

## تأثیر مرفین بر عفونت لشمانیا ماژور در موش‌های نژاد BALB/c و نژاد C57BL/6

\*دکتر علی گرگین کرجی (Ph.D.)<sup>۱</sup> - دکتر سمیه شعبانی (M.D.)<sup>۲</sup> - دکتر مهین اکبری (M.D.)<sup>۳</sup>

\*نویسنده مسئول: کرمانشاه، خیابان دانشگاه، دانشکده پزشکی، گروه ایمونولوژی

پست الکترونیک: ali4459@gmail.com

تاریخ دریافت مقاله: ۸۹/۵/۲۶ تاریخ پذیرش: ۸۹/۸/۲۸

### چکیده

مقدمه: مرفین با تعدیل پاسخ‌های ایمنی بر واکنش به برخی عفونت‌های میکروبی مؤثر است.

هدف: بررسی اثر حاد مرفین بر عفونت لشمانیا ماژور در موش‌های نژاد حساس (BALB/c) و مقاوم (C57BL/6).

مواد و روش‌ها: در یک مطالعه تجربی، دوز کم (2mg/kg) و دوز زیاد (10mg/kg) مرفین بصورت دو دوز، یک دوز همزمان با تجویز انگل و دوز بعدی ۱۵ روز بعد، به دو گروه از هر نژاد تجویز شد (هر گروه با ۵ عضو). به‌عنوان کنترل به گروه‌هایی از موش‌ها قبل از تجویز مرفین، به‌میزان دو برابر نالوکسان و به یک گروه نیز سرم فیزیولوژی تزریق شد. هفته‌ای یک بار واکنش موضعی محل تزریق انگل ارزیابی شد.

نتایج: در موش‌های C57BL/6 واکنش موضعی در محل تزریق انگل تا هفته پنجم افزایش و سپس کاهش یافت و به وضع طبیعی برگشت. در مقابل، در موش‌های BALB/c در حالی که واکنش موضعی در گروه دریافت‌کننده دوز کم مرفین و گروه‌های کنترل تا پایان آزمایش مرتب افزایش یافت و به چند برابر رسید، در موش‌های با تجویز 10mg/kg واکنش موضعی افزایش محسوس پیدا نکرد و تفاوت با گروه کنترل معنی‌دار بود (P<0.05).

نتیجه‌گیری: تجویز حاد مرفین تأثیر محسوس بر واکنش موش‌های C57BL/6 در برابر عفونت لشمانیا ماژور ندارد، اما به‌صورت دو فازی و وابسته به دوز بر موش‌های BALB/c تأثیر دارد.

کلید واژه‌ها: دارو درمانی / لشمانیا / مرفین / موش‌ها / نتیجه درمان

مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان، دوره بیستم شماره ۷۸، صفحات: ۷-۱

### مقدمه

لشمانیوز جلدی یا زخم حاره‌ای بیماری انگلی ناشی از گونه‌های تک‌یاخته لشمانیاست. این انگل با خونخواری پشه حاکی ماده به انسان یا حیوان منتقل می‌شود. عفونت پوستی موش با لشمانیا ماژور (*Leishmania major*) مدل تجربی بیماری مزمن پوستی توسط این انگل داخل سلولی است (۱). اکثر نژادهای موش مانند C57BL/6، CH3 و CBA مقاوم به عفونت با لشمانیا هستند. در مقابل، برخی نژادهای دیگر مانند BALB/c به این انگل حساس بوده و پس از ایجاد زخم‌های پوستی بزرگ و غیربهبود یابنده، سرانجام انگل در تمام بدن حیوان پخش می‌شود (۲ و ۳). نژادهای مقاوم موش در عفونت، پاسخ حفاظتی از نوع Th1 (T helper type 1) بروز می‌دهند که با فعال‌سازی ماکروفاژها موجب حذف انگل و بهبود عفونت می‌شود. وجه مشخصه این نوع پاسخ ایمنی تولید مقدار زیاد IFN- $\gamma$  (Interferon gamma) است. در مقابل، در موش‌های حساس (مانند BALB/c) پاسخ از نوع Th2

(T helper type 2) ایجاد می‌شود که سبب تولید پادتن بر علیه انگل می‌شود، اما این پاسخ اثر حفاظتی در برابر عفونت لشمانیا ندارد. مشخصه این نوع پاسخ تولید مقدار زیاد IL-4 (Interleukin-4) است (۴-۶). مرفین و ترکیبات اپیوئیدی علاوه بر خواص ضد درد و تأثیری که بر خلق و خو و رفتار دارند فعالیت‌های مختلف ایمنی را نیز تعدیل می‌کنند. نشان داده شده که پپتیدهای اپیوئیدی اندوژن مانند  $\beta$ -اندورفین اغلب اثر مهار بر ایمنی سلولی دارند (۷). مرفین برخی پارامترهای ایمنی را نیز سرکوب می‌کند (۸). با این وجود غلظت‌های مختلف مرفین تأثیر متفاوت بر دستگاه ایمنی دارند و در حالی که دوز پایین مرفین سبب افزایش تولید GM-CS (Granulocyte-Monocyte Colony Stimulating Factor) و M-CSF (Monocyte Colony Stimulating Factor) می‌شود، دوز بالای آن تولید این سیتوکین‌ها را کاهش می‌دهد (۹). گزارش‌ها حاکی از آن است که مرفین در حیوانات

تجویز مرفین به صورت زیر جلدی یک نوبت در روز صفر (۲ ساعت بعد از تزریق انگل) و نوبت دوم ۱۵ روز پس از آلودگی با انگل انجام شد. تجویز نالوکسان (نیم ساعت قبل از تجویز مرفین) در روز صفر و پانزدهم، به صورت داخل صفاقی انجام شد. الگوی تجویز دارو به این صورت بود که در هریک از دو نژاد موش، به اعضای یک گروه،  $2\text{mg/kg}$  مرفین، گروه دوم  $2\text{mg/kg}$  مرفین +  $4\text{mg/kg}$  نالوکسان، گروه سوم  $10\text{mg/kg}$  مرفین، گروه چهارم  $10\text{mg/kg}$  مرفین +  $20\text{mg/kg}$  نالوکسان و گروه پنجم به عنوان کنترل، سرم فیزیولوژی تجویز شد.

**تعیین اندازه واکنش موضعی:** تزریق انگل در هر دو نژاد موش منجر به ایجاد واکنش موضعی در محل تزریق انگل می‌شود. این واکنش قابل اندازه‌گیری است. پس از ظاهر شدن واکنش موضعی در محل تزریق انگل ضخامت پای محل تزریق انگل که بواسطه واکنش مذکور متورم شده بود، هفته‌ای یکبار به کمک ابزار کولیس و همزمان، به‌عنوان کنترل، ضخامت پای مقابل اندازه‌گیری شده درصد افزایش اندازه واکنش موضعی طبق معادله زیر محاسبه شد:

$$100 \times \left( \frac{\text{ضخامت پای مقابل}}{\text{ضخامت پای مقابل}} - 1 \right) = \text{ضخامت پای مورد تزریق انگل}$$

به این ترتیب، درصد افزایش ضخامت پای محل تزریق انگل به‌عنوان معیاری از افزایش اندازه واکنش در طول دوره اندازه‌گیری تعیین شد. اندازه‌گیری در موش‌های BALB/c به مدت ۷ هفته و در نژاد C57BL/6 به مدت ۹ هفته انجام شد. محاسبه آماری: تجزیه و تحلیل داده‌های آماری با روش آنالیز واریانس (ANOVA) و استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون Tukey انجام شد و  $P < 0.05$  مبنای معنی‌دار بودن قرار گرفت.

### نتایج

مرفین واکنش موضعی در موش‌های BALB/c را تحت تاثیر قرار می‌دهد  
واکنش موضعی در محل تزریق انگل، در کف پای عقبی هر دو نژاد C57BL/6 و BALB/c در حدود ۱۵ روز پس از تزریق انگل ظاهر شد. روند تغییر اندازه واکنش و سرنوشت نهایی آن در دو نژاد کاملاً متفاوت بود. در موش‌های نژاد

آزمایشگاهی موجب حساس شدن نسبت به برخی عفونت‌های میکروبی و انگلی شامل لیستریا منوسیتوزنز (۱۰)، استرپتوکوک پنومونیه (۱۱)، کلبسیلا پنومونیه (۱۲) و توکسوپلازما گوندی (۱۳) می‌شود. با این وجود هنوز مطالعه‌ای در خصوص تاثیر مرفین بر عفونت لشمانیا ماژور انجام نشده است. این مطالعه برای بررسی تاثیر تجویز حاد مرفین بر حساس شدن موش‌های نژاد C57BL/6 و BALB/c به لشمانیوز انجام شده است.

### مواد و روش‌ها

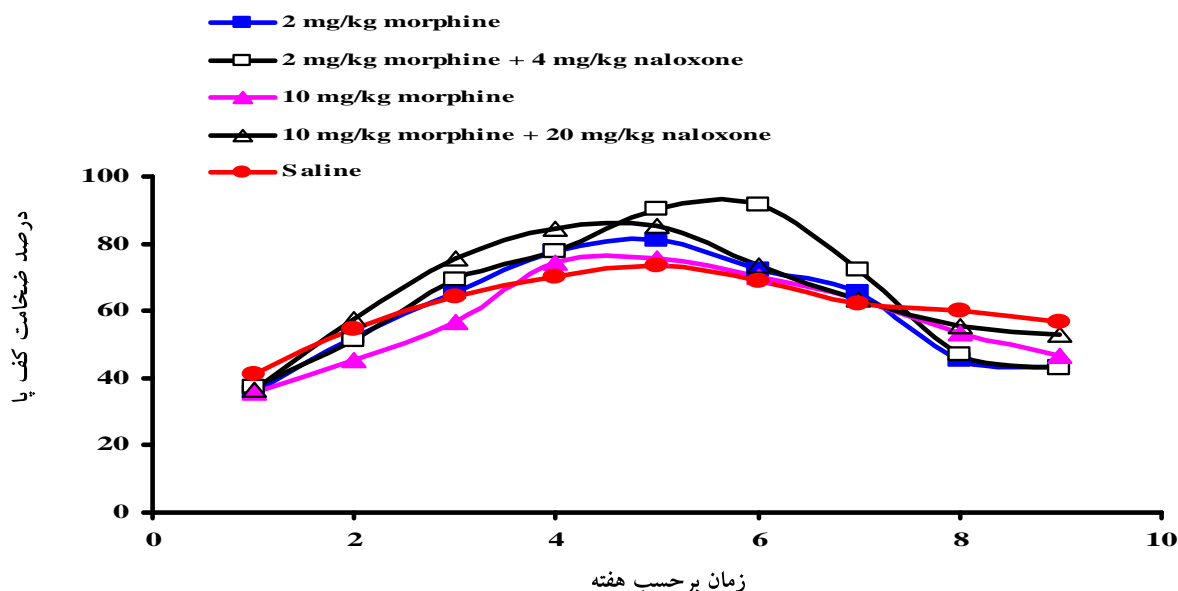
**حیوان:** در این مطالعه از موش‌های نژاد C57BL/6 و نژاد BALB/c در محدوده وزنی به ترتیب  $16-18\text{ gr}$  و  $18-20\text{ gr}$  و محدوده سنی ۶-۸ هفته‌گی استفاده شد. تمام موش‌ها از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند و در حیوانخانه با درجه حرارت محیط  $(22 \pm 2)$  درجه سانتی‌گراد و چرخه نور استاندارد (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) نگهداری شدند، به آب و غذای کافی دسترسی داشته و از بستر استریل برخوردار بودند. این حیوانات برای تطابق با شرایط جدید پیش از شروع آزمایش به مدت ۲ هفته در حیوانخانه نگهداری شدند. موش‌های هر نژاد به ۵ گروه، هر گروه شامل ۵ سر موش، تقسیم شدند.

**انگل:** انگل لشمانیا ماژور (کد بین المللی: WRHO/IR/75/ER) از انستیتو پاستور ایران تهیه شد و در محیط کشت RPMI 1640 غنی شده با ۲۰٪ سرم جنین گاوی (FBS)،  $10\text{ mM}$  بافر هپس،  $2\text{ mM}$  ال-گلوتامین،  $2\text{ mM}$   $\text{NaHCO}_3$ ،  $10000\text{ Unit/ml}$  پنی‌سیلین و  $100\text{ }\mu\text{g/ml}$  استرپتومایسین کشت داده شد.

**آلوده‌سازی حیوان:** برای آلوده‌سازی حیوانات از پروماستیگوت انگل لشمانیا ماژور در فاز ایستایی رشد انگل استفاده شد. فاز ایستایی، زمانی است که انگل حداکثر رشد را پشت سر گذاشته و رشد آن متوقف شده است. به هر حیوان یک میلیون پروماستیگوت لشمانیا ماژور به کمک سرنگ هامپلتون به‌صورت زیرجلدی به کف پای عقبی تزریق شد. **دارو:** تجویز نالوکسان هیدروکلراید (تولید دارو ایران) و مرفین سولفات (داروپخش ایران) در ۲ نوبت انجام شد.

کمتر از ۲ برابر افزایش یافت و در پایان نیز عارضه خاصی بر جا نگذاشت. به عبارت بهتر تجویز مورفین در دو دوز بالا (۱۰ mg/kg) و پایین (۲ mg/kg) و تجویز این دو دوز همراه با نالوکسان تأثیر محسوسی بر واکنش موش‌های نژاد C57BL/6 نسبت به عفونت با لشمانیا ماژور نداشت.

C57BL/6، واکنش موضعی در تمام موش‌ها (صرف نظر از دوز مورفین یا دریافت نالوکسان) تا هفته پنجم اندازه‌گیری، به صورت مشابه با شیب ملایمی افزایش یافت سپس سیر نزولی طی کرده و تا هفته نهم به شکل طبیعی و اولیه نزدیک شد (شکل ۱). در هر یک از اعضای این نژاد، واکنش موضعی



شکل ۱: اثر تجویز حاد مورفین بر واکنش موضعی نسبت به لشمانیا ماژور در موش‌های نژاد C57BL/6. موش‌ها در دو نوبت (همزمان با تجویز انگل و پانزده روز بعد) تحت تجویز مورفین یا مورفین + نالوکسان قرار گرفتند. همزمان با اولین دوز مورفین یک میلیون پروماستیگوت لشمانیا به کف یک پای

موش‌ها تجویز شد. واکنش موضعی به مدت ۹ هفته اندازه‌گیری شد و مطابق معادله زیر محاسبه گردید:

$$[ (\text{ضخامت پای مقابل}) / (\text{ضخامت پای مقابل}) - (\text{ضخامت پای مورد تزریق انگل}) ] \times 100$$

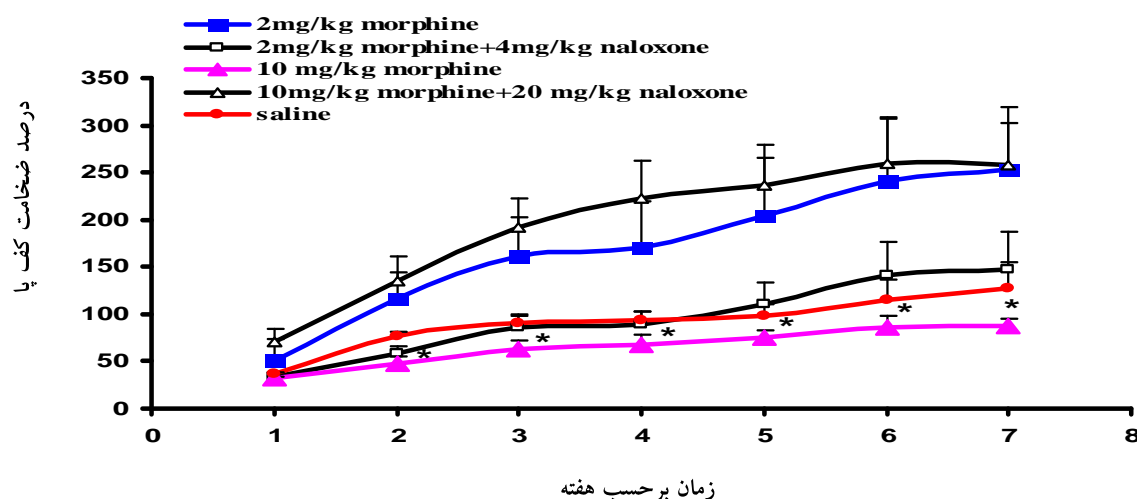
اطلاعات به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار برای تعداد ۵-۶ سر موش در هر گروه بیان شده است.

گروه ۴ قابل توجه بود ( $P < 0.05$ ). به این ترتیب تجویز دوز پایین مورفین (۲ mg/kg) سبب تشدید واکنش و تجویز دوز بالا (۱۰ mg/kg) باعث تخفیف واکنش موضعی شد. تأثیر دوز پایین مورفین با تجویز نالوکسان قابل برگشت بود یعنی تجویز نالوکسان سبب حذف اثر مورفین و برگشت آن به حد طبیعی شد (گروه ۲). در مقابل، در دوز بالای مورفین، تجویز نالوکسان ضمن حذف اثر مورفین سبب تشدید واکنش موضعی و ارتقای آن به حد واکنش حاصل از دوز پایین مورفین شد که تفاوت محسوسی با واکنش ناشی از دوز بالای مورفین داشت. از طرف دیگر روند تغییر اندازه واکنش موضعی در موش‌های کنترل (تجویز سرم فیزیولوژی) و موارد تجویز ۲ mg/kg مورفین + ۴ mg/kg نالوکسان (گروه ۲) مشابه و بیش از واکنش

در موش‌های نژاد BALB/c برخلاف موش‌های نژاد C57BL/6، واکنش موضعی از زمان آشکار شدن تا پایان ۷ هفته اندازه‌گیری شده در تمام گروه‌ها (با اندکی تفاوت) مرتباً افزایش اندازه داشت، تا چند برابر افزایش یافت و اغلب منتهی به نکروز و گاهی قطع اندام شد. با این وجود، میزان این افزایش در تجویز مقادیر مختلف مورفین یا مورفین + نالوکسان یکسان نبود و تفاوت قابل توجه داشت (شکل ۲). در حالی که حیوانات دریافت کننده ۲ mg/kg مورفین (گروه ۱) و ۱۰ mg/kg مورفین + ۲۰ mg/kg نالوکسان (گروه ۴) در یک روند مشابه، بیشترین افزایش اندازه را نشان دادند، موش‌های دریافت کننده دوز بالای مورفین (۱۰ mg/kg یا گروه سه) کمترین افزایش را داشتند به نحوی که تفاوت با موش‌های

تزریق انگل در مدت اندازگیری افزایش مختصری نشان داد ولی منتهی به نکروز یا عارضه دیگری نشد در حالی که شدیدترین واکنش مربوط به اعضای گروه ۴ بود. اعضای گروه ۳ در مقایسه با سایر گروه‌ها خفیف‌ترین واکنش را نشان دادند.

در گروه ۳ بود. در کل، میزان واکنش و سیر افزایش آن در موش‌های گروه ۱ و ۴ بیش از گروه کنترل، گروه ۲ و ۳ بود و شدت و حدت بیشتری داشت و اغلب منتهی به نکروز یا حتی قطع اندام در اعضای این دو گروه شد. در مقابل، در گروه سه (دریافت کننده ۱۰mg/kg مرفین) واکنش محل



شکل ۲: اثر تجویز حاد مرفین بر واکنش موضعی نسبت به لشمانیا ماژور در موش‌های نژاد BALB/c.

موش‌ها در دو نوبت (همزمان با تجویز انگل و پانزده روز بعد) تحت تجویز مرفین یا مرفین + نالوکسان قرار گرفتند. همزمان با اولین دوز مرفین یک میلیون پروماستیگوت لشمانیا به کف پای موش‌ها تجویز شد. واکنش موضعی بمدت ۷ هفته اندازه‌گیری شد و مطابق معادله زیر محاسبه گردید:  $100 \times \left[ \frac{\text{ضخامت پای مقابل}}{\text{ضخامت پای مقابل}} - (\text{ضخامت پای مورد تزریق انگل}) \right]$

اطلاعات به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار برای تعداد ۵-۶ سر موش در هر گروه بیان شده است. واکنش موضعی در گروه سه (دریافت کننده ۱۰mg/kg مرفین) خفیف‌تر از همه گروه‌ها بوده و پس از رشد اولیه تغییر محسوسی نداشت، اما این تفاوت تنها با گروه چهار (دریافت کننده ۱۰mg مرفین + ۲۰mg/kg نالوکسان) از نظر آماری معنی دار بود ( $P < 0.05$ ).

## بحث و نتیجه‌گیری

نژاد C57BL/6 مقاوم به عفونت با لشمانیا ماژور هستند اما موش‌های نژاد BALB/c به عفونت با این انگل حساسند. از طرف دیگر در حالی که تجویز حاد غلظت‌های مختلف مرفین اثری بر واکنش نژاد C57BL/6 نسبت به عفونت با انگل لشمانیا نداشت، بر واکنش موش‌های نژاد BALB/c موثر بود به نحوی که دوز کم مرفین سبب تشدید واکنش و دوز بالای آن سبب مهار واکنش در مقایسه با گروه کنترل (دریافت کننده سرم فیزیولوژی) شد. تفاوت این دو نژاد در پاسخ به تجویز حاد مرفین می‌تواند ناشی از تفاوت در ژنتیک و نیز تفاوت در سیستم ایمنی آنها باشد. در تایید این مطلب، مطالعات قبلی نشان داده‌اند که در موش‌های نژاد BALB/c تجویز anti-

نتایج این مطالعه نشان داد که در موش‌های نژاد C57BL/6 تجویز حاد مرفین بر واکنش حیوان و مقاومت آن نسبت به عفونت با لشمانیا ماژور اثر محسوسی ندارد. در مقابل در موش‌های نژاد BALB/c سبب تاثیر دو فازی و وابسته به دوز بر واکنش موضعی می‌شود. در موش‌های این نژاد در حالی که تجویز دوز پایین مرفین (۲mg/kg) سبب تشدید واکنش موضعی و افزایش حساسیت نسبت به انگل در مقایسه با گروه دریافت کننده سرم فیزیولوژی شد، تجویز دوز بالای مرفین (۱۰mg/kg) سبب کاهش حساسیت حیوان و تخفیف واکنش موضعی نسبت به گروه سرم فیزیولوژی شد. نتایج این مطالعه، مشابه مطالعات قبلی، نشان داد که موش‌های

حیوان در برابر یک بیماری عفونی اعمال کند. از طرف دیگر بایستی در نظر داشت که این اثر مورفین فقط در برخی عفونت‌ها و برخی نژادها دیده شده‌است. به‌علاوه اثر مهارى یا تشدیدکنندگی مورفین بر یک بیماری عفونی، در تجربه‌های مختلف، دوزهای متفاوت و گاه متضاد حاصل شده‌است. در مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۶ نشان داده شد که تزریق مورفین به‌میزان ۱۰۰ mg/kg به مدت ۱۴ روز باعث افزایش حساسیت موش‌های نژاد BALB/c نسبت به عفونت با لیستریا مونوسیتوژنز و سالمونلا انتری‌تیدیس نیز انتشار عفونت و مرگ حیوان‌ها می‌شود در حالی‌که تأثیری بر حساسیت حیوان نسبت به عفونت با شیگلا فلکس‌نری، یرسینیا انتری‌کولی‌تیکا و اشریشیا کولی نداشته‌است (۱۰) اما تزریق مورفین با دوز 440 mg/kg سبب بیماری‌زایی اشریشیا کولی شد (۱۹). همچنین، در مطالعه دیگری نشان داده شد تجویز مورفین به صورت ۴ روز در میان به مدت ۴۲ روز تأثیری بر پاسخ هومورال به آنتی‌ژن باکتری و ویروسی و مقاومت حیوان نسبت به میکروب‌های که حیوان نسبت به آنها ایمن شده ندارد (۲۰). به این ترتیب تأثیر مورفین بر سیستم ایمنی نه تنها به نژاد حیوان، شرایط و وضعیت سیستم ایمنی، بلکه به نوع عفونت و دوز مورفین وابسته بوده و بدون توجه به این عوامل نمی‌توان اثر مورفین را پیش‌بینی کرد. اما به هر حال بایستی توجه داشت که اپیوئیدها از جمله مورفین، به‌صورت مستقیم یا غیرمستقیم و از راه اثر بر دستگاه عصبی مرکزی و افزایش میزان سطح کورتیکواستروئیدها بر سیستم ایمنی موثرند اما میزان این تأثیر و نوع آن وابسته به عوامل مختلف است که در تفسیر نتایج بایستی مورد توجه قرار گیرد.

در کل نتایج این مطالعه نشان داد که مورفین می‌تواند به‌صورت دو-فازی و وابسته به دوز، بر واکنش موش‌های نژاد BALB/c نسبت به عفونت لشممانیا ماژور موثر باشد اما تأثیری بر واکنش موش‌های نژاد C57BL/6 نسبت به عفونت با این انگل ندارد. این مطالعه و بررسی‌های مشابه می‌تواند اطلاعات ما را در خصوص اثر اپیوئیدها افزایش داده و راه را برای استفاده منطقی و مناسب این مواد در مقاصد درمانی و موارد مشابه فراهم سازد.

CTLA-4 سبب تشدید عفونت با لشممانیا ماژور می‌شود اما اثری بر واکنش موش نژاد C57BL/6 ندارد (۱۴).

مورفین تأثیر متفاوت بر پارامترها و سلول‌های ایمنی دارد که نه تنها به دوز آن بلکه به نحوه تجویز (حاد یا مزمن)، شرایط تزریق، نوع و نژاد حیوان و عوامل دیگر بستگی دارد. در تایید این نکته در مطالعه‌ای در سال ۱۳۷۹ در اهواز، نشان داده شد که تجویز موضعی اپیوم (تریاک) که مهم‌ترین آلکالوئید آن مورفین است در محل زخم سالک در افراد انسانی، اثر محسوسی در بهبود این زخم ندارد (۱۵). همچنین، تجویز یک دوز مورفین به‌میزان ۲۰ mg/kg، ۱۵، ۱۰، ۵ mg/kg قبل از حساس‌سازی در موش‌های صحرائی نسبت به دی‌نیتروفلوروروبنزن (DNFB)، تأثیری بر واکنش حیوان در مواجهه مجدد با این ماده و واکنش DTH حاصل از آن ندارد، اما پس از آنکه حیوان حساس شد، تجویز مورفین، به‌صورت وابسته به دوز سبب افزایش واکنش DTH بدنال تماس با این ماده شده و نیز سبب افزایش تولید IFN- $\gamma$  می‌شود. جالب این‌که بیشترین واکنش و بالاترین میزان تولید IFN- $\gamma$  در دوز ۲۰ mg/kg ایجاد شده‌است (۱۶). در مطالعه ما نیز، تجویز دوز بالای (۱۰ mg/kg) مورفین در موش‌های BALB/c سبب تخفیف عفونت لشممانیا شد.

تأثیر دو فازی و وابسته به دوز مورفین در مطالعات دیگر نیز گزارش شده هرچند نتایج آنها و تضاد یافته‌های مطالعه ماست. در مطالعه Singal در سال ۲۰۰۳ بر هامستر تجویز دوز پایین مورفین (۲/۵ mg/kg - ۱/۷۵) به‌صورت دو دوز (یک دوز همزمان با تجویز انگل و دوز دوم در روز ۱۵ بعد از تجویز اول) سبب مهار عفونت لشممانیا دنووانی شد، در حالی‌که تجویز دوز بالا (۲۰ و ۵۰ mg/kg) سبب تشدید عفونت در حیوان می‌شود (۱۷). همچنین، این محقق در مطالعه دیگری با استفاده از موش نژاد BALB/c و انگل لشممانیا دنووانی نتایج مشابهی بدست آورده و اعلام کرد در حالی‌که اثر دوز پایین مورفین با تجویز نالوکسان قابل برگشت است، تأثیر دوز بالای مورفین با نالوکسان قابل کنترل نیست (۱۸).

گرچه شرایط مطالعه و نوع انگل در مطالعه ما و این دو مطالعه یکسان نیست ولی این یافته‌ها نشان می‌دهد که مورفین به‌صورت وابسته به دوز قادر است آثار متضادی بر حساسیت

1. Reiner SL, Locksley RM. The Regulation of Immunity to Leishmania Major. *Annu Rev Immunol* 1995; 13: 151-77.
2. Detolla LJ, Scott PA, Farrell JP. Single Gene Control Of Resistance To Cutaneous Leishmaniasis In Mice. *Immunogenetics* 1981; 14(1-2): 29-39.
3. Howard JG, Hale C, Chan-Liew WL. Immunological Regulation of Experimental Cutaneous Leishmaniasis. 1. Immunogenetic Aspects of Susceptibility to Leishmania Tropica In Mice. *Parasite Immunol* 1980; 2(4): 303-14.
4. Heinzel FP, Sadick MD, Holaday BJ, Coffman RL, Locksley RM. Reciprocal Expression of Interferon Gamma or Interleukin 4 during the Resolution or Progression of Murine Leishmaniasis. Evidence for Expansion of Distinct Helper T Cell Subsets. *J Exp Med* 1989; 169(1): 59-72.
5. Locksley RM, Heinzel FP, Sadick MD, Holaday BJ, Gardner KD Jr. Murine Cutaneous Leishmaniasis: Susceptibility Correlates With Differential Expansion Of Helper T-Cell Subsets. *Ann Inst Pasteur Immunol* 1987; 138(5): 744-9.
6. Scott P, Natovitz P, Coffman RL, Pearce E, Sher A. Immunoregulation Of Cutaneous Leishmaniasis. T Cell Lines That Transfer Protective Immunity Or Exacerbation Belong To Different T Helper Subsets And Respond To Distinct Parasite Antigens. *J Exp Med* 1988; 168(5): 1675-84.
7. Manfredi B, Sacerdote P, Bianchi M, Locatelli L, Veljic-Radulovic J, Panerai AE. Evidence For An Opioid Inhibitory Effect On T Cell Proliferation. *J Neuroimmunol* 1993; 44(1): 43-8.
8. Page G G. Immunologic Effects of Opioids In The Presence Or Absence Of Pain. *J Pain Symptom Manage* 2005; 29(5 Suppl): S25-31.
9. Singal P, Singh PP. Leishmania Donovanii Amastigote Component-Induced Colony-Stimulating Factor Production By Macrophages: Modulation By Morphine. *Microbes Infect* 2005; 7(2): 148-56.
10. Asakura H, Kawamoto K, Igimi S, Yamamoto S, Makino S. Enhancement Of Mice Susceptibility To Infection With Listeria Monocytogenes By The Treatment Of Morphine. *Microbiol Immunol* 2006; 50(7): 543-7.
11. Wang J, Barke RA, Charboneau R, Roy S. Morphine Impairs Host Innate Immune Response and Increases Susceptibility To Streptococcus Pneumoniae Lung Infection. *J Immunol* 2005; 174(1): 426-34.
12. Tubaro E, Borelli G, Croce C, Cavallo G, Santiangeli C. Effect Of Morphine On Resistance To Infection. *J Infect Dis* 1983; 148(4): 656-66.
13. Chao CC, Sharp BM, Pomeroy C, Filice GA, Peterson PK. Lethality Of Morphine In Mice Infected With Toxoplasma Gondii. *J Pharmacol Exp Ther* 1990; 252(2): 605-9.
14. Heinzel FP, Maier RA Jr. Interleukin-4-Independent Acceleration Of Cutaneous Leishmaniasis In Susceptible BALB/C Mice Following Treatment With Anti-CTLA4 Antibody. *Infect Immun* 1999; 67(12): 6454-60.
15. Mapar MA, Kavooosi H, Dabagh MA. Assesment Of Topical Opioid In Traetment Of Cutaneous Leishmaniasis, Ahvaz University Of Medical Sciences, 1379 {Text In Persian}, Available From: <http://asp.irteb.com/article/article.aspx?page=9>.
16. Nelson CJ, How T, Lysle DT. Enhancement Of The Contact Hypersensitivity Reaction By Acute Morphine Administration At The Elicitation Phase. *Clin Immunol* 1999; 93(2): 176-83.
17. Singal P, Kinkhikar AG, Singh S, Singh PP. Neuroimmunomodulatory Effects Of Morphine In Leishmania Donovanii-Infected Hamsters. *Neuroimmunomodulation* 2002; 10(5): 261-9.
18. Singh PP, Singal P. Morphine-Induced Neuroimmunomodulation In Murine Visceral Leishmaniasis: The Role(S) Of Cytokines And Nitric Oxide. *J Neuroimmune Pharmacol* 2007; 2(4): 338-51.
19. Bhaskaran M, Reddy K, Sharma S, Singh J, Radhakrishnan N, Kapasi A, Singhal Pc. Morphine-Induced Degradation Of The Host Defense Barrier: Role Of Macrophage Injury. *J Infect Dis* 2001; 184(12): 1524-31.
20. Molitor TW, Morilla A, Risdahl JM, Murtaugh MP, Chao CC, Peterson PK. Chronic Morphine Administration Impairs Cell-Mediated Immune Responses In Swine. *J Pharmacol Exp Ther* 1992; 260(2): 581-6.

## Effect of Morphine on Leishmania Major Infection in BALB/c and C57BL/6 Mouse Strains

\*Gorgin Karaji A.(Ph.D.)<sup>1</sup>- Shabani S.(M.D.)<sup>2</sup>-Akbari M.(M.D.)<sup>2</sup>

\*Corresponding Address: Department of Immunology, Faculty of Medicine, Daneshgah Ave, Kermanshah, IRAN

E-mail: ali4459@gmail.com

Received: 17/Aug/2010 Accepted: 19/Nov/2010

### Abstract

**Introduction:** Morphine effect on reaction to some microbial infections by modulation of immune response.

**Objective:** To evaluate the effect of acute morphine injection on Leishmania major infection in sensitive (BALB/c) and resistant (C57BL/6) mouse strains.

**Materials and Methods:** In this experimental study, a low dose (2mg/kg) and a high dose (10mg/kg) of morphine in two doses were injected to two groups of each mouse, the first concordant with parasite inoculation and the second 15 days later (N=5 for each group). As controls, groups of mice received naloxone before injections of morphine and also a group of mice received saline. Local reaction at the site of parasite inoculation was measured once a week.

**Results:** Local reaction at the site of parasite inoculation increased till fifth week, then decreased and back to the normal size, In contrast, local reaction increased continuously and became multiple in control groups and mice which received low dose morphine. Local reaction did not increase substantially in mice which injected with 10mg/kg morphine so that there was a significantly difference between them and control group ( $P<0.05$ ).

**Conclusion:** The results of this study showed that acute morphine injection didn't have a significant effect on the reaction to infection with Leishmania major of C57BL/6 mice, but had a biphasic dose-dependent effect on BALB/c mice reaction to infection with this parasite.

**Key words:** Drug Therapy/ Leishmania/ Mice/ Morphine/ Treatment Outcome

Journal of Guilan University of Medical Sciences, No: 78, Pages: 1-7