

نیمرخ الکتروفوریک آلومین، آلفا 1، آلفا 2، بتا و گاما گلوبولین در سرم افراد وابسته و غیر وابسته به ترکیبات اپیوئیدی

کورس دیوسالار¹، رامین سراوانی²، دکتر منظومه شمسی میمندی³، دکتر مرتضی طائی⁴، آذر شیخ الاسلامی⁵

1- کارشناس ارشد، پژوهشگر مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان

2- مربی، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان

3- مربی گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان

4- پژوهشگر مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان

5- کارشناس بهداشت محیط دانشگاه علوم پزشکی کرمان

یافته / دوره نهم / شماره 4 / زمستان 86 / مسلسل 34

چکیده

دریافت مقاله: 86/9/18، پذیرش مقاله: 86/10/3

مقدمه: مصرف ترکیبات اپیوئیدی در ایران از شیوع بالایی برخوردار است. آخرین رویکرد های پژوهشی در مورد سوء مصرف مواد نیز متوجه نقش مهم پروتئینها در شناخت و درمانهای نوین این پدیده است. نظر به تاثیر استفاده طولانی مدت از ترکیبات اپیوئیدی بر عملکرد کبد و ترکیب پروتئین های سرم انسان، این مطالعه با هدف بررسی طرح الکتروفوریک پروتئینهای پلاسما در افراد وابسته به ترکیبات اپیوئیدی (تریاک و هروئین) طراحی و اجراء گردید.

مواد و روش ها: جمعیت مورد بررسی در این مطالعه مورد-شاهدی، شامل تعداد 42 نفر وابسته به تریاک، 35 نفر وابسته به هروئین و 35 داوطلب غیر وابسته به ترکیبات اپیوئیدی بودند که از نظر سن و جنس تطابق داشتند. مصرف ترکیبات اپیوئیدی در گروه های مورد، توسط تستهای تشخیص آزمایشگاهی ترکیبات اپیوئیدی در نمونه ادرار با استفاده از تست ایمونوکروماتوگرافی سریع و سپس تستهای تکمیلی کروماتوگرافی ستونی جامد- مایع و کروماتوگرافی نازک لایه تأیید گردید. پس از خونگیری و تهیه سرم، الکتروفورز ناحیه ای انجام شد. داده ها با نرم افزار SPSS 11.5 آنالیز و به صورت $Mean \pm SEM$ ارائه گردید.

یافته ها: مقایسه میانگین مقدار آلومین، $\alpha 1$ - گلوبولین، $\alpha 2$ - گلوبولین و بتا گلوبولین در بین سه گروه، تفاوت معنی داری را نشان نداد. اما مقدار گاما گلوبولین در گروه وابسته به تریاک ($17/38 \pm 3/61$) و گروه وابسته به هروئین ($17/48 \pm 4/4$) بطور معنی داری ($p < 0/01$) بیش از گروه کنترل ($13/3 \pm 1/8$ گرم در لیتر) بود. مقایسه مقادیر مذکور بین دو گروه وابسته به تریاک و وابسته به هروئین تفاوت معنی داری نشان نداد.

بحث و نتیجه گیری: افزایش غلظت گاما گلوبولین ها میتواند در نتیجه تحریک سیستم ایمنی پس از اتصال ترکیبات اپیوئیدی و ناخالصیهای همراه با آنها به آلومین یا به علت تحریک محور هیپوفیز-هیپوتالاموس باشد. هرچند که مصرف مداوم اپیوئیدها نیز توأم با سیستم ایمنی سلولی و هومورال تاثیر گذار است، معیناً افزایش معنی دار باند گاما میتواند ناشی از مصرف ترکیبات اپیوئیدی توأم با رفتارهای پر خطر، ابتلا به بیماریهای عفونی و ناخالصی مواد افیونی باشد.

کلید واژه ها: الکتروفورز، پروتئینهای سرمی، اعتیاد، تریاک، هروئین

آدرس مکاتبه: کرمان، مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان

پست الکترونیک: k_divsalar@kmu.ac.ir

مقدمه

ایران اولین مصرف کننده تریاک و بطور کلی اپیوئیدها در جهان است (1). معضل سوء مصرف مواد مخدر یکی از چهار بحران جهانی و عمده ترین بحران اجتماعی کشور میباشد که با سایر جنبه های اقتصادی، فرهنگی و... کشور ارتباط تنگاتنگی دارد (2). بررسی اثرات سوء مصرف مواد بر محور - ایمنی - مغز (Brain-Immune-Axis) و ارتباط آن با سیستم ایمنی بدن گستره پژوهشی نوینی را برای متخصصین بیوشیمی بالینی ایجاد کرده است (3). روشهای درمانی ایمونولوژیک با طراحی آنتی ژن و مهندسی آنتی بادی، نویدبخش درمان هائی نوین در حل معضل انواع اعتیاد در آینده می باشند (4). با این تفاسیر شناخت دقیقتر پروتئینهای ی سرم افراد وابسته به ترکیبات اپیوئیدی میتواند زمینه ساز پژوهشهای آتی، در رابطه با طراحی آنتی ژن، مهندسی آنتی بادی و درمانهای ایمونولوژیک اختصاصی برای انواع مواد اعتیاد آور باشد.

به غیر از هورمون های موجود در سرم که توسط غدد درون ریز سنتز میشود و آنتی بادی هایی که توسط پلاسما سل ها تولید میگردند، قسمت عمده پروتئینهای سرم توسط کبد سنتز میگردند. آلبومین؛ فراوان ترین پروتئین موجود در سرم است که دو سوم کل پروتئینهای سرم را تشکیل می دهد. این پروتئین نقش تعیین کننده ای در حفظ فشار انکوتیک داخل عروقی دارد، به علاوه حمل و انتقال بسیاری از مواد چربی دوست و توزیع آنان در بدن به عهده این پروتئین است. از گروه گلوبولین ها، $\alpha 1$ و $\alpha 2$ گلوبولین بزرگترین پروتئینهای غیر ایمونوگلوبولینی پلاسما هستند. $\alpha 2$ گلوبولین دارای منطقه ای به نام هاپتو گلوبولین است که در جذب هموگلوبین آزاد سرم نقش داشته و مانع دفع هموگلوبین و دیگر ذخایر آهن از طریق ادرار می شود. از خانواده آلفا گلوبولین ها می توان به آلفا یک آنتی تریپسین و یا سرولو پلاسمین اشاره کرد که عهده دار ذخیره مس بوده و فعالیت آنتی اکسیدانی نیز دارند. ترانسفرین و یا هموپکسین از گلوبولین های منطقه بتا میباشد

که در حمل پلاسمائی آهن نقش دارند. دیگر گلوبولین مهم منطقه بتا؛ بتا دو میکروگلوبولین بوده که برای ارزیابی اختلالات کلیوی اندازه گیری میگردد. گلوبولینهای منطقه گاما که شامل انواع آنتی بادی های سیستم هومورال می باشند و در انواع بیماریهای عفونی و ایمونولوژیک افزایش می یابند؛ توسط پلاسما سل ها (و نه کبد) سنتز میشوند (5).

پروتئین های سرم با روش های مختلفی جدا سازی، تفکیک و اندازه گیری میشوند که از جمله میتوان به روشهای الکتروفورز، رسوب سازی و جداسازی های ستونی اشاره کرد. این پروتئینها به آسانی روی ژل های رنگ شده الکتروفورز با روش های مرسوم آزمایشگاهی آشکار میگردند. با مشاهده مستقیم نوار الکتروفورز می توان الگوها و باند های غیر طبیعی و حتی اندازه گیریهای کمی هیپوپروتئینمی و هیپر پروتئینمی را تشخیص داد. بسیاری از آسیب های کبدی که منجر به اختلال در سنتز پروتئین میشوند دارای باندهای غیر معمول (*anomalial*) و قابل تشخیص توسط الکتروفورز هستند. این اختلالات گاهاً دارای علائم بالینی نیز میباشند (6).

بسیاری از مواد از جمله داروها توسط کبد متابولیزه و دفع میگردند. استفاده مداوم و دوز سمی ترکیبات بر فعالیت فیزیولوژیک کبدی اثر گذاشته و می تواند نقشه نرمال الکتروفور تیک پروتئین ها را تغییر دهد. اپیوئید ها پس از متابولیسم در کبد و اتصال به اسید گلوکورونیک از طریق صفرا و ادرار دفع میگردند. استفاده طولانی مدت از آنها نیز عملکرد کبد را تحت تاثیر قرار میدهد (7). قریب یک سوم این داروها توسط پروتئین های پلاسمایی حمل و توزیع میگردند. بنابراین اپیوئیدها هم به علت آسیب کبدی و هم بواسطه تاثیر بر سیستمهای انتقال پروتئینی، احتمالاً نسبت و مقدار پروتئین های پلاسمایی را تغییر داده و میتوانند بر نقشه الکترو فورتیک پروتئین های سرم تاثیر بگذارند (8). تحقیقات زیادی در خصوص آسیبهای کبدی ناشی از سوء مصرف مواد اپیوئیدی انجام شده است. در این مطالعه تاثیر مصرف مزمن مواد مخدر

بر پروتئین های سرمی با استفاده از نیمرخ الکتروفور تیک پروتئین های پلاسمایی افراد وابسته به تریاک و هروئین مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روشها

در این مطالعه مورد-شاهدی جمعیت مورد مطالعه شامل معتادینی بود که به صورت داوطلب جهت ترک اعتیاد به یک مرکز درمانی مراجعه کرده بودند. این افراد مطابق معیارهای DSMIV وابسته (Dependent) به مصرف تریاک و هروئین بودند که وارد مطالعه شدند. افرادی که تماماً مصرف کننده چند ماده مخدر بودند حذف گردیدند. بدین معنا که از میان افراد وابسته تنها کسانی وارد مطالعه شدند که در گروه وابسته به تریاک، فقط از تریاک و در گروه وابسته به هروئین، فقط از هروئین استفاده میکردند. از آنجائی که گروههای وابسته به تریاک و هروئین بایستی در فاز اعتیاد قرار داشته باشند (و نه در حین ترک و یا حتی شروع ترک withdrawal)، لذا جهت حصول اطمینان، از این افراد قبل از ورود به مطالعه، نمونه ادرار جهت تست تشخیص ترکیبات اپیوئیدی اخذ گردید. بدون در نظر گرفتن جنس و سن تعداد 42 نفر مصرف کننده تریاک و 35 نفر مصرف کننده هروئین وارد مطالعه شدند. تعداد 35 نفر داوطلب غیر معتاد که از نظر سن و جنس با این جمعیت تطابق داشت به عنوان کنترل انتخاب گردیدند. به منظور حصول اطمینان بیشتر از عدم مصرف مواد اپیوئیدی توسط گروه کنترل، آزمایش های تجسس ترکیبات اپیوئیدی در نمونه ادرار افراد مذکور نیز به عمل آمد. با رعایت بی نام و نشان بودن، از کلیه افراد مورد آزمون، رضایت آگاهانه قبل از گرفتن نمونه ادرار و خون اخذ گردید. اطلاعات دموگرافیک ساده در خصوص سن، جنس، نوع ماده مصرفی، آخرین تاریخ استعمال و مدت اعتیاد جمع آوری و به هر فرد و نمونه دریافتی از وی یک کد اختصاص داده شد. کلیه آزمایشها قبل از هرگونه اقدام در جهت ترک به صورت دو سویه کور انجام گردید. ضمناً این پروژه در کمیته اخلاق در پژوهش

دانشگاه علوم پزشکی کرمان تحت کد اخلاقی 86/44/کا به تصویب رسید و تحت نظارت کمیته مذکور انجام گرفت. برای انجام کلیه آزمونها در خصوص افراد مورد و شاهد، رضایت آگاهانه قبل از نمونه گیری اخذ گردید.

آنالیز ترکیبات اپیوئیدی

در وهله اول یک آزمون غربالگری بر روی نمونه ها (تست ایمونوکروماتوگرافی سریع) انجام شد. پس از آن آزمایش کروماتوگرافی ستونی جامد- مایع و سپس کروماتوگرافی لایه نازک (سم فن آور، تهران، ایران) بر روی موارد مثبت حاصل از آزمون غربالگری، جهت تأیید مصرف تریاک یا هروئین انجام گرفت.

جهت تعیین میزان پروتئینهای سرم مقدار 5 میلی لیتر خون وریدی از همه شرکت کنندگان در مطالعه گرفته شد. برای جدا کردن سرم، نمونه ها به مدت 30 دقیقه سانتریفیوژ گردیدند. سرمها در دمای زیر 20 درجه سانتیگراد فریز و تا روز آزمایش نگهداری گردیدند. الکتروفورز ناحیه ای با استفاده از دستگاه الکتروفورز (شرکت هلنا، فرانسه) به شرح زیر انجام گردید: نمونه های سرم روی ژل لکه گذاری گردید و سپس با وصل جریان برق، پروتئینها بر اساس وزن مولکولی از قطب کاتد به آنود در مدت زمان معین حرکت کرده و باندهای مختلفی ایجاد نمودند. پس از رنگ آمیزی با دانسیتومتر نمودار و غلظت هر بخش باند تعیین گردید. بدین ترتیب نیمرخ الکتروفور تیک پروتئینهای سرم (آلفا یک، آلفا دو، بتا و گاما گلوبولین) در سرم گروههای مورد و شاهد تعیین گردید. نمونه ها برای آزمایش کنندگان کاملاً نامعلوم (Blind) و بدون نام و نشان و تنها دارای شماره کد بودند.

داده ها به صورت $(Mean \pm SEM)$ بیان شد. برای مقایسه گروهها با هم، از نرم افزار SPSS 11,5 و آزمون های پارامتریک t-test و Anova استفاده شد. $p < 0/01$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی داری مشاهده نگردید. بین دو گروه وابسته به تریاک و هروئین نیز اختلاف معنی داری وجود نداشت. میزان β -گلوبولین در گروه کنترل $9/4 \pm 3/06$ و در دو گروه وابسته به تریاک و هروئین به ترتیب $9/38 \pm 2/72$ و $9/5 \pm 2/36$ گرم در لیتر بود که نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی داری مشاهده نشد. بین دو گروه وابسته به تریاک و هروئین نیز اختلاف معنی داری وجود نداشت. میزان گاماگلوبولین در گروه کنترل $13/3 \pm 1/8$ و در دو گروه وابسته به تریاک و هروئین نیز به ترتیب $17/38 \pm 3/61$ و $17/48 \pm 4/4$ گرم در لیتر بود که در قیاس با گروه کنترل بطور معنی داری افزایش نشان داد. اما مقایسه گاماگلوبولین بین دو گروه مورد (وابسته به تریاک، وابسته به هروئین) تفاوت معنی داری نشان نداد (جدول شماره 1).

جدول شماره 1- میانگین غلظت پروتئینهای حاصل از الکتروفورز تونال پروتئین در افراد وابسته و غیر وابسته به ترکیبات اپیوئیدی بر حسب

گرم در لیتر

گروه	آلبومین	آلفا-1- گلوبولین	آلفا-2- گلوبولین	بتا گلوبولین	گاما گلوبولین
شاهد (n=35)	39/76±18/75	2/6±0/73	8/6±2/79	9/4±3/06	13/3±1/8
وابسته به تریاک (n=35)	38/68±17/94	2/8±0/51	8/8±3/3	9/38±2/72	*17/38±3/61
وابسته به هروئین (n=42)	40/22±15/71	2/7±0/19	8/7±1/55	9/5±2/36	*17/48±4/4

* در مقایسه با گروه کنترل ($P < 0/01$)

بحث و نتیجه گیری

می گردد (10). گومز و همکاران با استفاده از تکنیک کشت سلولی مشاهده کردند که کشت سلولهای کبدی انسانی در مجاورت 0/8 تا 1 میلی لیتر مرفین، و 3 و 6 دی استیل مرفین (هروئین خالص) تولید گلیکوژن و آلبومین را تا 50 درصد کاهش می دهد (11). از این رو بنظر می رسد که متابولیسم کبدی مرفین با صدمه به سلولهای کبدی موجب تغییر مقدار آلبومین و نیز اختلال کبدی بشود. بر خلاف این یافته، آزمایش های تشخیصی عملکرد کبد که در سالهای بعد بر سرم معتادان به هروئین انجام شد نشان داد که مقدار آمینو ترانسفرازهای سرم، پروتئینهای تام و آلبومین تفاوت معنی داری با گروه کنترل ندارد. فقط ترشحات صفراوی افزایش می

مرفین همان آلکالوئید اصلی تریاک مانند بسیاری از مواد چربی دوست پس از ورود به بدن، بخش اعظم آن به پروتئینهای پلاسمایی متصل و در خون توزیع میشود. بیشترین پروتئین حامل مرفین، آلبومین و به مقدار کمتری خانواده گاماگلوبولین ها می باشد (9). قسمت عمده مرفین با مکانیسم گلوکوکورونیداسیون در کبد متابولیسم شده و بصورت دست نخورده یا متابولیت گلوکوکورونید آن از طریق صفرا و یا ادرار دفع میگردد (7). مطالعه ای بر موشهای صحرائی نشان داده که مرفین به دلایل فوق و همچنین با افزایش گلوکوتائون دارای اثر هیپاتوتوکسیک بوده و موجب مرگ سلولهای کبدی

یابد (12). در این تحقیق نیز مقدار آلبومین، تغییر معنی داری نشان نداد. نتایج پژوهش حاضر نیز این موضوع را تأیید می نماید که وجود مداوم هروئین و مرفین در خون بر الگوی الکتروفور تیک آلبومین معنادان تاثیری ندارد (9).

نتایج مطالعه ای دیگر بر خرگوشها نشان داد که از میان گلوبولینها فقط غلظت سرمی گاما گلوبولینها به واسطه تاثیر مرفین، افزایش می یابد. زیرا از میان ایمنوگلوبولینها، مرفین بطور اختصاصی به گاما گلوبولین متصل میشود (13). با استفاده از روش کروماتوگرافی مشاهده شد که وقتی مرفین به آلبومین سرم متصل میشود تبدیل به آنتی ژن شده و موجب تحریک سیستم ایمنی گردیده و در نتیجه باعث تولید آنتی بادی میگردد (14). در خرگوش، استفاده از مرفین و یا متابولیتهای آن موجب تحریک پاسخ ایمنی هومورال شده است (15). پس یکی از دلایل افزایش گاما گلوبولینها در افراد معتاد می تواند تحریک سیستم ایمنی بدن باشد (16). تغییر عملکرد سیستم ایمنی در ارتباط با مصرف مواد اپیوئیدی از سالهای 1900 مورد بررسی قرار گرفته است. تاثیر اپیوئیدها بر سیستم ایمنی میتواند به علت اثر مستقیم برگیرنده های اپیوئیدی موجود در سطح سلولها (17)، یا بطور غیر مستقیم با تاثیر بر محور هیپوفیز - هیپوتالاموس (HPA) موجب تغییر میزان گلوکوکورتیکوئیدها و در نتیجه تغییر سیستم ایمنی گردد (18). استفاده مزمین مرفین در حیوانات آزمایشگاهی نیز موجب تغییر پارامترهای ایمنی بالاخص کاهش ایمنی سلولی میگردد. بطوریکه IL-2 و IFN-5 کاهش یافته در حالیکه IL-4 و IL-5 بطور وابسته به زمان افزایش می یابد. به عبارت دیگر مصرف مزمین مرفین موجب تمایز سلولهای T-helper به فنوتیپ Th2 میگردد (19). همچنین مصرف مداوم اپیوئیدها

موجب اختلالات کمی و کیفی در فاگوستیوز می شود (20). سیستم ایمنی هومورال نیز تحت تاثیر مصرف مزمین اپیوئیدها قرار میگردد بطوریکه حتی نسبت ایمنو گلوبولینها تغییر می یابد. در بررسی که بر سیستم ایمنی هومورال افراد معتاد به هروئین و تریاک که به مراکز بازپروری مراجعه کرده بودند نیز مشاهده شد که ایمنوگلوبولین M و E افزایش یافته است اما بر خلاف نتایج این تحقیق، ایمنوگلوبولین گاما تغییر نیافته بود (21).

مدارک قابل توجهی دال بر توام شدن اعتیاد و وقوع فزاینده عفونتهای باکتریایی، پروتوزایی و ویروسی وجود دارد (22). همچنین مصرف مزمین اپیوئیدها بعنوان سرکوب کننده سیستم ایمنی (22) و رفتارهای پرخطر ناشی از آن، امکان ابتلا به عفونتها و در نتیجه نقص ایمنی را افزایش میدهد (23). از اینروست که بالاخص عفونتهای ویروسی در این افراد افزایش یافته و هپاتیت و ایدز که از کشنده ترین انواع عفونت هاست در معتادان شیوع بیشتری دارد (24). از آنجائیکه اختلالات سیستم ایمنی در معتادان بیشتر مربوط به سابقه ابتلا به بیماریهای عفونی می باشد و نه مصرف مواد اپیوئیدی (25)، میتوان نتیجه گرفت که افزایش معنی دار باند گاما در این مطالعه عمدتاً می تواند با رفتارهای پرخطر، عدم رعایت بهداشت، ابتلا به عفونتهای فرصت طلب به ویژه عفونتهای ویروسی در طول مدت اعتیاد و تزریقات مکرر و احیاناً ناخالصیهای موجود در مواد مرتبط باشد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از حمایتهای مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان که در انجام این طرح ما را یاری نمودند کمال امتنان و سپاس را داریم.

References

1. UNODC 2006. World drug report. New York. United Nations publication. Volume I: Analysis, P 31, 51,64
2. ستاد مبارزه با مواد مخدر، ارکان برنامه جامع ملی - ربع قرن مبارزه با مواد مخدر، 1384، جلد 4، تهران: دبیرخانه ستاد مبارزه با مواد مخدر. 60-59
3. Friedman H, Eisenstein TK. Neurological basis of drug dependence and its effects on the immune system. *J Neuroimmunol.* 2004 Feb ; 147 (1-2): 106 – 108
4. Kosten T, Owens SM. Immunotherapy for the treatment of drug abuse. *Pharmacol Ther.* 2005 Oct ; 108 (1): 76 – 85
5. Burtis CA, Edward R, Ashwood. *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry.* 4th Edition ; 1996 ; P: 271 – 282
- 6 - عسکری م، ستاره شناس (ترجمه). تشخیص و پیگیری بالینی بیماریها به کمک روشهای آزمایشگاهی 2001. سال 1381. انتشارات اندیشه رفیع. فصل 13 صفحه 384
7. Katzung BG. *Basic and clinical Pharmacology.* 8th Ed. Lange medical books/ McGraw-Hill, New York, 2001; pp: 512-532
8. Howard BG., Hud A. Opioid analgesics. In: Goodman & Gillman, *The pharmacological Basis of Therapeutics.* Ed. Hardman JG, Limbird LE. 2001. Mc Graw Hid editions. USA
9. Olsen GD. Morphine binding to human plasma proteins, *Clin pharmacol Ther.* 1975 Jan ; 17(1): 31 – 5
10. Nagamatsu K, Ohno Y, Ikebuchi H, Takahashi A, Terao T, Takanaka A. Morphine metabolism in isolated rat hepatocytes and its implications for hepatotoxicity, *Biochem pharmacol.* 1986; 35 (20): 3543 – 8
11. Gomez – Lechon MJ, Ponsoda X, Jover R, Fabra R, Trullenque R, Castell JV. Hepatotoxicity of the opioids morphine, heroin, meperidine, and methadone to cultured human hepatocytes, *Mol Toxicol.* 1987 – 1988; 1 (4): 453 – 63
12. Banerjee D, Sarkar NK. A study of hepatobiliary function in chronic heroin smokers, *Addict Biol.* 1996 ; 1 (2): 197 – 200
13. Ringle DA, Herndon BL. Immunologic effects of morphine administration in rabbits, *J Immunol.* 1975; 115 (3): 876–883
14. Walker MC, Simon EJ. The purification of antimorphine antibodies by affinity chromatography, *J Pharmacol Exp Ther.* 1977; 203 (2): 360 –364
15. Beranek JI, Decato L, Adler FL. Binding of morphine by serum globulins from morphine treated rabbits. II. Antibody nature of the binding globulins. *Int Arch Allergy APPL Immunol.* 1976 ; 51 (4): 402-415
16. Li L, Zhao WZ, Yang SQ, Fu N, Xu JP. [Preparation and characterization of anti-morphine antiserum]. [Chinese] [English Abstract. Journal Article. Research support, Non – U.S.Gov't] *Di Yi Junyi Daxue Xuebao.* 2004; 24 (6): 673-676
17. Mc Carthy L, Wtzel M, Sliker JK, Eisenstein TK, Rogers TJ. Opioids, opioid receptors, and immune response. *Drug. Alcohol. Depend.* 2001 ; 62: 111-123
18. Allolio B, Schulte HM, Deuss U, Kallabis E, Winkel-mam W. Effect of oral morphine and naloxane on pituitary – adrenal response in man induced by human corticotropin – releasing hormone. *Acta*

- Endocrinol (Copenhagen) 1987 ; 114: 509-514
19. Roy S, Wang J, Gupta S, Charboneau R, Loh HH, Barke RA. Chronic morphine treatment differentiates T helper cells to Th2 effector cells by modulatinv transcription factors GATA 3 and T-bet. J Neuroimmunol. 2004 Feb ; 147 (1 – 2): 78-81
- 20 - رضائی پور ر، آقا سید عبدالله س، نیرین ح. اثر اعتیاد بر فاگوستیوز و سیستم ایمنی سلولی (CMI). علوم پیراپزشکی (فصلنامه علمی - پژوهشی دانشکده پیراپزشکی) دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی ؛ سال اول، شماره سوم، پائیز 1382، صفحات 141 تا 149
21. رضائی پور ر، اکرامیان ن، صالحی م، نیک بین ب. اثر اعتیاد بر ایمنی هومورال. مجله علمی سازمان نظام پزشکی جمهوری اسلامی ایران، 1382 ؛ دوره 21، زمستان، شماره 4: صفحات 275-271
22. Friedman H, Newton C, Klein TW. Microbial infections Immuno modulation, and drug of abuse. clinical Microbiology review 2003 ; 16(2): 209-219
23. Bangsberg DR, Rosen JI, Aragon T, Campbell A, Weir L, Perdreau – Remigton F. clostridial myonecrosis cluster among injection drug user: a molecular epidemiology investigation. A, Ch. Intern. Med 2002 ; 162 ; 512-522
24. Battyas RJ, leukefeld CG, Pickens RW, Haverkos HW. The acquired immuno deficiency syndrome and intravenous drug abuse. Bull, Narc. 1988 ; 40: 21 – 34
25. Ramos V, Castro MA, de la Iglesia F, Martinez MM, Juega J, Sanchez P, Barbuzano C, Pedria JD. [Immunoglobulins, beta – 2 microglobulin and lymphocyte subpopulation in patients addicted to parenteral drugs (IVDA)]. An Med Interna. 1992; 9 (11) 538 – 42