid receptor peptide</i> |
| NE | : <i>Norepinefrin</i> |
| NMDA | : <i>N-methyl-D-aspartic acid</i> |
| NOS | : <i>Nitric oxide synthase</i> |
| NS | : <i>Nociceptive-specific neurons</i> |
| OPRM1 | : <i>Opioid receptor μ 1</i> |
| ORAI1 | : <i>ORAI calcium release-activated calcium modulator 1</i> |
| PGE ₂ | : <i>Prostaglandin E₂</i> |
| PGG ₂ | : <i>Prostaglandin G₂</i> |
| PGH ₂ | : <i>Prostaglandin H₂</i> |
| PKA | : <i>Phosphokinase A</i> |
| PMI | : <i>Potensial membran istirahat</i> |
| RE | : <i>Retikulum endoplasma</i> |
| RyRs | : <i>Ryanodine receptors</i> |
| SNP | : <i>Single nucleotide polymorphisms</i> |
| sP | : <i>Substansi P</i> |
| SSP | : <i>Sistem Saraf pusat</i> |
| TRP | : <i>Transient receptor potential</i> |
| TRPC | : <i>Transient receptor potential channels</i> |
| VAS | : <i>Visual analog scale</i> |
| VDCCs | : <i>Voltage-dependent calcium channel</i> |
| VGCC | : <i>Voltage-Gated Calcium Channels</i> |
| WDR | : <i>Wide dynamic range</i> |
| 5-HT | : <i>5-hidroksitriptamin</i> |

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Nyeri merupakan pengalaman sensorik dan emosional yang tidak menyenangkan, yang berhubungan dengan kerusakan jaringan aktual, potensi kerusakan, atau dijelaskan sebagai adanya kerusakan. Nyeri akut biasanya ditandai dengan respons yang tiba-tiba, bersifat sementara, dan sering kali berlangsung kurang dari tujuh hari, terutama pada kasus pascaoperasi.¹ Nyeri pascaoperasi menjadi salah satu jenis nyeri akut yang paling umum dan sulit dihindari. Pada tahun 2014, Amerika Serikat melaporkan sekitar 86% pasien pascaoperasi mengalami nyeri, dengan 75% di antaranya merasakan nyeri skala sedang hingga berat.² Data di Indonesia juga menunjukkan bahwa nyeri pascaoperasi merupakan keluhan yang paling umum pada pasien pascaoperasi abdomen.³ Selain itu, sekitar 2-10% orang dewasa dilaporkan mengalami nyeri persisten.^{4,5}

Pengelolaan nyeri yang efektif sangat penting untuk memulihkan kondisi fungsional pasien sekaligus mengurangi risiko komplikasi pascaoperasi, seperti trombosis, gangguan pernapasan, dan komplikasi lainnya.⁶ Protokol *Enhanced Recovery After Surgery* (ERAS) telah menjadi standar perawatan bagi pasien pascaoperasi elektif, karena terbukti mempercepat pemulihan, mengurangi lama perawatan di rumah sakit, mendorong mobilisasi dini, menekan biaya perawatan, serta menurunkan tingkat morbiditas. Salah satu elemen kunci dalam protokol ERAS adalah penerapan pendekatan analgesia multimodal.⁷ Pendekatan ini melibatkan penggunaan lebih dari satu jenis obat analgesik yang bekerja pada reseptor berbeda di sepanjang jalur nyeri, dengan tujuan meningkatkan efektivitas analgesia sekaligus mengurangi efek samping yang mungkin ditimbulkan oleh masing-masing obat. Ketamin menjadi salah satu komponen analgesia multimodal yang sering digunakan dalam pengelolaan nyeri akut pascaoperasi, berkat efektivitasnya dalam mengurangi intensitas nyeri dan mempercepat pemulihan.^{8,9}

Ketamin merupakan analgesik non-narkotik yang berasal dari turunan *phencyclidine* (PCP) dan memiliki kemampuan untuk mengurangi stimulus noxius serta meningkatkan efek pereda nyeri pada pasien pascaoperasi. Ketamin bekerja sebagai antagonis reseptor *N-methyl-D-aspartate* (NMDA) dengan mekanisme nonkompetitif, memblokir saluran reseptor saat berada dalam keadaan terbuka.¹⁰ Hal ini menjadikannya salah satu obat yang sering digunakan dalam pendekatan analgesia multimodal untuk manajemen nyeri akut. Meskipun demikian, mekanisme molekuler ketamin dalam manajemen nyeri akut dengan pendekatan multimodal belum sepenuhnya dipahami. Penggunaan ketamin subanestetik telah direkomendasikan sebagai analgesik berdasarkan bukti yang menunjukkan peran reseptor NMDA dalam mekanisme nyeri. Namun, penelitian klinis menunjukkan variasi dosis dan durasi pemberian. Dosis subanestetik ketamin yang direkomendasikan meliputi < 0,35 mg/kg secara intravena sebagai bolus atau pemberian kontinu dengan dosis < 1 mg/kg per jam.¹¹ Efek analgesik yang adekuat dapat dicapai pada dosis serendah 0,15-0,25 mg/kg secara intravena.¹²

Proses nyeri dimulai ketika stimulus noxius memicu pelepasan berbagai molekul, termasuk neurotransmitter, peptida seperti substansi P, CGRP, dan bradikinin, serta mediator inflamasi seperti prostaglandin, sitokin, kemokin, dan protease. Saat terjadi kerusakan jaringan, ion kalium (K⁺), adenosin trifosfat (ATP), dan ion hidrogen (H⁺) dilepaskan dari sel, secara langsung merangsang nosiseptor. Nosiseptor adalah saraf aferen primer yang terdiri dari serabut A-delta, yang bertanggung jawab atas nyeri akut, serta serabut C, yang memediasi nyeri dengan onset lambat, tumpul, dan berkepanjangan. Stimulasi nosiseptor membuka saluran ion yang bergantung pada tegangan (*voltage-gated ion channels*), memungkinkan ion kalsium (Ca²⁺) dan natrium (Na⁺) masuk ke dalam sitoplasma. Masuknya ion-ion ini meningkatkan potensial membran istirahat nosiseptor, yang biasanya berada di sekitar -65 mV, hingga mencapai potensial ambang batas sekitar -40 mV. Ketika ambang ini tercapai, potensial aksi terbentuk, yang kemudian mengirimkan sinyal nyeri ke sistem saraf pusat untuk diproses lebih lanjut.^{13,14}

Substansi P (sP) merupakan salah satu neurotransmitter pertama yang diidentifikasi memiliki peran penting dalam transmisi nyeri di medula spinalis.

Neurotransmitter ini diekspresikan oleh neuron sensorik primer yang tidak bermielin di *dorsal root ganglia* (DRG) dan berkontribusi terutama pada persepsi nyeri sedang hingga berat.^{15,16} Substansi P berinteraksi dengan reseptor utamanya, yaitu reseptor neurokinin-1 (NK-1), yang terletak di kornu dorsalis medula spinalis. Ikatan substansi P dengan reseptor NK-1 memicu vasodilatasi dan pelepasan mediator inflamasi seperti prostaglandin, interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6), dan *tumor necrosis factor* (TNF). Pelepasan mediator-mediator ini tidak hanya memperburuk respons inflamasi tetapi juga meningkatkan produksi substansi P, menciptakan lingkaran setan yang memperkuat sensasi nyeri dan inflamasi secara berulang. Interaksi kompleks ini menjadikan substansi P sebagai target potensial untuk intervensi terapeutik dalam pengelolaan nyeri kronis dan inflamasi.¹⁴

Ketamin bekerja dengan mengikat reseptor glutamatergik dan *voltage-dependent calcium channels* (VDCC), yang menghambat masuknya ion Na^+ dan Ca^{2+} ke dalam sel neuron.¹⁷⁻¹⁹ Penelitian oleh Bustamante et al. (2019) pada sel PC12 menunjukkan bahwa pemberian ketamin dapat menyebabkan gangguan akut pada konsentrasi Ca^{2+} intraseluler ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) melalui inhibisi VDCC.²⁰ Ketidakseimbangan homeostasis antara aliran masuk dan keluar Ca^{2+} ini dapat mengakibatkan peningkatan atau penurunan konsentrasi Ca^{2+} intraseluler yang berkepanjangan, mengganggu jalur sinyal normal dan fungsi mitokondria. Pada mitokondria, aliran masuk Ca^{2+} terutama terjadi melalui VDCC, dengan transportasi melintasi membran dalam dimediasi oleh *uniporter* yang memanfaatkan gradien elektrokimia akibat potensial membran mitokondria negatif ($\Delta\Psi_m$). Baik VDCC maupun uniporter menunjukkan aktivasi yang bergantung pada Ca^{2+} , mendukung kontrol homeostatis $[\text{Ca}^{2+}]_i$. Di matriks mitokondria, Ca^{2+} juga menstimulasi *Ca²⁺-sensitive mitochondrial dehydrogenases*, yang meningkatkan ekstrusi H^+ untuk mempertahankan ambilan Ca^{2+} dan produksi ATP.²¹ Namun, pada kondisi nonfisiologis, kapasitas retensi kalsium oleh mitokondria menurun, yang menyebabkan hilangnya potensial transmembran mitokondria dan gangguan dalam fungsi energi seluler.²²

Dorsal root ganglion (DRG) memainkan peran penting dalam menghantarkan stimulus nyeri dari perifer menuju kornu dorsalis medula spinalis.

Ketamin, pada konsentrasi yang relevan secara klinis untuk pemberian intratekal, diketahui mampu menghambat saluran ion Na^+ dan K^+ pada neuron superfisial di lamina I dan II kornu dorsalis. Mekanisme ini berkontribusi pada efek analgesik ketamin dengan mengurangi transmisi sinyal nyeri pada tingkat spinal, menjadikannya pilihan yang efektif dalam manajemen nyeri akut dan kronis.²³

Penelitian ini bertujuan untuk mengukur efek pemberian ketamin pada dosis subanestetik sebelum induksi nyeri terhadap konsentrasi kalsium mitokondria pada sel *dorsal root ganglion* (DRG). Penggunaan neuron DRG primer dalam penelitian memiliki beberapa keterbatasan, seperti perlunya mengorbankan sejumlah hewan, prosedur isolasi jaringan yang kompleks, heterogenitas fenotipe sitokimia, serta kemungkinan munculnya artefak akibat keberadaan sel non-neural.²⁴ Sebagai alternatif, beberapa tahun terakhir telah dikembangkan *immortalized DRG neuron lines* yang lebih praktis dan konsisten untuk penelitian. Dalam penelitian ini, digunakan sel F-11, yaitu hibrida hasil fusi antara DRG tikus embrionik dan neuroblastoma mencit.²⁵ Substansi P dipilih sebagai agen untuk induksi nyeri, sementara pemberian ketamin sebelum aplikasi substansi P dianggap sebagai intervensi pra-induksi nyeri. Desain ini memungkinkan pengujian efek ketamin secara spesifik terhadap regulasi kalsium mitokondria pada model sel DRG.

1.2 Identifikasi Masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang, beberapa permasalahan yang mendasari dilaksanakannya penelitian ini dapat diidentifikasi sebagai berikut:

1. Ketamin diketahui memiliki efek inhibisi pada mekanisme transportasi Ca^{2+} intraseluler secara independen, yang tidak terkait dengan interaksinya pada kanal kalsium di reseptor NMDA.
2. Hingga saat ini, belum tersedia penelitian yang secara khusus mengevaluasi efek ketamin terhadap konsentrasi kalsium mitokondria pada sel dorsal root ganglia (DRG) dalam konteks protokol Enhanced Recovery After Surgery (ERAS).

3. Induksi apoptosis oleh ketamin dimediasi melalui jalur intrinsik mitokondria, terlepas dari mekanisme ekstrinsik, baik pada sel non-saraf seperti sel Jurkat T-limfoma dan sel parental, maupun pada sel saraf seperti sel neuroblastoma. Identifikasi masalah ini menjadi dasar untuk mengkaji lebih lanjut efek ketamin pada jalur intraseluler, khususnya dalam konteks nyeri akut dan penggunaannya dalam protokol ERAS.

1.3 Rumusan Masalah

Bagaimana pemberian ketamin pada neuron yang terlibat dalam nyeri akut dapat mempengaruhi penurunan konsentrasi kalsium mitokondria pada sel *dorsal root ganglion* (DRG)?

1.4 Tujuan Penelitian

1.4.1 Tujuan Umum

Mengidentifikasi efek pemberian ketamin sebelum induksi nyeri pada neuron DRG yang terkait dengan nyeri akut terhadap konsentrasi kalsium mitokondria pada sel neuron DRG.

1.4.2 Tujuan Khusus

1. Menentukan waktu optimum diferensiasi sel F-11 menjadi sel neuron DRG.
2. Menentukan dosis optimum substansi P sebagai induktor nyeri akut pada sel neuron DRG.
3. Mengamati pengaruh ketamin prainduksi terhadap aktivitas potensial membran pada sel model nyeri akut
4. Mengetahui efek ketamin prainduksi terhadap potensial membran mitokondria pada sel model nyeri akut.
5. Mengetahui efek ketamin terhadap konsentrasi kalsium mitokondria pada sel model nyeri akut.

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Manfaat Ilmiah

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi signifikan dalam pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya di bidang manajemen nyeri menggunakan ketamin dalam pendekatan analgesia multimodal. Selain itu, penelitian ini juga diharapkan mampu menyediakan bukti ilmiah mengenai pengaruh ketamin pada dosis yang ditentukan terhadap regulasi konsentrasi kalsium mitokondria secara intraseluler dalam konteks analgesia multimodal.

1.5.2 Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi yang berarti bagi penelitian ilmiah dan praktik klinis, khususnya dalam memahami efek ketamin praoperasi nyeri pada tingkat intraseluler, yang dalam hal ini terkait dengan konsentrasi kalsium mitokondria pada sel neuron. Temuan ini akan memperkaya konsep penggunaan protokol *Enhanced Recovery After Surgery* (ERAS), terutama dalam konteks pengelolaan nyeri melalui modulasi seluler pada *dorsal root ganglion* (DRG).

1.6 Hipotesis Penelitian

Pemberian ketamin dosis subanestetik dapat menyebabkan penurunan konsentrasi kalsium mitokondria sel pada sel neuron.

DAFTAR PUSTAKA

1. Chou R, Wagner J, Ahmed AY, et al. Treatments for Acute Pain: A Systematic Review. *Treat Acute Pain A Syst Rev.* 2020;(240). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33411426/>
2. Saragih IS, Rupang ER, Tampubolon L, Ginting AAY, Simorangkir L. Correlation Of Pain Intensity and Pain Interference In Post Operation Patients. *Indones J Glob Heal Res.* 2022;4(4):759-768.
3. Chanif, Wongchan P, Wimonrat C. Acute postoperative pain of Indonesian patients after abdominal surgery. *Nurse Media Journal of Nursing.* Volume 2. Issue 2. Year 2012. Pages 409-420. Published online 2012:409-420.
4. Hyland SJ, Wetshtein AM, Grable SJ, Jackson MP. Acute Pain Management Pearls: A Focused Review for the Hospital Clinician. *Healthc.* 2023;11(1). doi:10.3390/healthcare11010034
5. Horn R, Kramer J. Postoperative Pain Control. StatPearls [Internet]. Published 2022. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544298/>
6. Kasputytė G, Karbonskienė A, Macas A, Maleckas A. Role of ketamine in analgesia multimodal protocol for bariatric surgery. *Med.* 2020;56(3). doi:10.3390/medicina56030096
7. Moningi S, Patki A, Padhy N, Ramachandran G. Enhanced recovery after surgery: An anesthesiologist's perspective. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol.* 2019;34(3):46-50. doi:10.4103/joacp.JOACP_238_16
8. Raymond BL, Allen BFS, Freundlich RE, et al. The IMPact of PerioperAtive KeTamine on Enhanced Recovery after Abdominal Surgery (IMPAKT ERAS): protocol for a pragmatic , randomized , double - blinded , placebo - controlled trial. Published online 2023:1-11. doi:10.1186/s12871-023-02177-y
9. Simpson JC, Bao X, Agarwala A. Pain Management in Enhanced Recovery after Surgery (ERAS) Protocols. *Clin Colon Rectal Surg.* 2019;32(2):121-128. doi:10.1055/s-0038-1676477
10. Brinck ECV, Tiippana E, Heesen M, et al. Perioperative intravenous

- ketamine for acute postoperative pain in adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2018;2018(12). doi:10.1002/14651858.CD012033.pub4
11. Schwenk ES, Viscusi ER, Buvanendran A, et al. Consensus Guidelines on the Use of Intravenous Ketamine Infusions for Acute Pain Management From the American Society of Regional Anesthesia and Pain Medicine, the American Academy of Pain Medicine, and the American Society of Anesthesiologists. *Reg Anesth Pain Med.* 2018;43(5):456-466. doi:10.1097/AAP.0000000000000806
 12. Zanos P, Moaddel R, Morris PJ, et al. Ketamine and ketamine metabolite pharmacology: Insights into therapeutic mechanisms. *Pharmacol Rev.* 2018;70(3):621-660. doi:10.1124/pr.117.015198
 13. Answine JF. A Basic Review of Pain Pathways and Analgesia. *Anesthesiol News.* Published online 2018:137-145. <http://anesthesiaexperts.com/uncategorized/basic-review-pain-pathways-analgesia/>
 14. Sacerdote P, Levrini L. Peripheral mechanisms of dental pain: The role of substance P. *Mediators Inflamm.* 2012;2012(May 2014). doi:10.1155/2012/951920
 15. Gautam M, Prasoon P, Kumar R, Reeta KH, Kaler S, Ray SB. Role of neurokinin type 1 receptor in nociception at the periphery and the spinal level in the rat. *Spinal Cord.* 2016;54(3):172-182. doi:10.1038/sc.2015.206
 16. Zhang H, Cang CL, Kawasaki Y, et al. Neurokinin-1 receptor enhances TRPV1 activity in primary sensory neurons via PKC ϵ : A novel pathway for heat hyperalgesia. *J Neurosci.* 2007;27(44):12067-12077. doi:10.1523/JNEUROSCI.0496-07.2007
 17. Lisek M, Zylinska L, Boczek T. Ketamine and calcium signaling—a crosstalk for neuronal physiology and pathology. *Int J Mol Sci.* 2020;21(21):1-26. doi:10.3390/ijms21218410
 18. Rose M, Santangelo, Acker TM, Zimmerman SS, et al. Novel NMDA Receptor Modulators: An Update. *Expert Opin Ther Pat.* 2012;22(11):1337–1352. doi:10.1517/13543776.2012.728587.Novel

19. Kamdar MM. Ketamine and NMDA-Receptor Antagonists. In: Deer TR, Pope JE, Lamer TJ, Provenzano D, eds. *Deer's Treatment of Pain: An An Illustrated Guide for Practitioners*. Springer Nature Switzerland AG; 2019:199-204.
20. Bustamante J, Acosta L, Karadayian AG. Ketamine induced cell death can be mediated by voltage dependent calcium channels in PC12 cells. *Exp Mol Pathol*. Published online 2019:104318. doi:10.1016/j.yexmp.2019.104318
21. Bustamante J, Czerniczyniec A, Lores-Arnaiz S. Ketamine effect on intracellular and mitochondrial calcium mobilization. *Biocell*. 2016;40(1):11-14. doi:10.32604/biocell.2016.40.011
22. Carafoli E. Historical review: Mitochondria and calcium: Ups and downs of an unusual relationship. *Trends Biochem Sci*. 2003;28(4):175-181. doi:10.1016/S0968-0004(03)00053-7
23. Schnoebel R, Wolff M, Peters SC, et al. Ketamine impairs excitability in superficial dorsal horn neurones by blocking sodium and voltage-gated potassium currents. *Br J Pharmacol*. 2005;146(6):826-833. doi:10.1038/sj.bjp.0706385
24. Martínez AL, Brea J, Monroy X, Merlos M, Burgueño J, Loza MI. A New Model of Sensorial Neuron-Like Cells for HTS of Novel Analgesics for Neuropathic Pain. *SLAS Discov*. 2019;24(2):158-168. doi:10.1177/2472555218810323
25. Pastori V, D'Aloia A, Blasa S, Lecchi M. Serum-deprived differentiated neuroblastoma F-11 cells express functional dorsal root ganglion neuron properties. *PeerJ*. 2019;2019(10):1-20. doi:10.7717/peerj.7951
26. Castro-Junior C, Ferreira L, Delgado M, Silva J, Santos D. Role of Calcium Permeable Channels in Pain Processing. *Ion Channels Heal Sick*. Published online 2018. doi:10.5772/intechopen.77996
27. Yam MF, Loh YC, Tan CS, Adam SK, Manan NA, Basir R. General pathways of pain sensation and the major neurotransmitters involved in pain regulation. *Int J Mol Sci*. 2018;19(8). doi:10.3390/ijms19082164
28. Basbaum AI, Bautista DM, Scherrer G, Julius D. Cellular and Molecular

- Mechanisms of Pain. 2016;27(5):1288-1299. doi:10.1681/ASN.2015070740
29. Vadivelu N, Whitney CJ, Sinatra RS. Pain Pathways and Acute Pain Processing. In: Sinatra RS, Leon-Cassasola OA de, Viscusi ER, Ginsberg B, eds. *Acute Pain Management*. Cambridge University Press; 2009:3-20. doi:10.1017/CBO9780511841378.003
 30. O'Neil CK. Pain Management. In: *Pharmacotherapy Principles & Practice*. The McGraw-Hill Companies, Inc; 2008:487-500. doi:10.1036/0071448802
 31. Fong A, Schug SA. Pathophysiology of pain: A practical primer. *Plast Reconstr Surg*. 2014;134(4):8S-14S. doi:10.1097/PRS.0000000000000682
 32. Dinakar P, Stillman AM. Pathogenesis of Pain. *Semin Pediatr Neurol*. 2016;23(3):201-208. doi:10.1016/j.spen.2016.10.003
 33. Bourne S, Machado AG, Nagel SJ. Basic anatomy and physiology of pain pathways. *Neurosurg Clin N Am*. 2014;25(4):629-638. doi:10.1016/j.nec.2014.06.001
 34. Ghori MK, Zhang YFR, Sinatra RS. Pathophysiology of acute pain. *Acute Pain Manag*. Published online 2009:21-32. doi:10.1017/CBO9780511576706.003
 35. Sharma RS, Das G. What is the Minimum Knowledge of Pain Medicine needed for Other Specialty? *J Recent Adv Pain*. 2018;4(1):32-35. doi:10.5005/jp-journals-10046-0098
 36. Schug SA, Daly HCS, Stannard KJD. Pathophysiology of Pain. In: *Mechanisms of Vascular Disease: A Reference Book for Vascular Specialists [Internet]*. University of Adelaide Press; 2011. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534269/>
 37. Hylden JLK, Wilcox GL. Intrathecal substance P elicits a caudally-directed biting and scratching behavior in mice. *Brain Res*. 1981;217(1):212-215. doi:10.1016/0006-8993(81)90203-1
 38. Malcangio M, Ramer MS, Jones MG, McMahon SB. Abnormal substance P release from the spinal cord following injury to primary sensory neurons. *Eur J Neurosci*. 2000;12(1):397-399. doi:10.1046/j.1460-9568.2000.00946.x

39. Yong H. Inflammatory Cascade: Pathogenesis and Clinical Findings. The Calgary Guide to Understanding Disease. Published 2018. <https://calgaryguide.ucalgary.ca/inflammatory-cascade-pathogenesis-and-clinical-findings/>
40. Patil KR, Mahajan UB, Unger BS, Goyal SN. Animal Models of Inflammation for Screening of Anti-inflammatory Drugs : Implications for the Discovery and Development of Phytopharmaceuticals.
41. Tracey I, Woolf CJ, Andrews NA. Composite Pain Biomarker Signatures for Objective Assessment and Effective Treatment. *Neuron*. 2019;101(5):783-800. doi:10.1016/j.neuron.2019.02.019
42. Davis KD, Aghaepour N, Ahn AH, et al. Discovery and validation of biomarkers to aid the development of safe and effective pain therapeutics: challenges and opportunities. *Nat Rev Neurol*. 2020;16(7):381-400. doi:10.1038/s41582-020-0362-2
43. Gao M, Rejaei D, Liu H. Ketamine use in current clinical practice. *Acta Pharmacol Sin*. 2016;37(7):865-872. doi:10.1038/aps.2016.5
44. Hornik CP, Gonzalez D, van den Anker J, et al. Population Pharmacokinetics of Intramuscular and Intravenous Ketamine in Children. *J Clin Pharmacol*. 2018;58(8):1092-1104. doi:10.1002/jcph.1116
45. Rolan P, Lim S, Sunderland V, Liu Y, Molnar V. The absolute bioavailability of racemic ketamine from a novel sublingual formulation. *Br J Clin Pharmacol*. 2014;77(6):1011-1016. doi:10.1111/bcp.12264
46. Dinis-Oliveira RJ. Metabolism and metabolomics of ketamine: a toxicological approach. *Forensic Sci Res*. 2017;2(1):2-10. doi:10.1080/20961790.2017.1285219
47. Adamowicz P, Kala M. Urinary excretion rates of ketamine and norketamine following therapeutic ketamine administration: Method and detection window considerations. *J Anal Toxicol*. 2005;29(5):376-382. doi:10.1093/jat/29.5.376
48. Jouguelet-lacoste J, Colla L La, Schilling D, Chelly JE, Biologiques P, Lyon U De. PERIOPERATIVE PAIN SECTION The Use Intravenous Infusion or

Single Dose of Low-Dose Ketamine for Postoperative Original Article Analgesia : A Review of the Current Literature The Use of Intravenous Infusion or Single Dose of Low-Dose Ketamine for Postopera. Published online 2015:383-403.

49. Abdullatif EB, Amin MA, Lotfy SA. Comparative study between preoperative ketamine bolus dose versus ketamine bolus plus infusion for perioperative analgesia in orthopedic surgery. *Azhar Med Fac, Girls*. 2020;4:660-666. doi:10.4103/sjamf.sjamf
50. Pchitskaya E, Popugaeva E, Bezprozvanny I. Calcium signaling and molecular mechanisms underlying neurodegenerative diseases. *Cell Calcium*. 2018;70:87-94. doi:10.1016/j.ceca.2017.06.008
51. Prado WA. Involvement of calcium in pain and antinociception. *Brazilian J Med Biol Res*. 2001;34(4):449-461. doi:10.1590/S0100-879X2001000400003
52. Gleichmann M, Mattson MP. Neuronal calcium homeostasis and dysregulation. *Antioxidants Redox Signal*. 2011;14(7):1261-1273. doi:10.1089/ars.2010.3386
53. Brini M, Ottolini D, Calì T, Carafoli E. *Calcium in Health and Disease*. Vol 13.; 2013. doi:10.1007/978-94-007-7500-8_4
54. Brini M, Calì T, Ottolini D, Carafoli E. Neuronal calcium signaling: Function and dysfunction. *Cell Mol Life Sci*. 2014;71(15):2787-2814. doi:10.1007/s00018-013-1550-7
55. Galeotti N, Bartolini A, Ghelardini C. Role of intracellular calcium in acute thermal pain perception. *Neuropharmacology*. 2004;47(6):935-944. doi:https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2004.07.001
56. Bravo R, Gutierrez T, Paredes F, et al. Endoplasmic reticulum: ER stress regulates mitochondrial bioenergetics. *Int J Biochem Cell Biol*. 2012;44(1):16-20. doi:10.1016/j.biocel.2011.10.012
57. Hagenacker T, Ledwig D. Feedback mechanisms in the regulation of intracellular calcium ($[Ca^{2+}]_i$) in the peripheral nociceptive system : Role of TRPV-1 and pain related receptors. 2008;43:215-227.

doi:10.1016/j.ceca.2007.05.019

58. Berridge MJ. Neuronal Calcium Signaling. *Neuron*. 1998;21:13-26.
59. Romero-Garcia S, Prado-Garcia H. Mitochondrial calcium: Transport and modulation of cellular processes in homeostasis and cancer (Review). *Int J Oncol*. 2019;54(4):1155-1167. doi:10.3892/ijo.2019.4696
60. Yousuf MS, Maguire AD, Simmen T, Kerr BJ. Endoplasmic reticulum – mitochondria interplay in chronic pain : The calcium connection. Published online 2020. doi:10.1177/1744806920946889
61. Guo BL, Sui BD, Wang XY, et al. Significant changes in mitochondrial distribution in different pain models of mice. *Mitochondrion*. 2013;13(4):292-297. doi:10.1016/j.mito.2013.03.007
62. Czerniczyniec A, Karadayian AG, Bustamante J, Lores-Arnaiz S. Ketamine treatment affects hippocampal but not cortical mitochondrial function in prepubertal rats. *Int J Dev Neurosci*. 2020;80(3):175-187. doi:10.1002/jdn.10015
63. Haberberger RV, Barry C, Matusica D. Immortalized Dorsal Root Ganglion Neuron Cell Lines. *Front Cell Neurosci*. 2020;14(June). doi:10.3389/fncel.2020.00184
64. Walker DK. The use of pharmacokinetic and pharmacodynamic data in the assessment of drug safety in early drug development. *Br J Clin Pharmacol*. 2004;58(6):601-608. doi:10.1111/j.1365-2125.2004.02194.x
65. Laksono RM, Kalim H, Rohman MS, Widodo N, Halim MRA & W. Pulsed Radiofrequency Decreases pERK and Level , and Mitochondrial Membrane Potential in the Sensitized Dorsal Root Ganglion Neuron Pulsed Radiofrequency Decreases pERK and Affects Intracellular Ca²⁺ Influx , Cytosolic ATP Level , and Mitochondrial Memb. *J Pain Res*. 2023;16:1697–1711. doi:10.2147/JPR.S409658
66. Hashemian S, Alhouayek M, Fowler CJ. TLR4 receptor expression and function in F11 dorsal root ganglion × neuroblastoma hybrid cells. *Innate Immun*. 2017;23(8):687-696. doi:10.1177/1753425917732824
67. Platika D, Boulos MH, Baizer L, Fishman MC. Neuronal traits of clonal cell

- lines derived by fusion of dorsal root ganglia neurons with neuroblastoma cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1985;82(10):3499-3503. doi:10.1073/pnas.82.10.3499
68. Martínez AL, Brea J, Domínguez E, et al. Identification of Sodium Transients Through NaV1.5 Channels as Regulators of Differentiation in Immortalized Dorsal Root Ganglia Neurons. *Front Cell Neurosci*. 2022;16(April):1-13. doi:10.3389/fncel.2022.816325
69. Basalamah F, Dilogo IH, Raharjo SB, et al. TBX3 transfection and nodal signal pathway inhibition promote differentiation of adipose mesenchymal stem cell to cardiac pacemaker-like cells. *Stem Cell Res Ther*. 2024;15(1):1-14. doi:10.1186/s13287-024-03760-x
70. Khadria A. Tools to measure membrane potential of neurons. *Biomed J*. 2022;45(5):749-762. doi:10.1016/j.bj.2022.05.007
71. Abdulla FA, Stebbing MJ, Smith PA. Effects of substance P on excitability and ionic currents of normal and axotomized rat dorsal root ganglion neurons. *Eur J Neurosci*. 2001;13(3):545-552. doi:10.1046/j.0953-816X.2000.01429.x
72. Moraes ER, Kushmerick C, Naves LA. Characteristics of Dorsal Root Ganglia Neurons Sensitive to Substance P. *Mol Pain*. 2014;10:1-9. doi:10.1186/1744-8069-10-73
73. Mion G, Villevieille T. Ketamine Pharmacology: An Update (Pharmacodynamics and Molecular Aspects, Recent Findings). *CNS Neurosci Ther*. 2013;19(6):370-380. doi:10.1111/cns.12099
74. Ho CCK, Pezhman H, Praveen S, et al. Ketamine-associated ulcerative cystitis: A case report and literature review. *Malaysian J Med Sci*. 2010;17(2):61-65.
75. Meng E, Wu ST, Cha TL, Sun GH, Yu DS, Chang SY. A murderer of young bladders: Ketamine-associated cystitis. *Urol Sci*. 2013;24(4):113-116. doi:10.1016/j.urols.2013.09.001
76. Baker SC, Shabir S, Georgopoulos NT, Southgate J. Ketamine-Induced Apoptosis in Normal Human Urothelial Cells: A Direct, N-Methyl-D-

- Aspartate Receptor-Independent Pathway Characterized by Mitochondrial Stress. *Am J Pathol.* 2016;186(5):1267-1277. doi:10.1016/j.ajpath.2015.12.014
77. McKenzie M, Lim SC, Duchen MR. Simultaneous measurement of mitochondrial calcium and mitochondrial membrane potential in live cells by fluorescent microscopy. *J Vis Exp.* 2017;2017(119):2-7. doi:10.3791/55166
78. Monteith A, Marszalec W, Chan P, et al. Imaging of Mitochondrial and Non-Mitochondrial Responses in Cultured Rat Hippocampal Neurons Exposed to Micromolar Concentrations of TMRM. *PLoS One.* 2013;8(3):e58059. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0058059>
79. Yamazaki M, Ito Y, Kuze S, Shibuya N, Momose Y. Effects of ketamine on voltage-dependent Ca^{2+} currents in single smooth muscle cells from rabbit portal vein. *Pharmacology.* 1992;45(3):162-169. doi:10.1159/000138994