

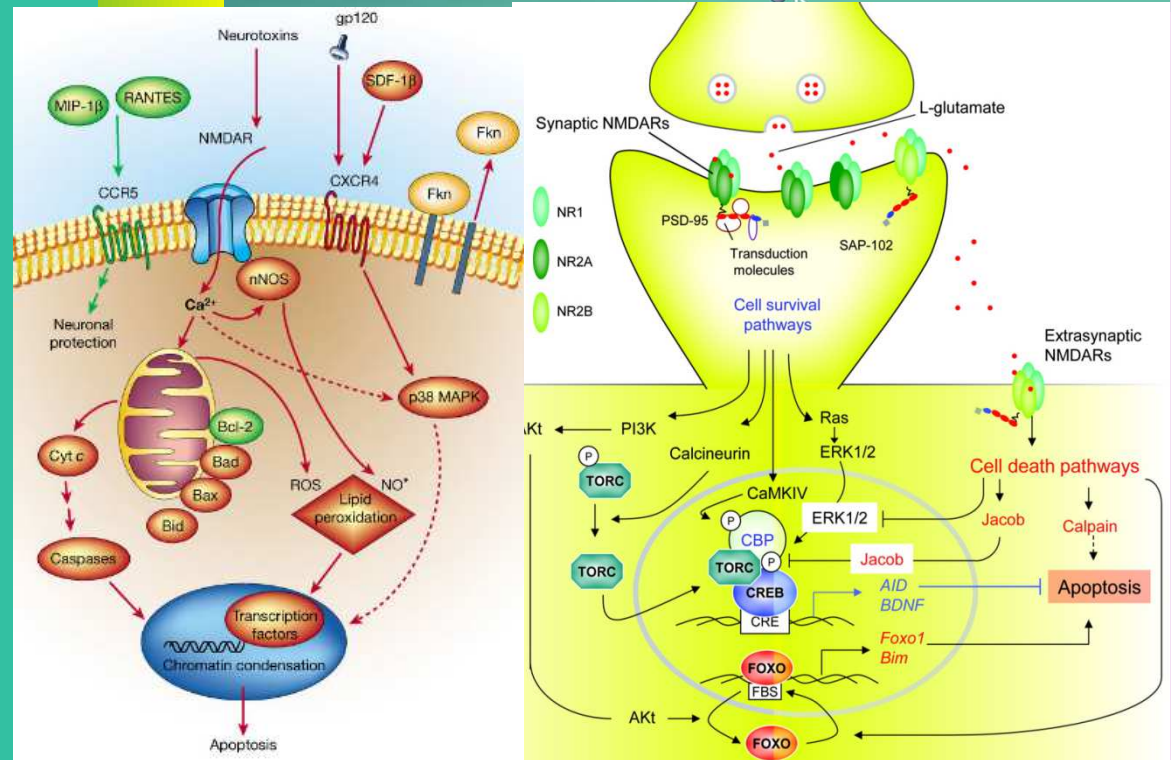
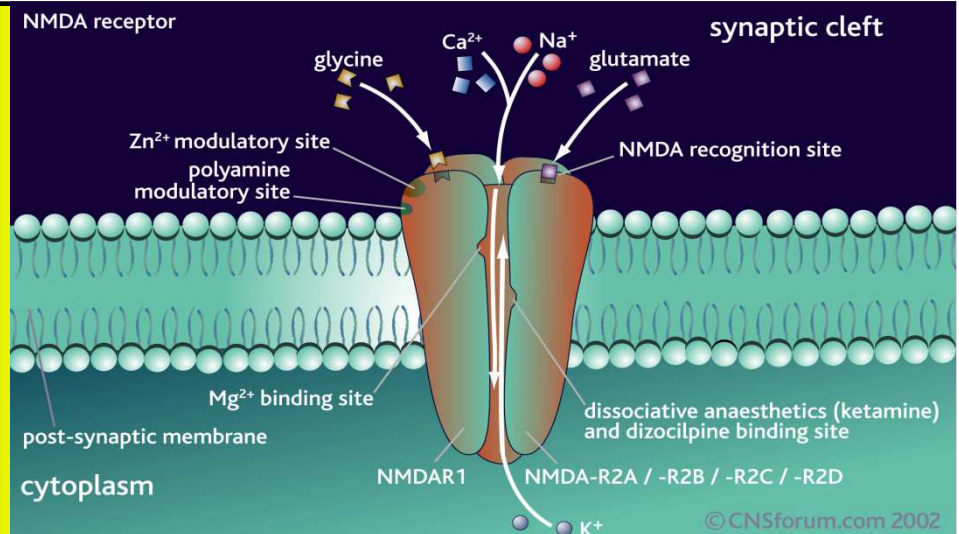


Imunomodulační potence ketaminu

Vlasta Dostálová

NMDA vazba

- Nekompetitivní antagonistá NMDA receptorů
 - Blokuje excitaci receptorů glutamátem a aspartátem
 - Excesivní aktivace vede k excitotoxicitě, k akutní, degeneraci neuronu a demyelinizaci
 - NMDA receptory na lymfocytech, plicních makrofázích a hematopoetických buňkách kostní dřeně, GI buňkách

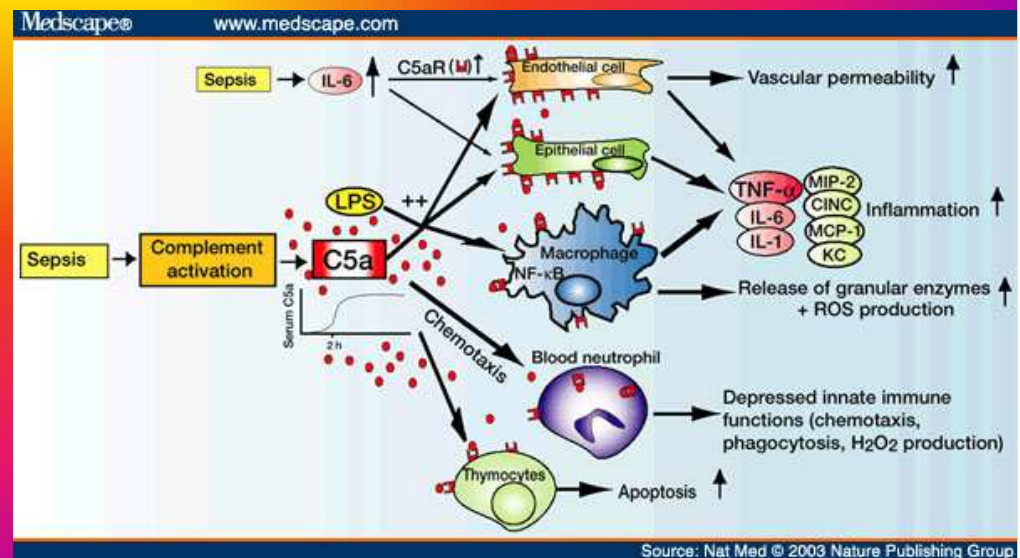


Imunomodulační efekt ketaminu

- Na buňky imunitního systému
- Na adhezi lymfo a leukocytů
- Na tvorbu cytokinů
- Na regulaci apoptózy

Effects of ketamine on immunosuppression.

Study targets	Importance	Ketamine effect
NK cell count and activity	Kill viral-infected or tumor cells	Reduced ^{10,11}
CD11b, CD16, CD18, CD62L	Cell adhesion and migration, bacterial phagocytosis	Reduced ¹²⁻¹⁴
IL-1 β , IL-6, TNF- α	Proinflammatory cytokines	Reduced ¹⁵⁻²⁵
IL-2	Cellular and humoral immune response	Preserved ^{26,27}
Mitochondrial membrane potential	Macrophage function	Reduced ¹⁶
LPS/LBP binding	Activate inflammation response	Reduced ¹⁷
Ras/Raf/MEK/ERK/IKK	Signal pathway for proinflammatory cytokines	Inhibited ^{7,17,18,28,29}
NF κ B, AP-1	Transcription factors for proinflammatory cytokines	Inhibited ^{7,14,20-22,29-31}



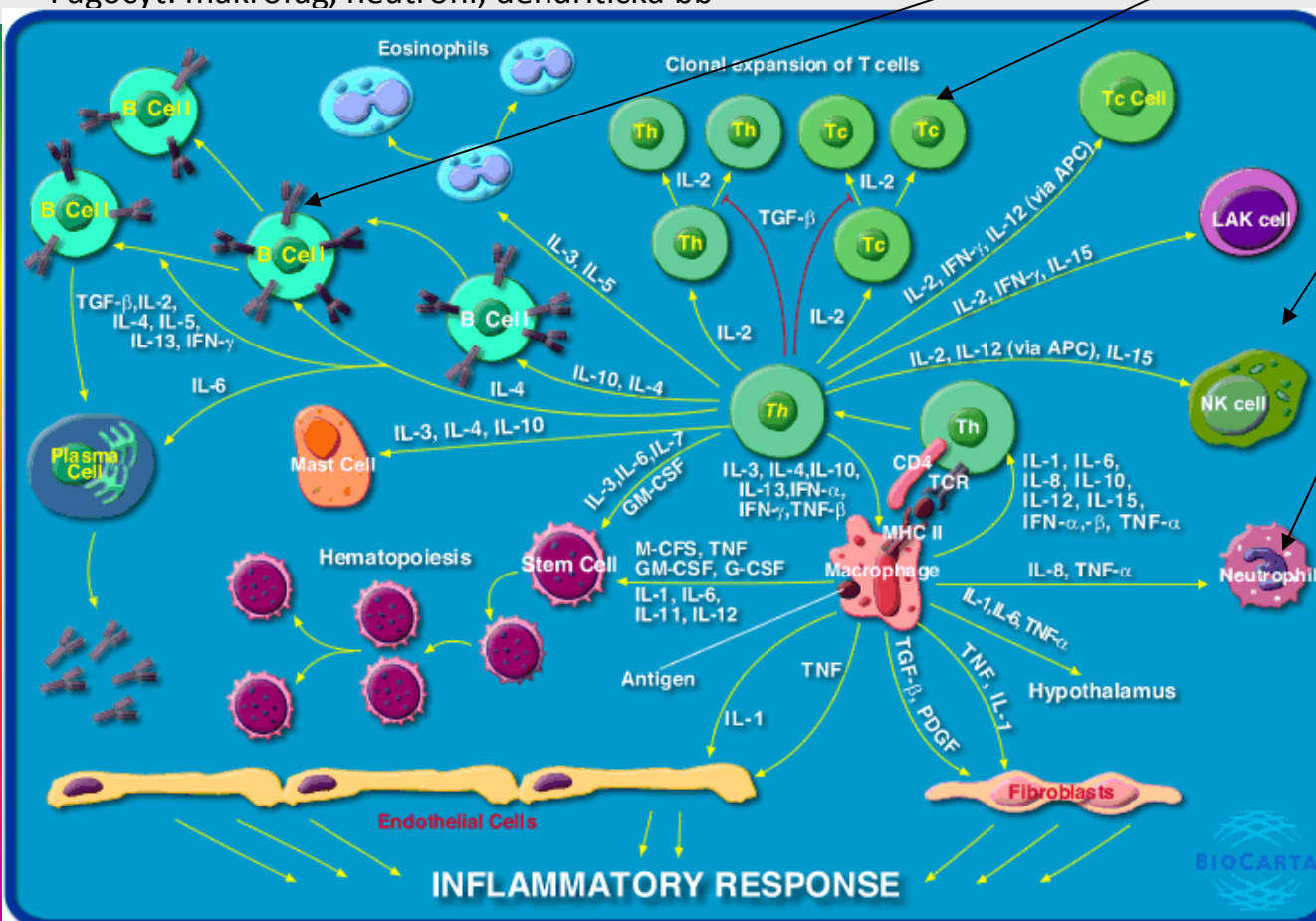
Imunosupresivní efekt ketaminu na buňky imunitního systému

Odpověď na infekci

Makrofágy - zahájení zánětlivé odpovědi – uvolnění cytokinů TNF- a, IL 1,6,8

Leukocyty: NK bb (viry, nádorové bb), mastocyty, eosinofily, basofil

Fagocyt: makrofág, neutrofil, dendritická bb



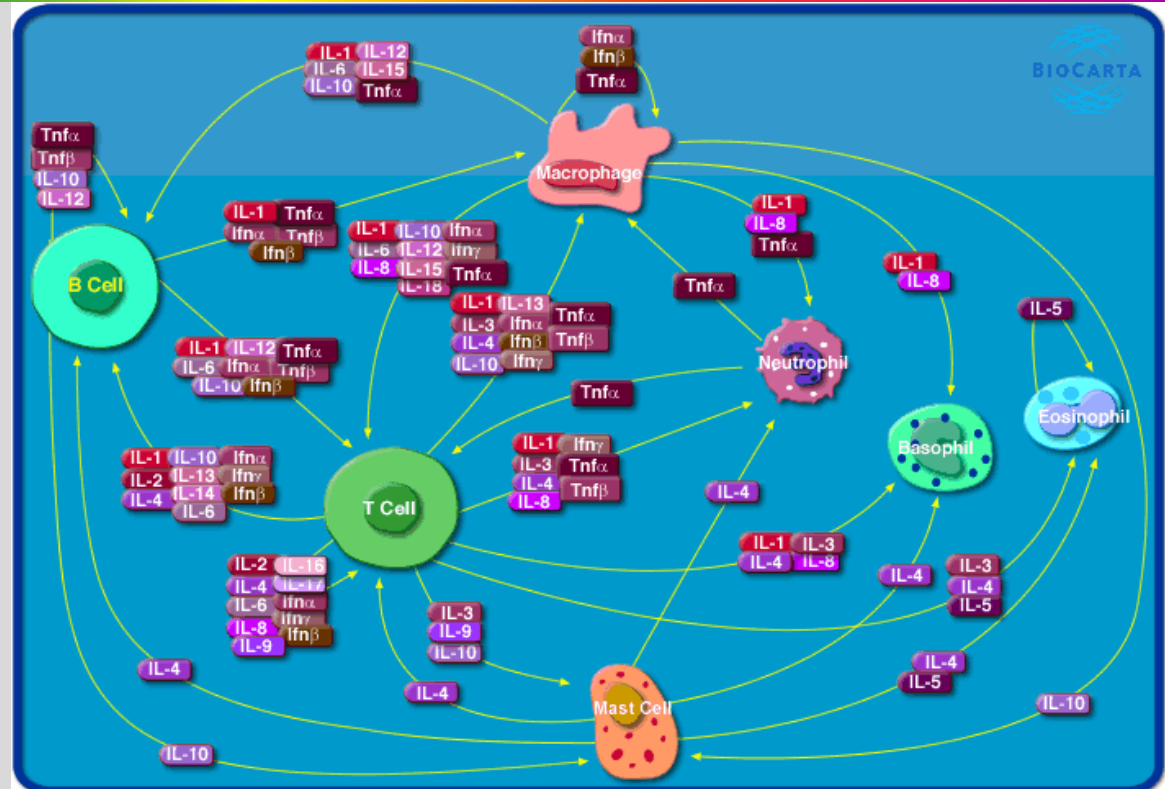
Ketamin inhibuje funkce lymfocytů

Ketamin inhibuje počet a aktivitu NK (natural killer) bb – lymfocyt– (zvýšení metastáz) CD 16 a CD 62L

Ketamin inhibuje funkce neutrofilů (destrukce bakterií) CD 16

Ketaminem ovlivněný makrofág

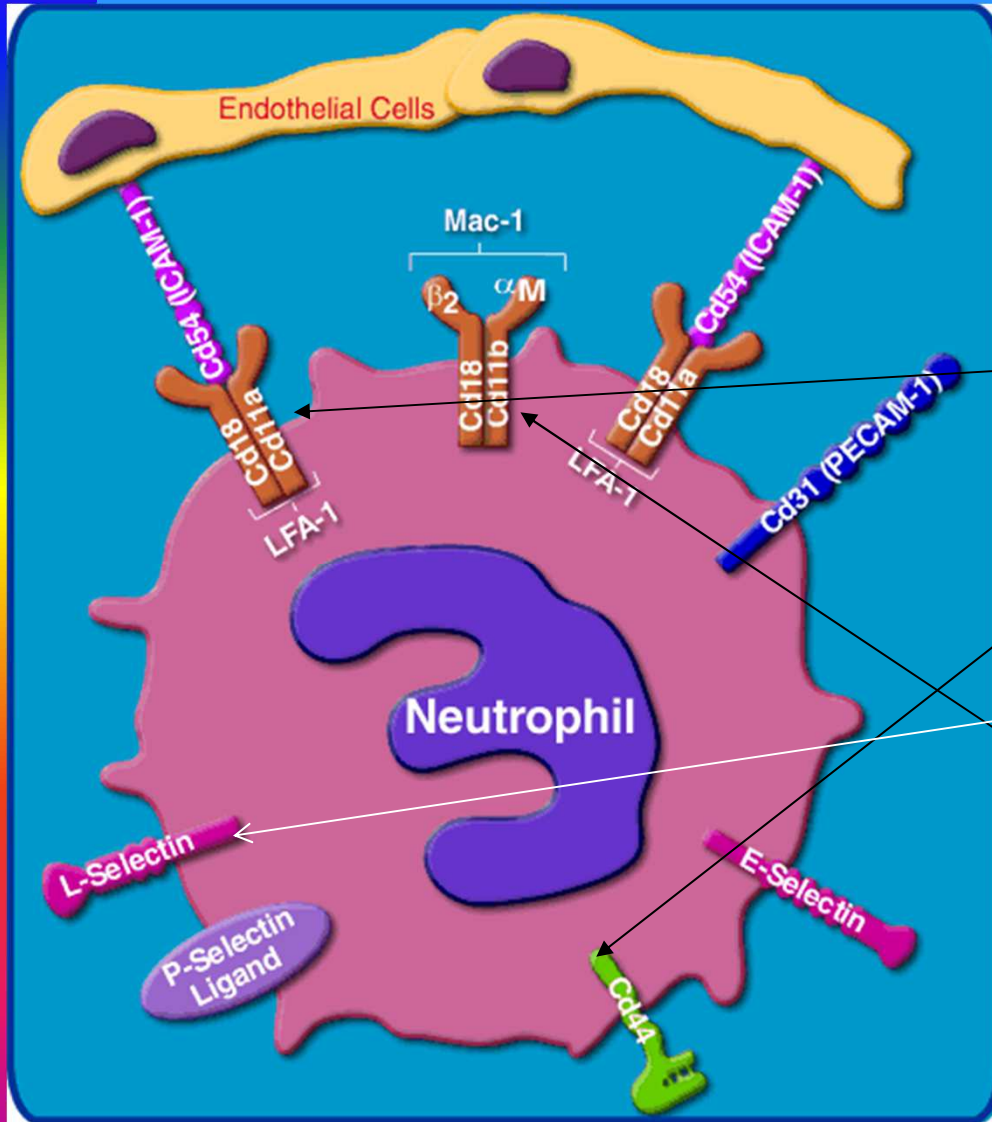
- Ovlivnění makrofágy zprostředkované imunity
- Ketamin snižuje membránový potenciál mitochondrií makrofágů a tím vede k jejich dysfunkci
- Inhibice produkce NO



Inhibice TNF- α , IL-1 β a IL 6
ketaminem u LPS
aktivovaných makrofágů

Zachování IL 2 -proliferace T a B lymfo
Zvýšení IL 10 -human cytokine
synthesis inhibitory factor (CSIF)

Inhibice neutrofilů ketaminem



Mac-1: Macrophage-1 antigen (nebo integrin $\alpha M \beta 2$) je receptor complementu ("CR3") složený z CD11b (integrin αM) a CD18 (integrin $\beta 2$). Váže se na C3b a C4b.

CD 11 a 18 – interakce s adhezními molekulami na bb endotelu a migrace do zánětu **Ketamin**

CD 44 – interakce neutrofilů s endoteliální bb a extracelulární matrix **Ketamin**

CD 62L-L-Selectin **Ketamin**

CD 11b váže složky complementu

CD 16 vazbou na Fc-IgG je odpovědný za fagocytózu a tvorbu cytokinů **Ketamin**

Neutrofilů podle podílu cytoplasmatických granul granulocyty, basofil, eosinofil

Adhezní molekuly

- Expresí adhezních molekul endotelu cév
 - Esenciální pro zánětlivou reakci
 - Reguluje přechod leukocytů z cév do zánětlivé tkáně
- 1. interakce leukocytů s nízkou afinitou s P-L- a E-selektinem, navázání a rolování leuko do místa zánětu přes endotel
- 2. interakce s vysokou afinitou zprostředkovaná „platelet endothelial cell adhesion molecule“ 1
 - PECAM-1 (CD31), ICAM-1 (CD54) a VCAM-1(CD106)

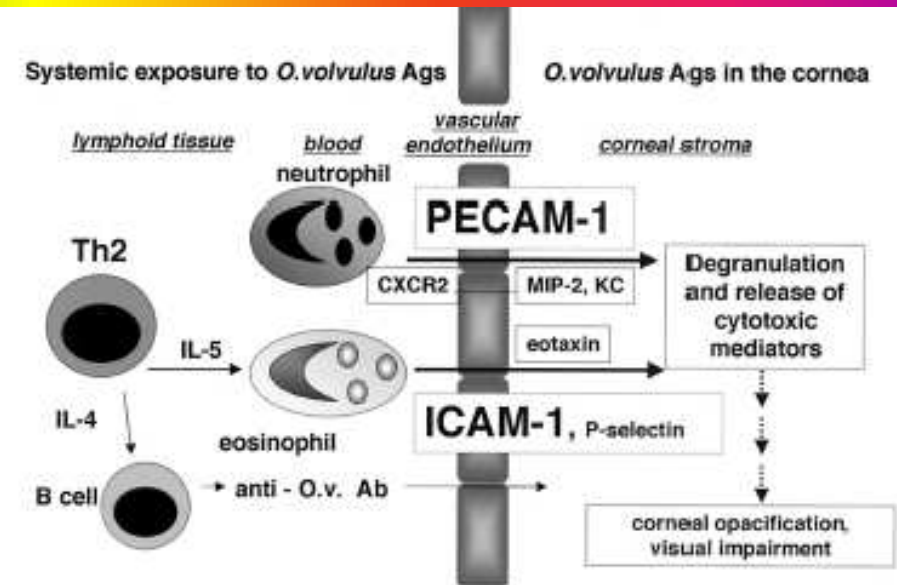
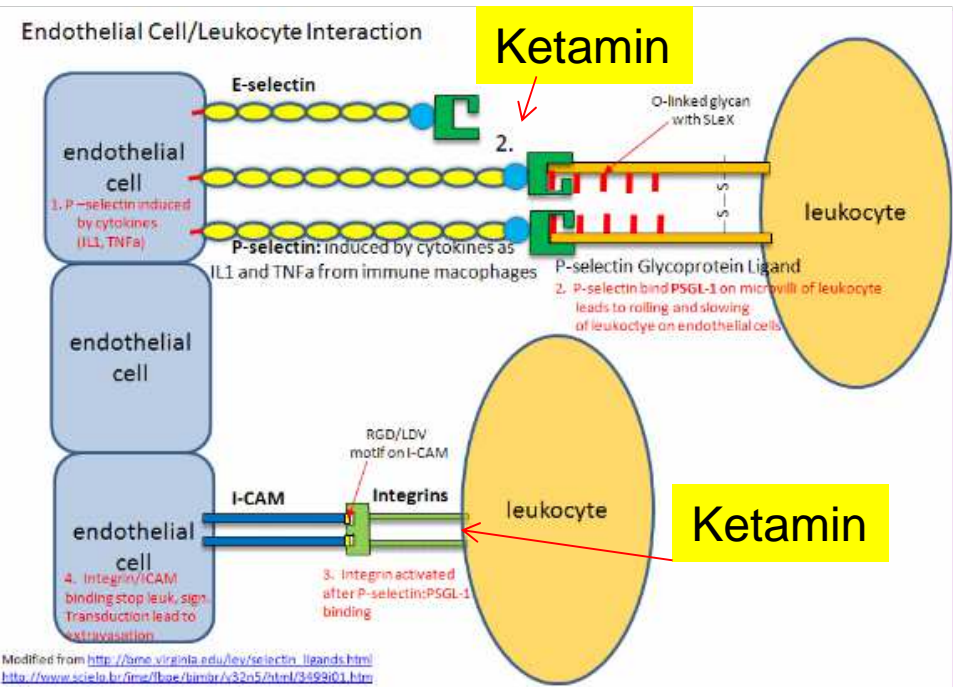
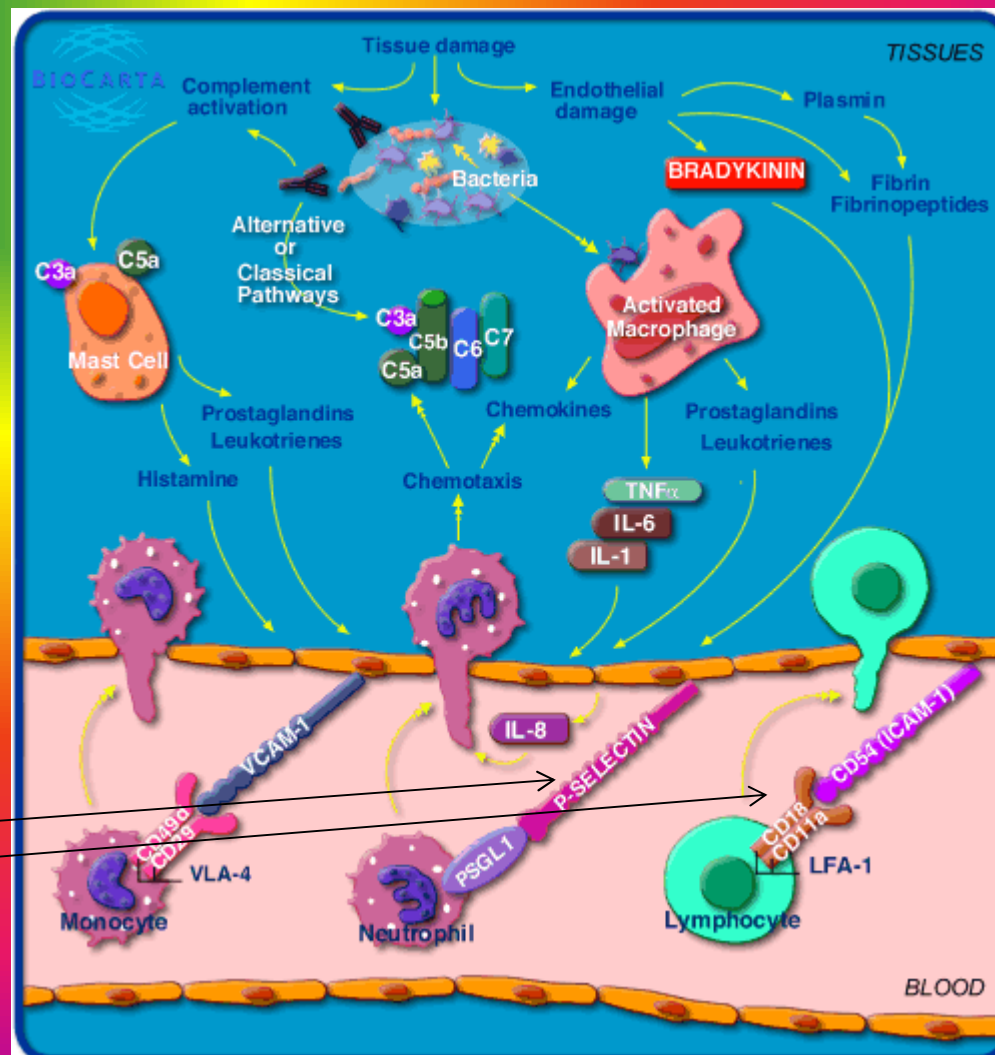


FIGURE 6. The role of vascular adhesion molecules in a proposed sequence of events leading to *O. volvulus* corneal inflammation (see Discussion).

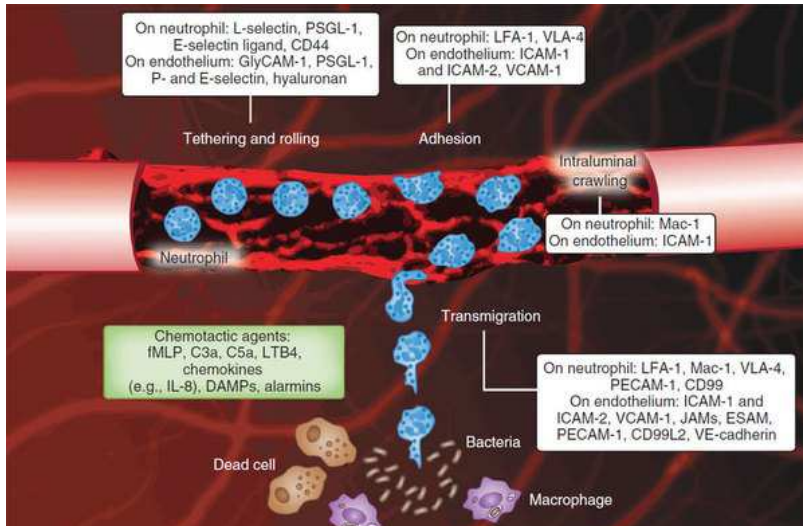
Vliv ketaminu na adhezní molekuly

Ketamin snižuje adhezenci leukocytů (snížená exprese adhezních molekul)

Snižuje adhezenci a migraci lymfocytů (snižuje upregulaci adhezních molekul CD18 a CD62L)



Ovlivnění chemotaxe, chemokinézy a transmigrace

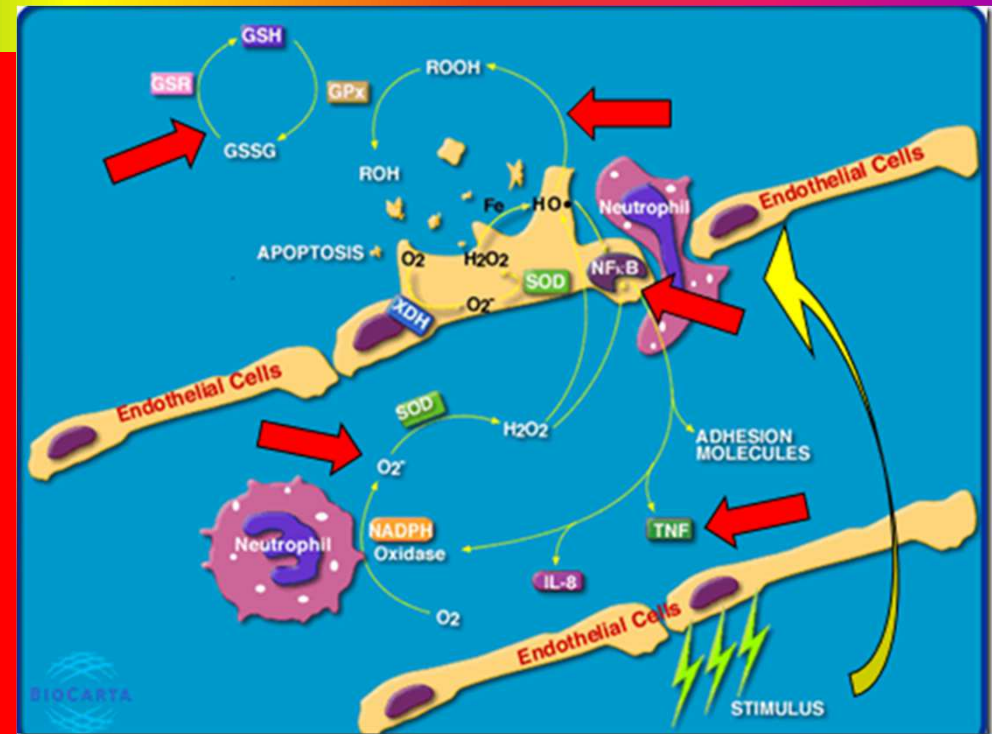


Downregulace chemotaktické aktivity a produkce oxidantů ketaminem

Inhibuje fosforylaci NADPH oxidázy

NADPH oxidáza je regulátor tvorby superoxidového aniontu

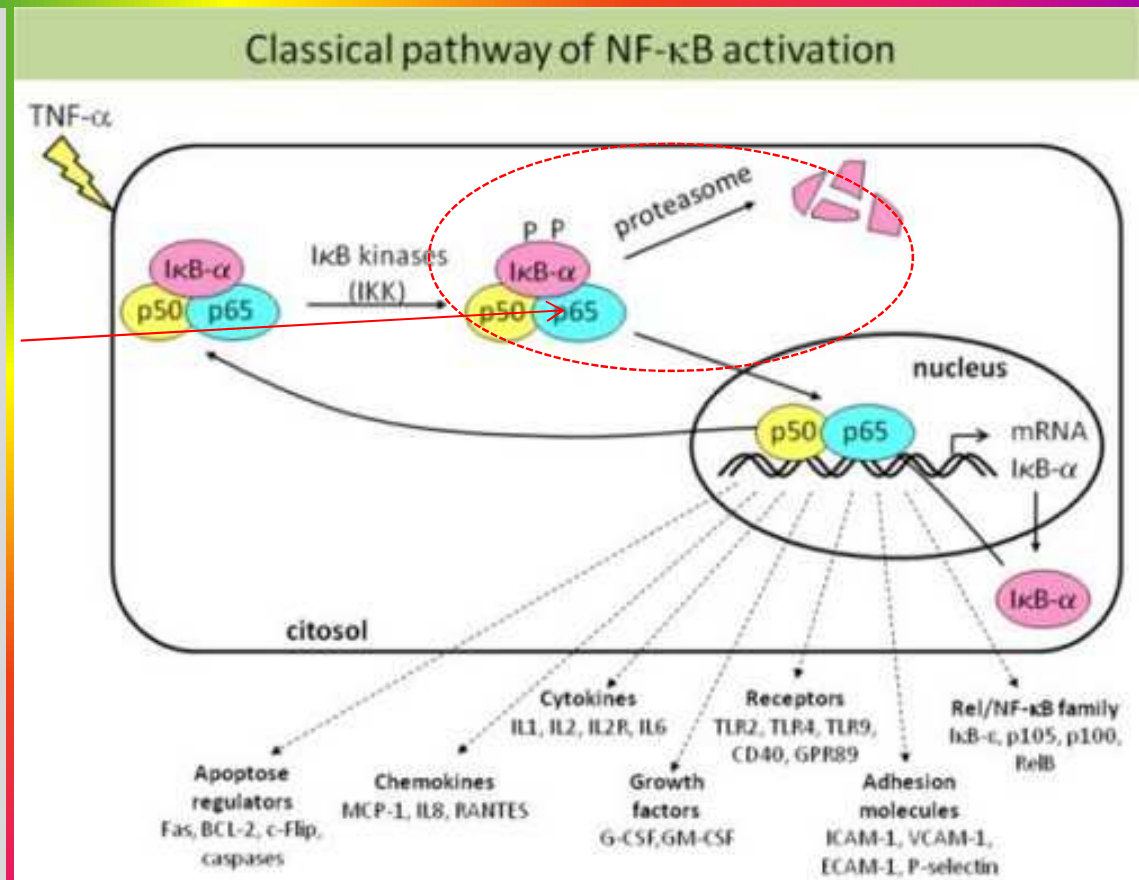
Inhibuje tvorbu superoxidového aniontu



Snížení **koncentrace** chemických látek-chemoatraktantů a tím snížení pohybu do místa zánětu

Inhibice NF- κ B / AP-1 aktivity ketaminem – 1. cytosol

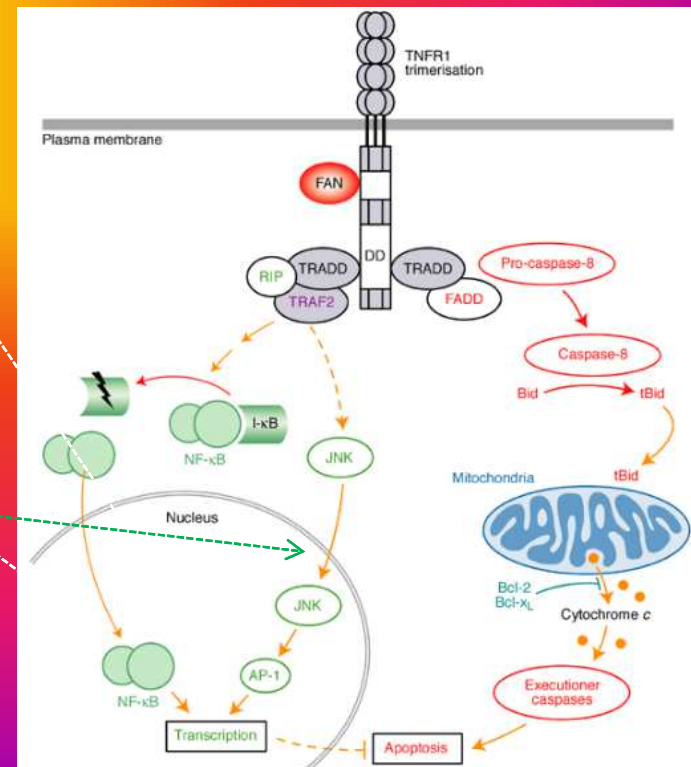
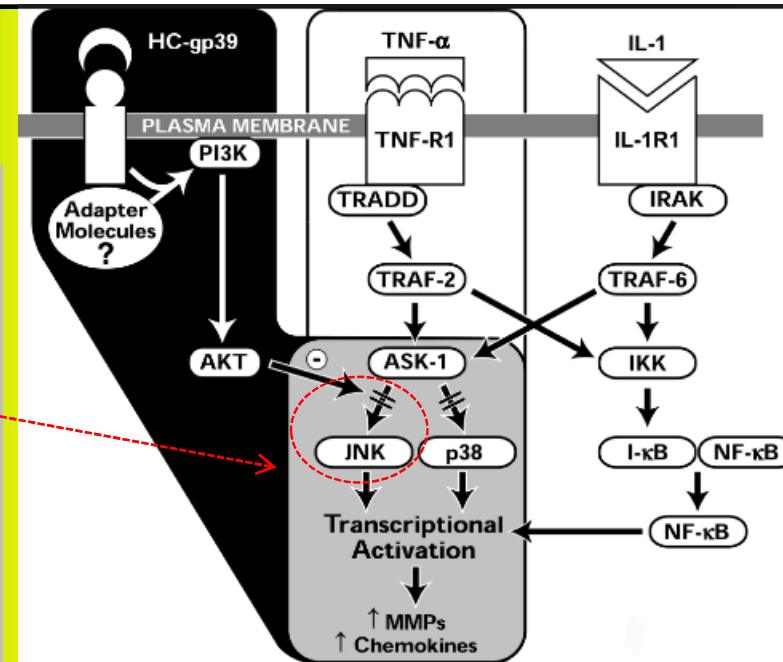
- U G+ a G- septikemie
- Snížením fosforylace inhibován vstup z cytosolu do jádra a následná transkripce
 - Suprese TNF- α , IL-6, IL-8
 - Inhibice iNOS



Inhibice NF- κ B / AP-1 aktivity ketaminem – 2. jádro

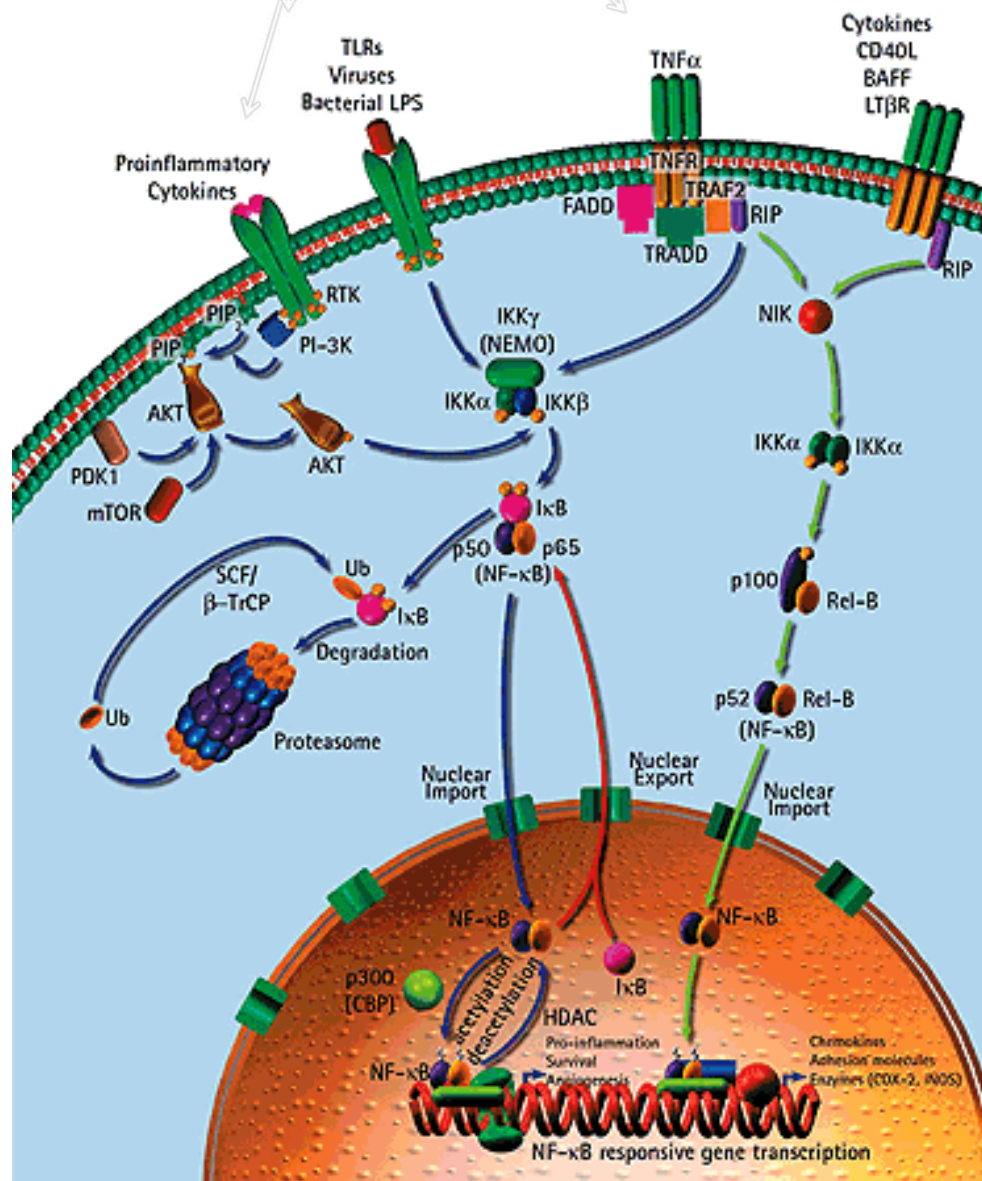
- Ketaminem indukovaná suprese TNF- α , IL-1 β a IL-6 (na úrovni transkripce)
 - Dáno supresí aktivace (NF)- κ B a activator protein (AP)-1 lipopolysacharidy plasmy LPS
 - Snižuje LPS-indukovanou JNK1/2 fosforylaci (c-Jun N-terminal kinase)
 - Inhibuje LPS-zapříčiněné zvýšení nuclear c-Jun a c-Fos

c-Jun a c-Fos tvoří AP-1



Ketamin

Cesty aktivace NF- κ B při sepsi

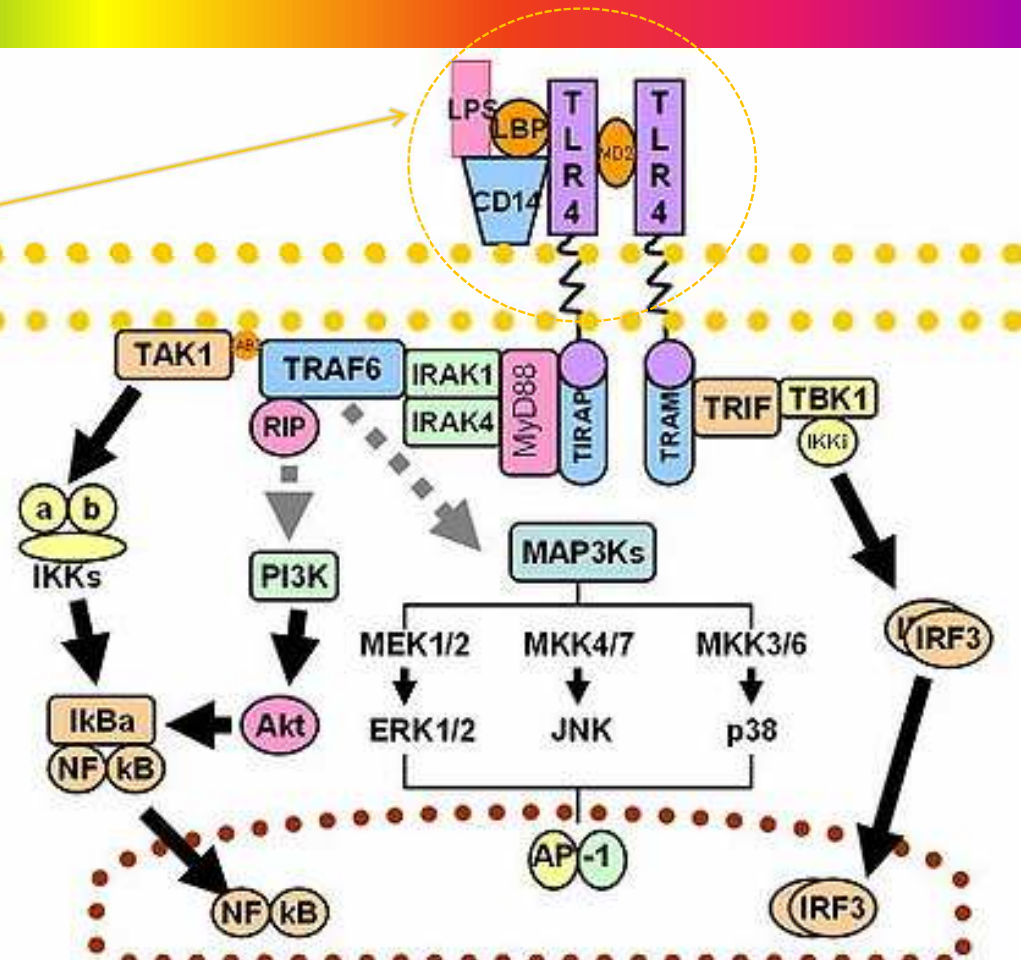


- V sepsi je zvýšena exprese TLR $_4$ monocytů
- Protizánětlivý účinek ketaminu prokázán in vitro (zvířecí a lidské studie)

Sepse

Role prozánětlivých cytokinů a TLR v patogenezi a rozvoje sepse

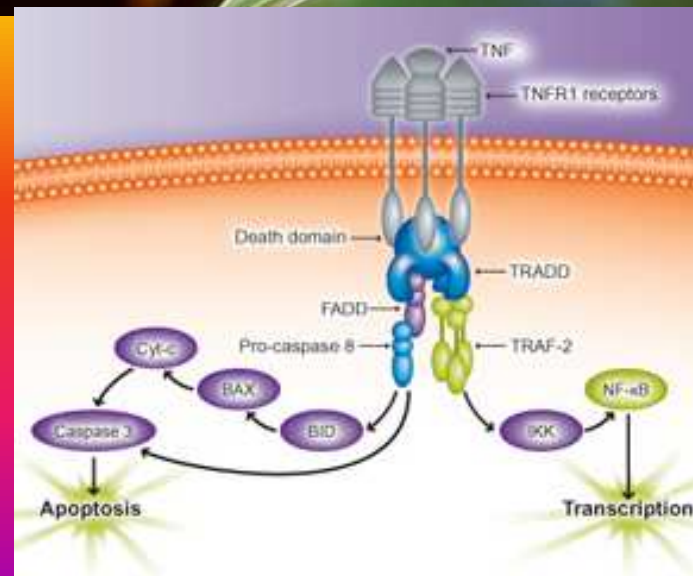
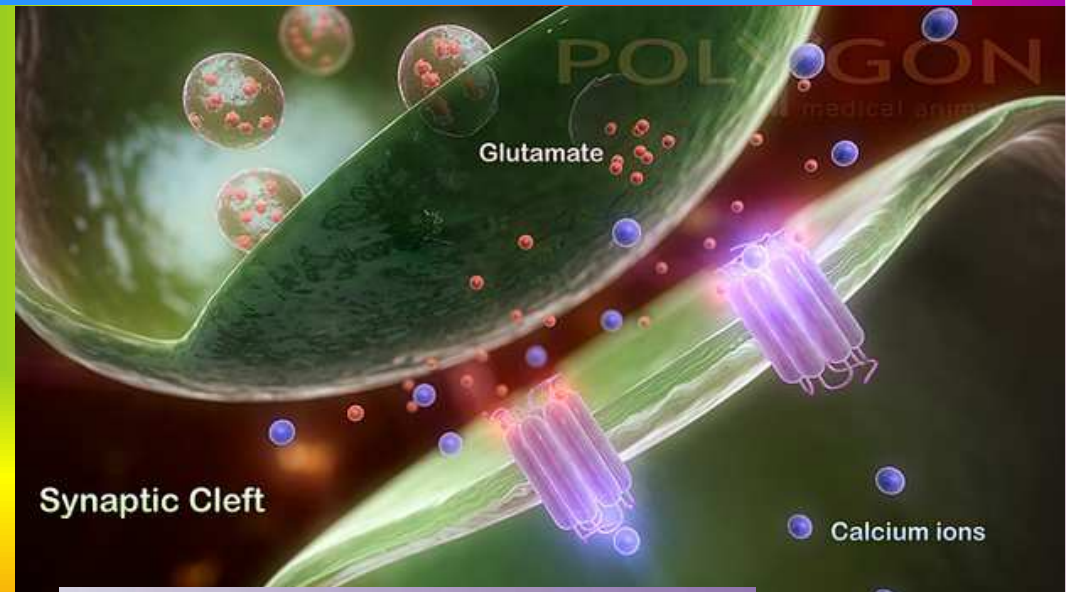
- Rozpoznání endotoxinu pomocí lipopolysacharid-binding protein (LBP) a CD14
 - co-receptor spolu s Toll-like receptor TLR 4 a MD-2 k detekci bakteriálního LPS
- Možnost navázání LPS pouze v přítomnosti LBP



Terapeutické koncentrace ketaminu ovlivňují LPS vazbu na LBP

Ketamin a apoptóza

- Excesivní apoptóza střeva (GI epiteliálních bb), lymfatické tkáně a cirkulujících lymfocytů v sepsi s následnou imunopresí a mortalitou
- Apoptózu vyvolávají:
 - Cytokiny (TNF - α , IL-1 a IL-6, kyslíkové volné radikály, NO
 - Inhibice ketaminem
 - Snížení buněčné smrti (imunitního systému) v sepsi



Ketamin a apoptóza

Mitochondrial stress-mediated injury

TNF- α

Receptor na povrchu buňky

Ketamin inhibuje

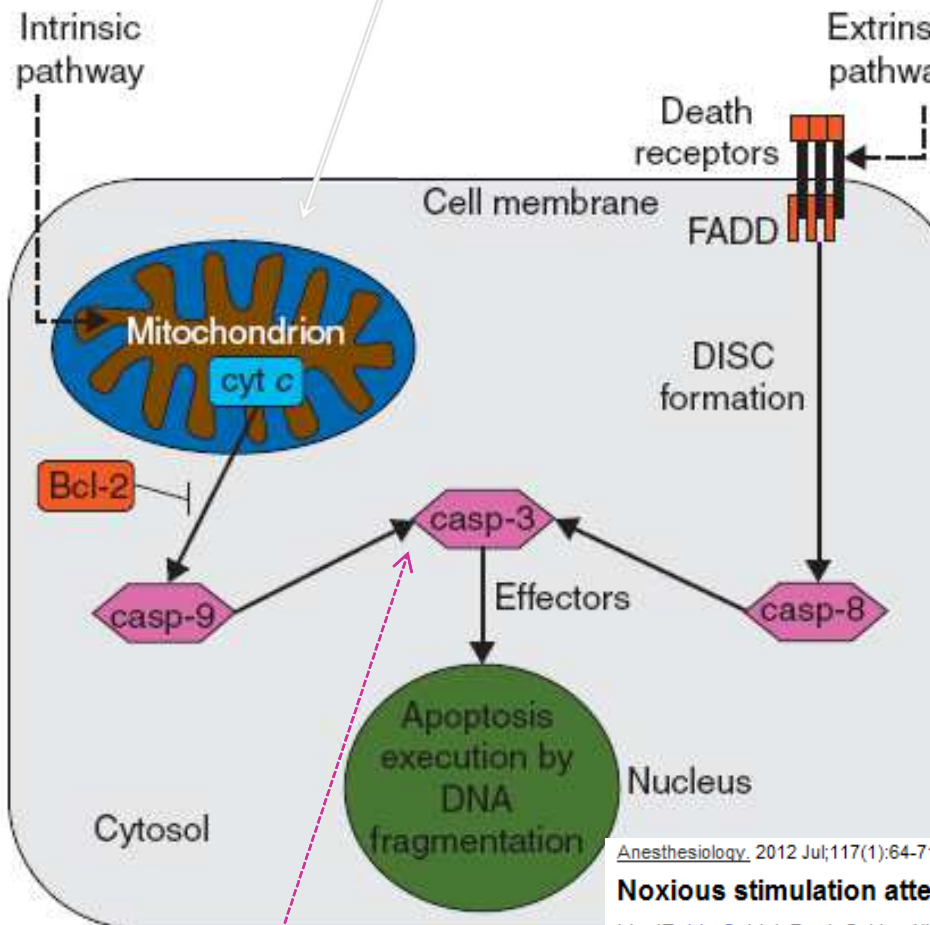


Fig 1 The two major pathways of apoptosis. The intrinsic or mitochondrial pathway of apoptosis (left side) involves mitochondrial dysfunction, release of cytochrome c (cyt c) and the subsequent activation of caspase-9 (casp-9) at the apoptosome. The anti-apoptotic protein Bcl-2 inhibits the release of cytochrome c from the mitochondrion. The extrinsic or death receptor pathway (right side) is initiated by binding of death ligands to the death receptor and subsequent recruitment of the adapter protein FADD and caspase-8 (casp-8) into the death-inducing signalling complex (DISC). Both apoptosis pathways converge at the activation of effector caspase-3 (casp-3), which cleaves several cellular proteins, finally leading to the typical alterations of apoptosis such as DNA fragmentation in the nucleus.

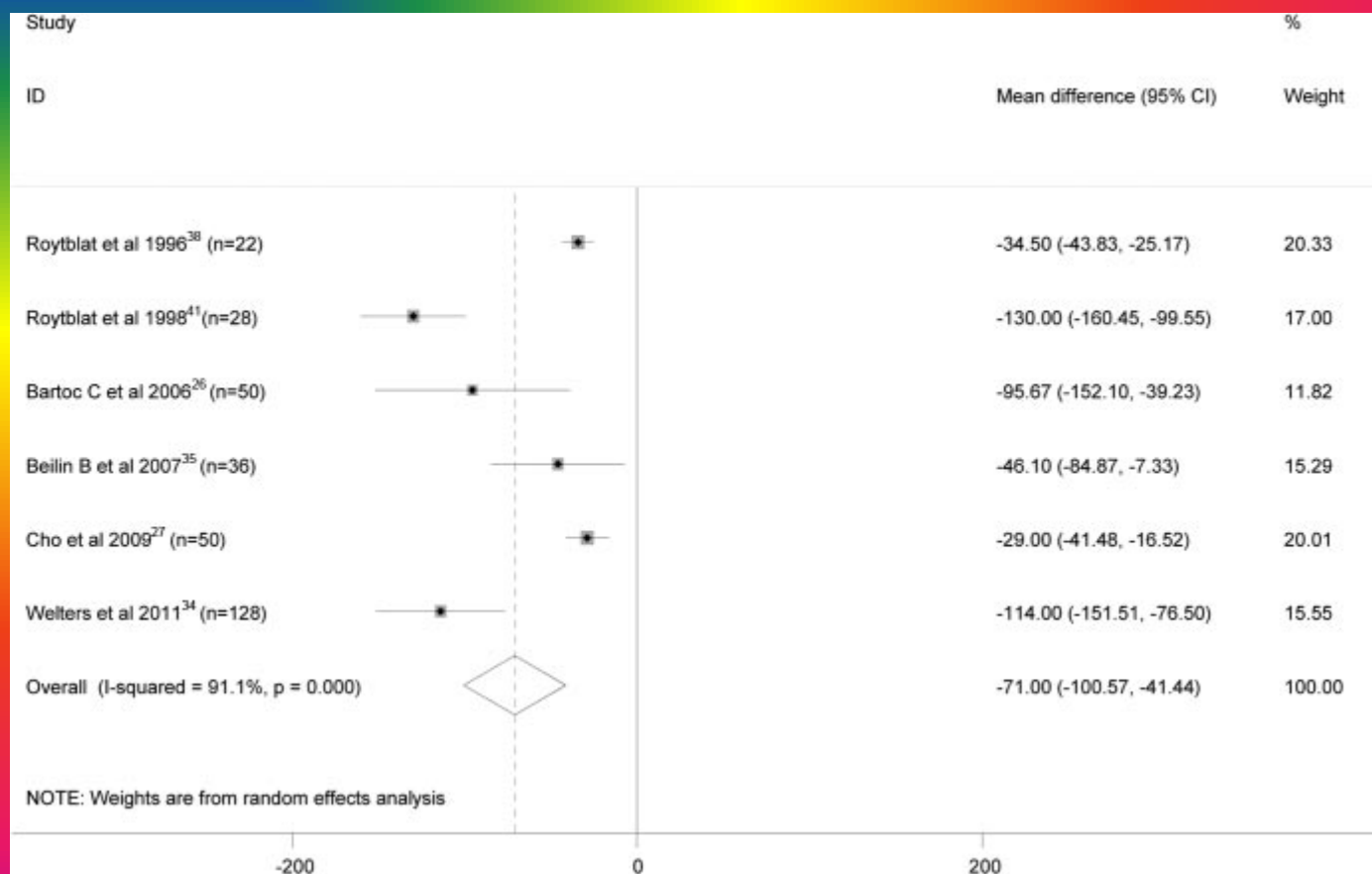
Anesthesiology. 2012 Jul;117(1):64-71. doi: 10.1097/ALN.0b013e31825ae693.

Noxious stimulation attenuates ketamine-induced neuroapoptosis in the developing rat brain.

Liu JR, Liu Q, Li J, Baek C, Han XH, Athiraman U, Soriano SG.

Ketamin aktivuje caspase 3, pokud není bolestivý stimul
Při bolesti je neuroapoptóza oslabená

Vliv ketaminu na hladinu IL-6 po operaci

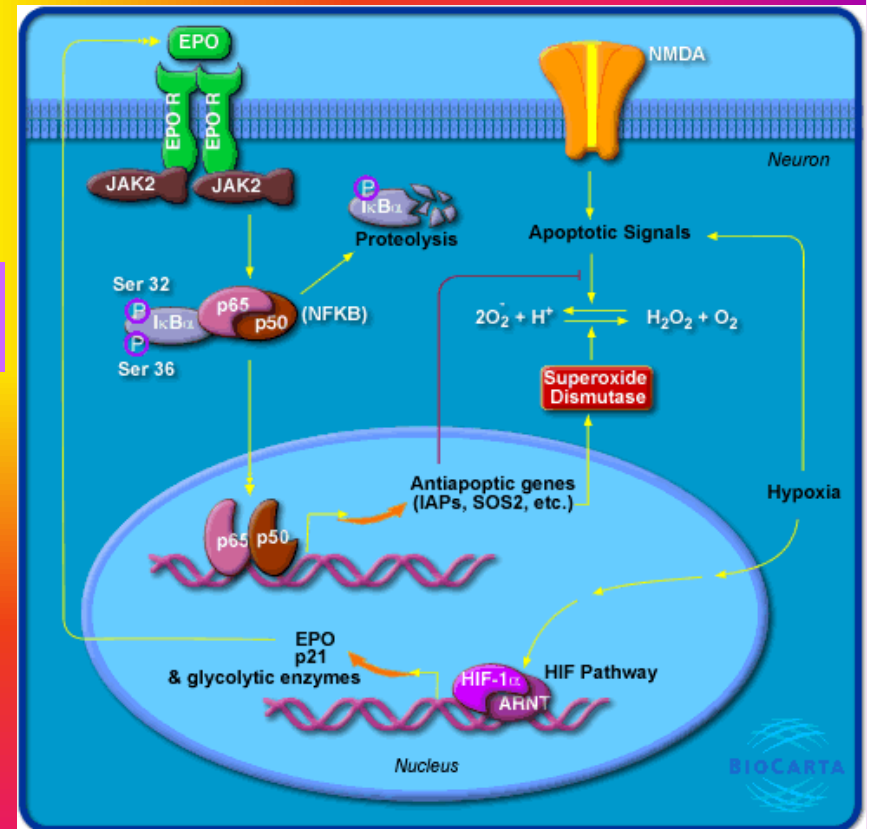


Pooperační efekt na superoxid

- Ketamin inhiboval reaktivitu leukocytů a tlumil produkci superoxidového aniontu neutrofilů
- U pacientů podstupujících AKB

Zilberstein G, et al. Ketamine attenuates neutrophil activation after cardiopulmonary bypass. *Anesth Analg* 2005

- Snížení inducibilního superoxidu u lidských neutrofilů



Lu HW, He GN, Ma H, Wang JK. Ketamine reduces inducible superoxide generation in human neutrophils in vitro by modulating the p38 mitogenactivated protein kinase (MAPK)-mediated pathway. *Clin Exp Immunol*

Roussabrov E, Davies JM, Bessler H, Greemberg L, Roytblat L, Yardeni I, et al. Effect of ketamine on inflammatory and immune responses after short duration surgery in obese patients. *Open Anesthesiol J* 2008.

Table 3. Cytokine and Immune Responses

Response	Group	Preop	4 hrs	24 hrs	48 hrs	72 hrs
IL-1 β (ng ml ⁻¹)	Control	6.5 \pm 0.3	8.2 \pm 0.9	8.8 \pm 0.7	8.4 \pm 0.9	8.4 \pm 0.9
	Ketamine	6.4 \pm 0.5	8.1 \pm 0.8	8.9 \pm 0.7	9.2 \pm 0.8*	8.8 \pm 0.9
IL-6 (ng ml ⁻¹)	Control	57.4 \pm 5.0	126.0 \pm 18.8	136.4 \pm 14.1*	141.2 \pm 17.1*	140.6 \pm 31.6*
	Ketamine	52.7 \pm 7.5	57.9 \pm 8.4#	110.4 \pm 20.0	105.5 \pm 9.5	102.7 \pm 14.3
TNF- α (ng ml ⁻¹)	Control	12.5 \pm 0.8	15.4 \pm 1.3	15.0 \pm 1.7	16.0 \pm 1.7	16.6 \pm 1.2*
	Ketamine	11.4 \pm 1.1	11.8 \pm 1.1	14.9 \pm 1.2	16.5 \pm 1.6	15.9 \pm 2.2
IL-2 (ng ml ⁻¹)	Control	5.0 \pm 0.5	3.6 \pm 0.6	3.2 \pm 0.5†	3.2 \pm 0.5†	4.0 \pm 0.5
	Ketamine	5.5 \pm 0.5	4.6 \pm 0.6	4.5 \pm 0.5	4.3 \pm 0.5	4.8 \pm 0.4
Lymphocyte proliferation (Cpm x 10 ³)	Control	19.2 \pm 1.7	16.4 \pm 2.1	14.3 \pm 1.7†	18.3 \pm 2.1	17.3 \pm 1.7
	Ketamine	19.9 \pm 1.6	17.4 \pm 1.6	17.3 \pm 1.5	18.1 \pm 2.1	18.2 \pm 1.7
NK Cell Cytotoxicity (%)	Control	35.4 \pm 2.7	40.8 \pm 3.1	22.4 \pm 2.4†	25.6 \pm 2.5*	30.5 \pm 2.6
	Ketamine	33.5 \pm 3.4	34.0 \pm 3.5	24.9 \pm 3.4	23.5 \pm 1.9*	26.2 \pm 2.3

IL-1 β = Interleukin-1 β , IL-2 = Interleukin-2, IL-6 = Interleukin-6, TNF- α = Tumor necrosis factor- α , Lymphocyte proliferation = Phytohemagglutinin-induced response (concanavalin A- and pokeweed mitogen-induced responses not shown), NK = Natural killer.

* p<0.05 vs preoperative value.

† p<0.01 vs preoperative value.

p<0.05 between groups.

N=19 in the Control group and N=17 in the Ketamine group.

Values expressed as mean \pm SEM.

Klinický význam

- Nepřímý efekt ketaminu na klinický výsledek
 - Zvýšené hladiny IL-6 a dalších cytokinů spojené s negativním klinickým výsledkem (ischemie myokardu, dysfunkce myokardu, prognosa u ARDS při vysokých hladinách cytokinů)

Cremer J, Martin M, Redl H, Bahrami S, Abraham C, Graeter T, Haverich A, Schlag G, Borst HG. Systemic inflammatory response syndrome after cardiac operations. *Ann Thorac Surg* 1996;61:1714–20

Hill GE, Whitten CW, Landers DF. The influence of cardiopulmonary bypass on cytokines and cell-cell communication. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 1997;11:367–75

Hennein HA, Ebba H, Rodriguez JL, Merrick SH, Keith FM, Bronstein MH, Leung JM, Mangano DT, Greenfield LJ, Rankin JS. Relationship of the proinflammatory cytokines to myocardial ischemia and dysfunction after uncomplicated coronary revascularization. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994;108:626–35

Deng MC, Dasch B, Erren M, Mollhoff T, Scheld HH. Impact of left ventricular dysfunction on cytokines, hemodynamics, and outcome in bypass grafting. *Ann Thorac Surg* 1996;62:184–90

Meduri GU, Headley S, Kohler G, Stentz F, Tolley E, Umberger R, Leeper K. Persistent elevation of inflammatory cytokines predicts a poor outcome in ARDS. Plasma IL-1 beta and IL-6 levels are consistent and efficient predictors of outcome over time. *Chest* 1995;107:1062–73

Rallidis LS, Zolindaki MG, Manioudaki HS, Laoutaris NP, Velissaridou AH, Papasteriadis EG. Prognostic value of C-reactive protein, fibrinogen, interleukin-6, and macrophage colony stimulating factor in severe unstable angina. *Clin Cardiol* 2002;25:505–10

Oka Y, Murata A, Nishijima J, Yasuda T, Hiraoka N, Ohmachi Y, Kitagawa K, Yasuda T, Toda H, Tanaka N. Circulating interleukin 6 as a useful marker for predicting postoperative complications. *Cytokine* 1992;4:298–304

Holmes JH, Connolly NC, Paull DL, Hill ME, Guyton SW, Ziegler SF, Hall RA. Magnitude of the inflammatory response to cardiopulmonary bypass and its relation to adverse clinical outcomes. *Inflamm Res* 2002;51:579–86

Hudetz JA, Gandhi SD, Iqbal Z, Patterson KM, Pagel PS. Elevated postoperative inflammatory biomarkers are associated with short- and medium-term cognitive dysfunction after coronary artery surgery. *J Anesth* 2011;25:1–9

Danesh J, Kaptoge S, Mann AG, Sarwar N, Wood A, Angleman SB, Wensley F, Higgins JP, Lennon L, Eiriksdottir G, Rumley A, Whincup PH, Lowe GD, Gudnason V. Long-term interleukin-6 levels and subsequent risk of coronary heart disease: two new prospective studies and a systematic review. *PLoS Med* 2008;5:e78

Sun T, Wang X, Liu Z, Chen X, Zhang J. Plasma concentrations of pro- and anti-inflammatory cytokines and outcome prediction in elderly hip fracture patients. *Injury* 2011;42:707–13

Pretreatment

- H Abbas, A J Ansari, Z Arshad, A Mahdi, J Bogra. Effect Of Ketamine On Inflammatory Markers And Postoperative Analgesia In Patients Undergoing General Anaesthesia. The Internet Journal of Anesthesiology. 2013 Volume 32 Number 1.
- 0,25 mg/kg před CA, 60 pt.
- Redukce zánětu vyvolaného chirurgickým traumatem (nitrobřišní operace) ketaminem
- Redukce bolestivosti a snížení analgetik
 - V.s. redukce zánětlivé odpovědi na trauma
 - Antagonizace nukleárního faktoru-kappa B
 - Omezení vzestupu IL-6 a CRP, zachování IL-10

Srovnání ketamin versus sevo

- Lepší přežití myši po podání LPS v průběhu laparotomie (ketamin versus sevofluran).
 - Snížení TNF jako faktor přežití
- Nebylo větší přežití po podání E.Coli bez ATB
- Větší přežití, pokud byla infekce kontrolována ATB (ve srovnání se sevo)

[Anesth Analg.](#) 2010 Oct;111(4):1051-8. doi: 10.1213/ANE.0b013e3181ed12fc. Epub 2010 Aug 12.

The effect of ketamine anesthesia on the immune function of mice with postoperative septicemia.

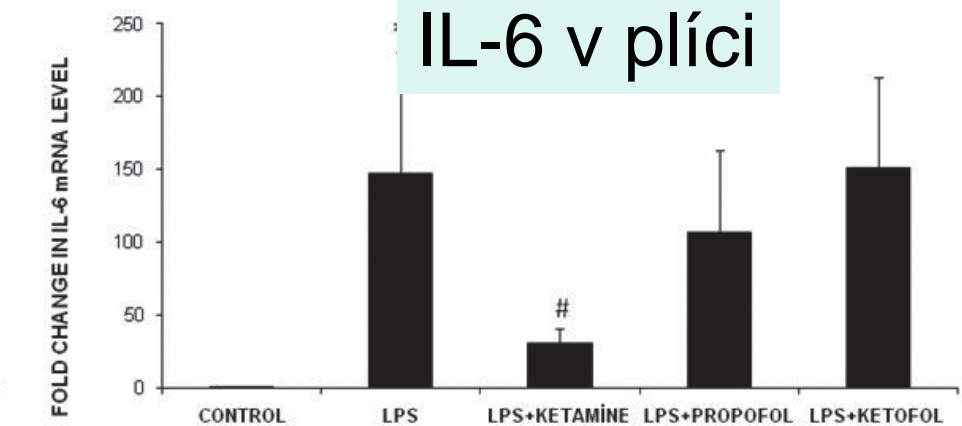
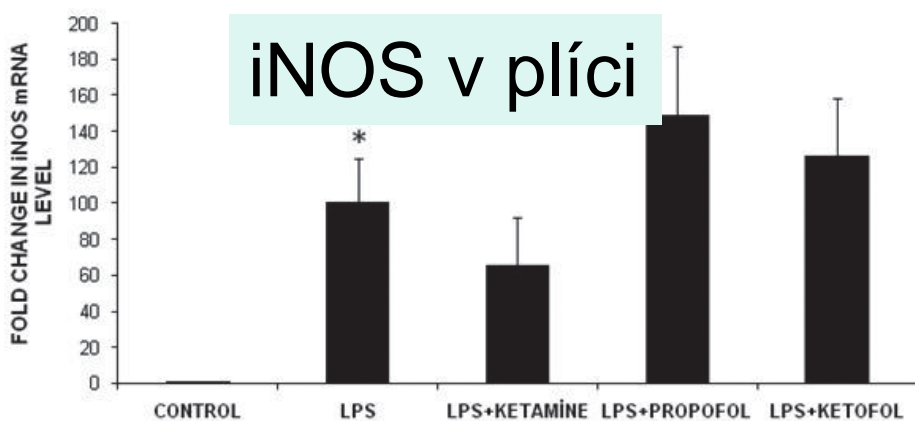
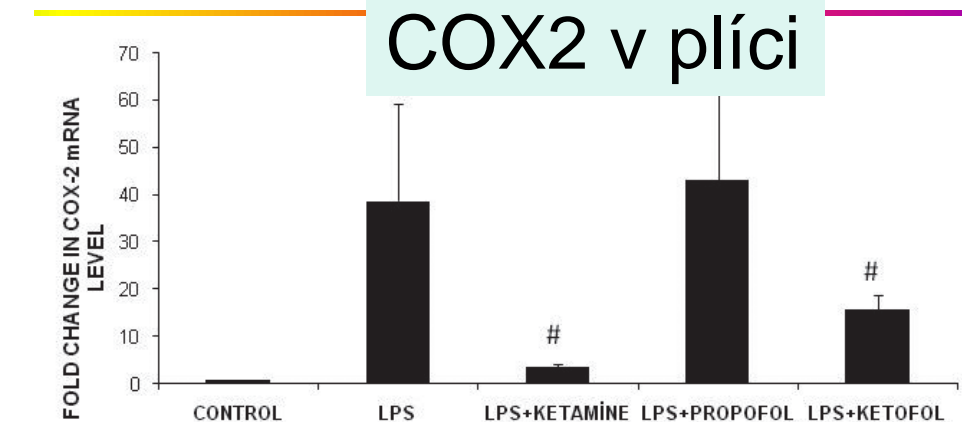
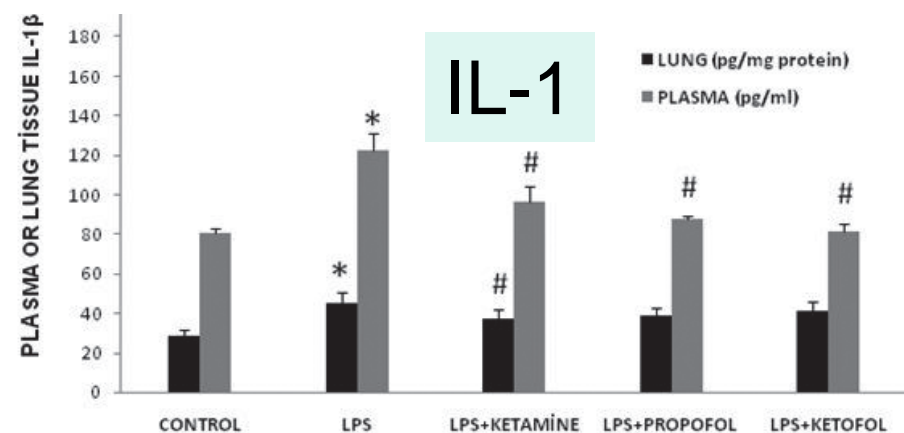
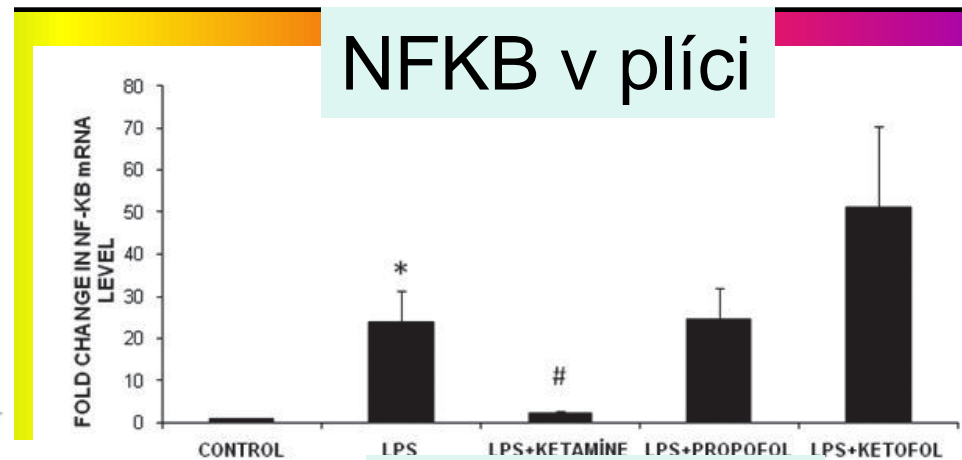
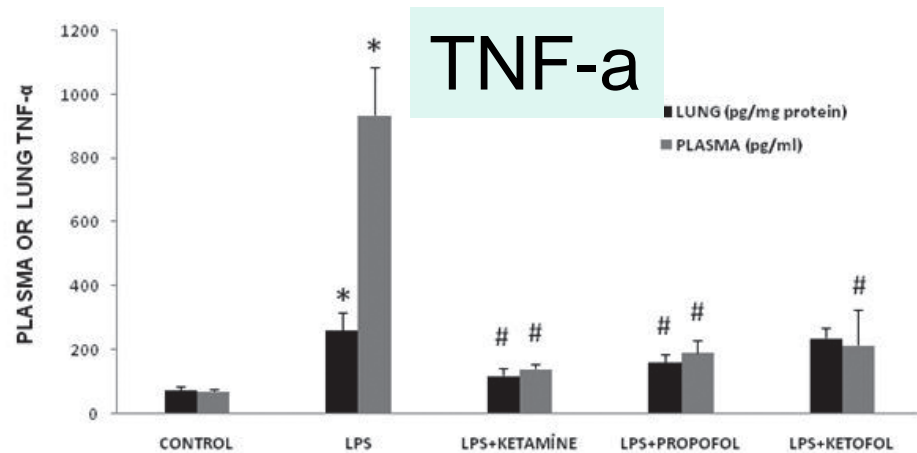
[Takahashi T](#), [Kinoshita M](#), [Shono S](#), [Habu Y](#), [Ogura T](#), [Seki S](#), [Kazama T](#).

Ketamin u sepse krys

- Ketamin zvýšil přežití krys po ligaci střeva a jeho proděravění
- Yu M, et al. Effects of ketamine on levels of cytokines, NF-kB and TLRs in rat intestine during CLP-induced sepsis. *Int Immunopharmacol* 2007.
- Yu M, et al. Effects of ketamine on pulmonary inflammatory responses and survival in rats exposed to polymicrobial sepsis. *J Pharm Pharm Sci* 2007.

Effects of ketamine, propofol, and ketofol on proinflammatory cytokines and markers of oxidative stress in a rat model of endotoxemia-induced acute lung injuryDerya Gokcinar¹, Volkan Ergin², Ahmet Cumaoglu³, Adnan Menevse² and Aysel Aricioglu⁴¹Ankara Numune Training and Research Hospital, Department of Anesthesiology, Ankara, Turkey; ²Gazi University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology and Genetic, Ankara, Turkey; ³Erciyes University, Faculty of Pharmacy, Department of Biochemistry, Kayseri, Turkey; ⁴Gazi University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, Ankara, Turkey

- LPS u krysy
- Ketamin efektivní v protekci ALI
 - Ketamin snižuje hodnoty TNF- α , IL-1 β , IL-6, NF- κ B, COX-2 mRNA indukované LPS v plicní tkáni
 - TNF- α a IL-1 β v plasmě
 - Lipidovou peroxidaci a poměr nitráty/nitrity v plicích
- Propofol bez efektu na IL-1 β v plíci



MRSA sepse

Ketamine inhibits tumor necrosis factor secretion by RAW264.7 murine macrophages stimulated with antibiotic-exposed strains of community-associated, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

Thomas Spentzas^{1,2,3*}, Rebekah KH Shapley^{1,2,3}, Carlos Acuna Aguirre^{1,2,3}, Elizabeth Meals^{1,2}, Lauren Lazar^{1,2}, Mark S Rayburn^{1,4}, Brett S Walker^{1,2}, B Keith English^{1,2,5}

- CA-MRSA po zahájení léčby vanco vede k bakteriální lýze a zánětlivé reakci hostitele na základě aktivace cytokinové kaskády
 - (u G+ sepse a podání ATB - betalaktamů, vanko)
- Podání ketaminu vede
 - Redukce makrofágového TNF a o 18-34%
 - Pokles akumulace iNOS
 - Efekt stejný a nezávislý na dávce a délce podávání
 - Detekovatelný při minimální dávce ketaminu

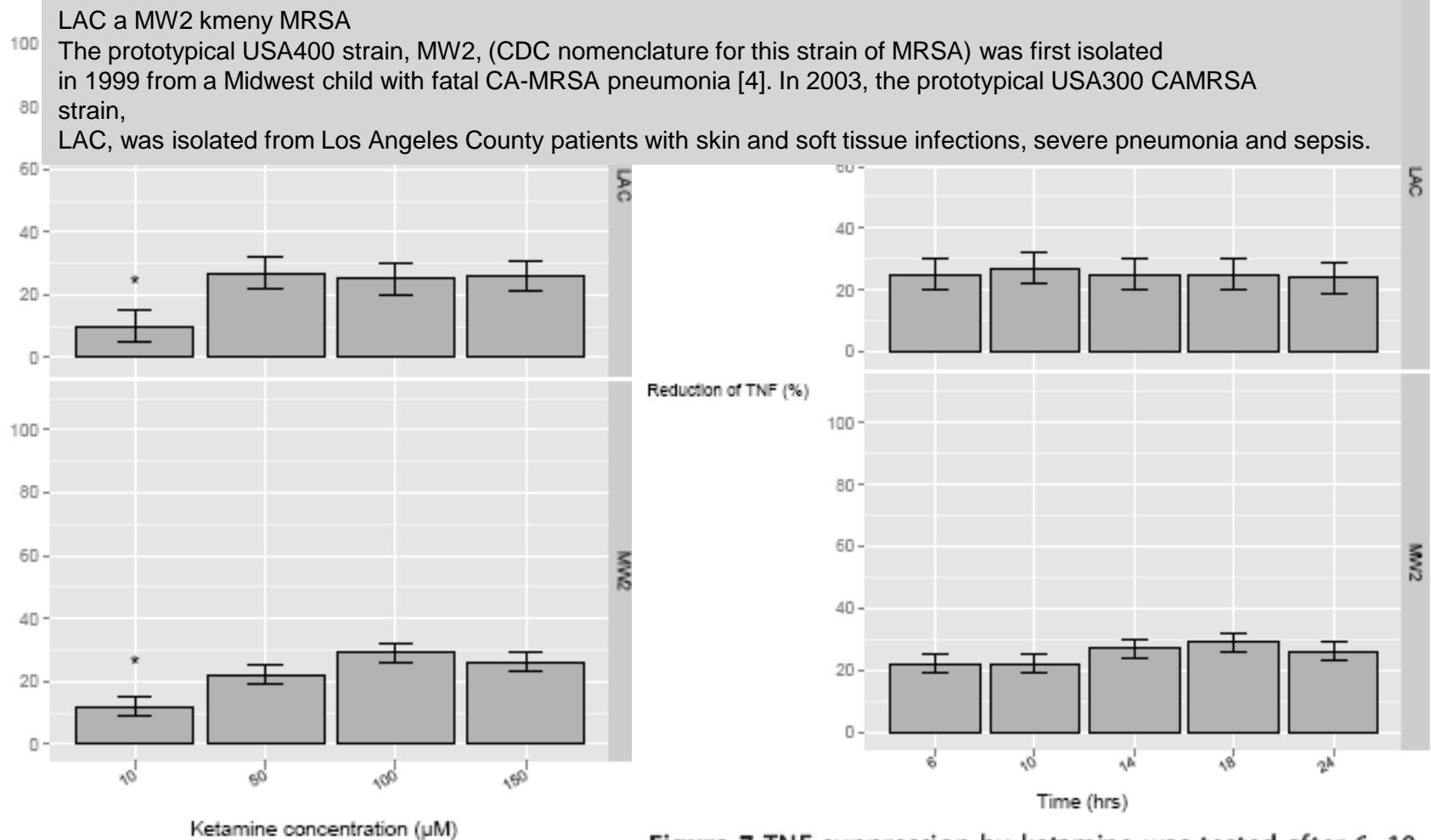


Figure 6 TNF suppression by ketamine was tested at concentrations of 10 µM, 50 µM, 100 µM and 150 µM in the presence of vancomycin at 20 µg/mL and RAW264 macrophage stimulation with either LAC (upper panel) or MW2 (lower panel) CA-MRSA strains. Bacteria were added at a final concentration of 10⁵ to 10⁷ CFU/mL (retrospective confirmation) in the presence of vancomycin at 20 µg/mL. The inoculation time was 18 hours. Results are depicted as percentile reduction with 95% confidence intervals shown, i.e., the percent of TNF reduction that occurs after the specific concentration of ketamine was added.

Figure 7 TNF suppression by ketamine was tested after 6, 10, 14, 18 and 24 hours exposure in the presence of vancomycin at 20 µg/mL and RAW264 macrophage stimulation with either LAC (upper panel) or MW2 (lower panel) CA-MRSA strains. Bacteria were added at a final concentration of 10⁵ to 10⁷ CFU/mL (retrospective confirmation) in the presence of vancomycin at 20 µg/mL. The ketamine concentration was 100 µM. Results are depicted as percentile reduction with 95% confidence intervals, i.e., the percent of TNF reduction at the specific exposure time that occurs in comparison to inoculation without ketamine at the same time. The *** indicates statistically significant difference at $p < 0.05$.

Přímý antibakteriální efekt ketaminu

- Bakterie: Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Enterococcus faecalis, Streptococcus pyogenes, Pseudomonas aeruginosa a Escherichia coli
 - Disková difúzní metoda, kontrolní disk s ciprofloxacinem, stanovení minimální inhibiční MIC a minimální baktericidní koncentrace MBC ketaminu

Gocmen S, Buyukkocak U, Caglayan O. In vitro investigation of the antibacterial effect of ketamine. Ups J Med Sci. 2008.

- 62,5 microg ketaminu bez efektu
- Ketamin 125 microg aktivita na všechny mimo E.Coli
- 250 microg a 500 microg srovnatelný s CIP
- MIC a MBC ketaminu - S. aureus, S. pyogenes (500 microg mL⁻¹)
- MIC a MBC - P. aeruginosa (2000 microg mL⁻¹)
- Pro ostatní v tomto rozmezí

Klinická otázka

Podání u tumorů

- NK cytotoxická aktivita signifikantně snížena ketaminem
 - Signifikantní zvýšení metastáz plicního tumoru u krys

Melamed R, Bar-Yosef S, Shakhar G, Shakhar K, Ben-Eliyahu S. Suppression of natural killer cell activity and promotion of tumor metastasis by ketamine, thiopental, and halothane, but not by propofol: mediating mechanisms and prophylactic measures. *Anesth Analg* 2003.

Závěr

- Ketamin má imunomodulační efekt u lidí, u zvířat snižuje morbiditu a mortalitu
- Pokud je podán při úvodu do CA snižuje zánětlivou odpověď na chirurgický výkon a s ní spojenou morbiditu
- Výhodný efekt na hemodynamiku, analgezii, sedaci, snížení dávky opioidů a ventilaci
- Je bezpečný k sedaci pacientů s TBI, snižuje ICP u ventilovaných

Děkuji za pozornost

KETAMINE



KETAMINE FOR EVERYTHING