



بررسی اثر ترامادول بر روی تعداد بیگانه‌خوارها و شدت فاگوسیتوز بیگانه‌خوارهای صفاق موش Balb/C

هدایت الله شیرزاد^۱، سیده لیلا دهقانیان^۲، مریم یوسفی^۲، مرتضی نیکرکار^۲، محمود رفیعیان^{۲*}

^۱ گروه ایمونولوژی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد

^۲ مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد

چکیده

زمینه: به دنبال مصرف مورفين سیستم ایمنی تضعیف می‌شود که در شرایطی مثل وجود درد، استرس و یا عفونت می‌تواند بر روند بیماری اثر منفی داشته باشد، لذا در تحقیق حاضر تأثیر ترامادول بر فعالیت سلول‌های دفاعی مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها: تعداد ۷۰ سر موش بالغ Balb/C انتخاب و در دو گروه مساوی شاهد و درمان تقسیم شدند. به موش‌های گروه درمان از روز اول تا پنجم در دو نوبت به ترتیب ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و از روز ششم تا سیام در یک نوبت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ترامادول و به طور همزمان در گروه شاهد نرمал سالین تزریق شد. در روزهای ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ از هر گروه ۶ موش را کشته و از ناحیه صفاقی نمونه برداری شد. با استفاده از روش محاسبه میزان فاگوسیتوز گلbul‌های قرمز گوسفندی شدت و میزان فاگوسیتوز بیگانه‌خوارهای موجود در نمونه‌های حاصل محاسبه شد.

یافته‌ها: در میزان و شدت فاگوسیتوز تا روز پنجم مطالعه تغییری مشاهده نشد، ولی تا روز دهم در هر دو گروه به صورت موازی افزایش یافت. از روز دهم فقط در گروه درمان این افزایش مشاهده شد. میزان فاگوسیتوز در نمونه‌گیری اول، دوم و سوم به ترتیب در گروه درمان 49 ± 7 ، 22 ± 8 و 20 ± 4 و در گروه شاهد 18 ± 9 ، 19 ± 11 و 32 ± 1 بود که در نمونه‌گیری سوم این مقادیر از نظر آماری تفاوت معنی‌داری داشتند. شدت فاگوسیتوز در گروه درمان نمونه‌گیری سوم بیشتر از گروه شاهد بود ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل نشان داد که داروی ترامادول اثر تقویت کننده سیستم ایمنی دارد و استفاده از داروی ترامادول در مواردی که احتمال تضعیف سیستم ایمنی می‌رود می‌تواند به عنوان داروی ضد درد ارجح باشد.

وازگان کلیدی: بیگانه‌خوار، ترامادول، سلول بیگانه‌خوار، سیستم ایمنی بدن

دریافت مقاله: ۸۹/۱۰/۱۶ - پذیرش مقاله: ۸۹/۱۰/۲۱

* شهرکرد، رحمتیه، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی

E-mail: rafieian@yahoo.com

مقدمه

با توجه به اینکه مورفین اثر سایپرسیو بر سیستم ایمنی دارد (۱۸) و گفته می‌شود ترامadol ممکن است باعث تقویت سیستم ایمنی شود می‌تواند جایگزین مناسبی برای مورفین باشد و از آنجایی که حفظ یا بهبود ایمنی در بیماران عفونی و سرطانی از اهمیت بسزایی برخوردار است، لذا در این تحقیق اثر ترامadol، بر روی قدرت فاگوسیتوز بیگانه‌خوارهای صفاق موش Balb/C مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش کار

در این مطالعه تجربی تعداد ۷۰ سر موش Balb/c که از نظر شاخص‌های جنسیت، نوع، وزن و سن با یکدیگر تفاوت معنی‌دار نداشتند، انتخاب و به دو گروه ۳۵ تایی شاهد و درمان و هر گروه به ۵ زیر گروه ۷ تایی تقسیم شدند. موش‌های گروه درمان در دو نوبت صبح و عصر، از روز اول تا پنجم به ترتیب ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ترامadol دریافت و سپس برنامه تزریق تا روز سیام با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم روزانه یک بار ادامه یافت.

موش‌های گروه شاهد نیز در پنج روز اول مطالعه روزانه دو بار و پس از آن تا روز سیام روزانه یک بار ۰/۵ سی‌سی نرمال سالین دریافت نمودند. ابتدا با تزریق ۵ سی‌سی محیط کشت سلولی به داخل صفاق موش‌ها، ناحیه شکم ماساژ داده شد تا سلول‌های این ناحیه از بدن حیوان به داخل محیط کشت تزریقی شناور گردند. پس از جمع‌آوری سلول‌های صفاقی آنها را در مجاورت گلbulول‌های قرمز گوسفنده که توسط آنتی‌بادی ضد‌گلbulول‌های قرمز گوسفنده تهیه شده و بر اساس رفرانس ۱۹ اپسونیزه شده بودند قرار داده و سپس مخلوط سلولی توسط سانتریفوژ بر روی لام

تضعیف سیستم ایمنی که به دنبال درد و یا استرس ایجاد می‌شود به خصوص برای افراد سرطانی و یا افرادی که دچار بیماری‌های عفونی هستند می‌تواند روی روند بیماری اثر منفی داشته باشد. امروزه بسیاری از پزشکان برای دردهای شدید از داروهای مخدر به خصوص مرفین استفاده می‌کنند ولی این دارو علاوه بر عوارض زیاد از جمله ایجاد وابستگی می‌تواند باعث تضعیف سیستم ایمنی شود (۱-۶). لذا در این موارد جانشین کردن داروهای دیگر که عاری از اثرات تضعیف ایمنی باشد اهمیت زیادی دارد.

ترامadol یک آنالوگ صناعی از کدئین است که با مکانیسم دوگانه عمل می‌کند: رسپتورهای μ اپیوئیدی و κ حد کمتری رسپتورهای κ و δ اپیوئیدی را تحریک کرده و همانند داروهای ضدافسردگی سه حلقه‌ای (TCA) مهار نخاعی درد را از طریق کاهش باز جذب نوراپی نفرین و سروتونین فعال می‌نماید (۷-۱۰). دوز مسکن ترامadol به خاطر عملکرد واسطه‌ای رسپتورهای غیر‌اپیوئیدی‌اش افسردگی کمی ایجاد می‌کند. تجربیات بالینی نشان داده‌اند که ترامadol قابلیت کمی برای سوء استفاده و اعتیاد دارد (۱۱ و ۱۲) و به عنوان یک داروی مسکن مناسب می‌تواند در کنترل دردهای مزمن به کار رود (۱۳).

طی مطالعات گوناگون ترامadol تأثیر مثبتی بر بعضی از اجزاء سیستم ایمنی از جمله فعالیت سلول‌های کشته‌ده طبیعی (NK-cell) (ها)، تولید ایترلوكین ۲ (IL-2)، تکثیر سلول‌های طحالی و سطح ایمونوگلوبولین داشته است (۱۴-۱۶). سلول‌های بیگانه‌خوار، یک گروه مهم از سلول‌های ایمنی ذاتی هستند که شامل منوستیت/ ماکروفازها و نوتروفیل‌های چند هسته‌ای (PMN) می‌باشند (۱۷).

درصد ۲ و RBC۳ و ۳۵ درصد کمتر یا مساوی RBC۱ بليعده بودند. در گروه شاهد اين مقادير به ترتيب ۴۰ درصد، ۳۵ درصد و ۲۵ درصد بود ($P<0.001$). در لام تهييه شده از محلول صفاقى در نمونه گيرى سوم، ۵۱ درصد بيگانه خوارهاي که فاگوسيتوز RBC گوسفتدي را انجام داده بودند، بيشتر از RBC۴، ۲۰ درصد ۲ و RBC۳ و ۲۹ درصد کمتر یا مساوی RBC۱ بليعده بودند. در گروه شاهد اين مقادير به ترتيب ۱۲ درصد، ۷۱ درصد و ۱۷ درصد بود ($P<0.001$). اگر در شدت فاگوسيتوز تعداد ماکروفازهایی که بيشتر از RBC ۴ بليعده‌اند را موارد شدید، آنهایی که ۲ و RBC۳ بليعده‌اند را موارد متوسط و آنهایی که کمتر یا مساوی RBC۱ بليعده‌اند را موارد خفيف تعريف کنيم، در نمونه گيرى اول، موارد شدید و متوسط در گروه شاهد و موارد خفيف در گروه درمان بيشتر است. در نمونه گيرى دوم، موارد شدید در گروه شاهد و موارد خفيف و متوسط در گروه درمان بيشتر است و در نمونه گيرى سوم موارد شدید و خفيف در گروه درمان و موارد متوسط در گروه شاهد بيشتر است (جدول ۱).

پخش شدند. پس از رنگ‌آمizi گيمسا شدت فاگوسيتوز بر حسب تعداد RBC بليعده شده توسط بيگانه خوارها برای هر يكصد سلول شمارش شده و ميزان فاگوسيتوز بر حسب ميانگين تعداد بيگانه خوارهاي حاوي RBC در يكصد سلول شمارش شده موجود در روی لام تعين گردید و اطلاعات به دست آمده با گروه نرمال سالين از طريق آزمون‌های Chi-square و t-test مقاييسه گردید.

يافته‌ها

نتابع حاصل از مطالعه‌ی اثر ترامadol بر فاگوسيتوز بيگانه خوارهاي صفاق موش به صورت شدت و ميزان فاگوسيتوز بيان گردید. در لام تهييه شده از محلول صفاقى در نمونه گيرى اول ۳۹ درصد بيگانه خوارهاي که فاگوسيتوز RBC گوسفتدي را انجام داده بودند، بيشتر از RBC۴، ۱۳ درصد ۲ و RBC۳ و ۴۸ درصد کمتر یا مساوی RBC۱ بليعده بودند. در گروه شاهد اين مقادير به ترتيب ۴۳ درصد، ۲۲ درصد و ۳۵ درصد بود ($P<0.001$). در لام تهييه شده از محلول صفاقى در نمونه گيرى دوم، ۲۸ درصد بيگانه خوارهاي که فاگوسيتوز RBC گوسفتدي را انجام داده بودند، بيشتر از ۳۷ RBC۴

جدول ۱) شدت فاگوسيتوز (تعداد RBC بليعده شده) توسط بيگانه خوارهاي صفاق موش Balb/C پس از مواجهه با RBC گوسفتدي اپسونيزه شده با سرم حاوي آنتى‌بادي ضدگلوبول قرمز گوسفتند

گروه	نويت نمونه گيرى	نمونه گيرى سوم (روز دهم)	نمونه گيرى دوم (روز پنجم)	نمونه گيرى اول (روز سوم)	شدت فاگوسيتوز	تعداد	درصد
ترامadol	>۴	٪۵۱	*٪۳۰	٪۲۸	۱۶۸	٪۳۹	۲۳۴
	۳ و ۲	٪۲۰	۱۲۰	٪۳۷	۲۲۲	٪۱۳	۷۸
	≤۱	٪۲۹	۱۷۴	٪۳۵	۲۱۰	٪۴۸	۲۸۸
	>۴	٪۱۲	۷۲	٪۴۰	۲۴۰	٪۴۳	۲۵۸
نرمال سالين	۳ و ۲	٪۷۱	۴۴۶	٪۳۵	۲۱۰	٪۲۲	۱۳۲
	≤۱	٪۱۷	۱۰۲	٪۲۵	۱۵۰	٪۳۵	۲۱۰

(*) در نمونه گيرى سوم در مقاييسه با گروه شاهد

مکانیسم آن مشخص نیست ولی چنین اتفاقی در مطالعات دیگر در استفاده از داروهایی از جمله آنتی‌دپرسانت‌ها دیده می‌شود که اثرات درمانی پس از یک تا دو هفته پس از مصرف ظاهر می‌شود در صورتی که فعالیت فارماکولوژیکی آن زودتر مشاهده می‌گردد (۲۰). مطالعات نشان داده که ترامادول روی تجمع فاگوسیتوز یا قطعات لاتکس که توسط پلی‌مرفنونوکلئرها و مونوцит‌ها فاگوسیت شده‌اند هیچ تأثیری نداشته است (۲۱). اختلاف نتایج این مطالعه با مطالعه حاضر ممکن است ناشی از تفاوت در دوز دارو، مدت زمان تماس با دارو و روش مطالعه باشد.

مطالعه انجام گرفته در سال ۲۰۰۱، نشان داده شده که تجویز ترامادول در دوزهای ساب آنالژیک در موش‌های صحرائی که دچار آسیب مزمن فشاری شده بودند، هم فعالیت NK-cell‌ها و هم پرولیفراسیون لنفوцит‌های T را ساپرس می‌کند (۲۲-۲۴) که شاید این مسئله نیز تا حدودی توجیه کننده عدم معنی‌داری آماری در کشتارهای اول و دوم باشد. مطالعات دیگر که تأثیر ترامادول را روی سیستم ایمنی بررسی کرده اند، یافته‌های جالبی را نشان داده‌اند. از جمله مطالعه انجام شده در سال ۲۰۰۰ برای بررسی اثرات مورفين و ترامادول روی درد پس از جراحی و سیستم ایمنی بیماران نشان داد مورفين پرولیفراسیون لنفوцит‌های T القا شده به‌وسیله فیتوهم آکلوتیناسیون را کاهش داده، در حالی که دو ساعت پس از عمل در کسانی که ترامادول دریافت کرده بودند میزان پرولیفراسیون به حد پایه برگشت. ضمناً لازم است به اثر استرس جراحی روی کاهش پرولیفراسیون نیز اشاره گردد که علیرغم وجود این استرس در گروه دریافت‌کننده ترامادول سطح پرولیفراسیون در حد طبیعی بوده و این مسأله به تأثیر فعل ترامادول در بهبود ایمنی اشاره می‌کند.

در خصوص میزان فاگوسیتوز، نتایج نشان داد میانگین و انحراف معیار تعداد بیگانه‌خوارهایی که عمل فاگوسیتوز انجام داده بودند، در گروه درمان در نمونه‌گیری‌های اول تا سوم به ترتیب 20 ± 4 , 23 ± 8 , 29 ± 7 و در گروه شاهد به ترتیب 18 ± 9 , 19 ± 11 , 32 ± 2 بوده است. استفاده از آزمون t نشان داد میزان فاگوسیتوز گرچه در هر نمونه‌گیری در دو گروه تفاوت داشته، ولی فقط در نمونه‌گیری سوم بین دو گروه از نظر آماری تفاوت معنی‌دار بودند ($P < 0.05$).

بحث

در این مطالعه تأثیر ترامادول روی فاگوسیتوز ماکروفازهای صفاق موش Balb/C بررسی شد. ۳ تا ۵ روز پس از تزریق ترامادول میزان فاگوسیتوز به‌طور واضح تغییری نسبت به گروه نرمال سالین نداشت. روز ۵ تا ۱۰ اگرچه افزایشی در این میزان دیده شد، ولی در هر دو گروه درمان و شاهد به‌طور موازی بود. پس از ۱۰ روز این افزایش در گروه درمان نسبت به گروه شاهد معنی‌دار شد که مکانیسم این پدیده به‌طور دقیق مشخص نیست ولی احتمال دارد به‌دلیل تزریق مکرر در ناحیه پریتوئن موش باشد که باعث التهاب موضعی شده است. این التهاب در گروه شاهد نیز مشاهده شد که می‌تواند در نتایج بی‌تأثیر باشد. نتایج نشان می‌دهد ترامادول پس از ۱۰ روز باعث افزایش میزان فاگوسیتوز شده که ممکن است ناشی از تزریق دارو به‌صورت حاد باشد و تغییری در سیستم ایمنی نداشته اما در دوزهای مزمن باعث افزایش میزان فاگوسیتوز شده است. این نتایج با نتایج مطالعه ساسردوت و همکاران مطابقت دارد (۱۵).

در مطالعه حاضر ترامادول ۳ تا ۵ روز پس از تزریق بر روی فاگوسیتوز تأثیری نداشته است. گرچه

پاسخ‌های ایمنی از جمله فاگوسیتوز تأثیر مثبت دارد و نه تنها به عنوان یک شبه اوپیوئید سیستم ایمنی را تضعیف نمی‌کند، بلکه به تقویت آن نیز کمک می‌نماید. در مقایسه با دیگر مخدراها ترامadol دارای کمترین عارضه از قبیل دپرسن تنفسی، تهوع، استفراغ، یبوست و خواب‌آوری می‌باشد که می‌تواند برای بیماران با سابقه اولسرپتیک، آسم یا معتاد به مواد مخدر و بیمارانی که به مدت طولانی مسکن مصرف می‌کنند مفید باشد (۲۶).

با توجه به نتایج فوق پیشنهاد می‌شود: در موارد درد شدید به‌ویژه پس از عمل جراحی که استرس جراحی باعث تضعیف ایمنی می‌شود از ترامadol به عنوان آنالژیک استفاده شود که اثرات تقویت‌کننده‌گی روی سیستم ایمنی دارد. در بیماران دچار نقص ایمنی نیز جهت تسکین درد، ترامadol بجای اوپیوئیدهای دیگر استفاده گردد. پیشنهاد می‌شود در مطالعات بعدی مکانیسم‌های تأثیر ترامadol در تقویت سیستم ایمنی سلولی مورد بررسی قرار گیرد.

همین مطالعه نشان داد ترامadol به‌طور ویژه‌ای فعالیت سلول‌های NK را تقویت می‌کند (۱۶-۱۴).

اگر چه ترامadol نیز مانند اپیوئیدهای دیگر از طریق اتصال به گیرنده مو (M) اثر ضددردی خود را اعمال می‌کند با این حال از طریق مکانیسم مهار باز جذب نروترانسمیترهای سروتونین و نورادرنالین نیز اعمال اثر می‌کند (۲۵ و ۸). در این مطالعه شدت فاگوسیتوز در نمونه‌گیری اول در دو گروه ترامadol و سالین تقریباً مشابه ولی در نمونه‌گیری دوم در گروه سالین بیشتر از گروه ترامadol بود که دلیل آن مشخص نیست.

در نمونه‌گیری سوم به‌طور معنی‌داری فاگوسیتوز در گروه ترامadol بیشتر از گروه سالین بود ($P < 0.001$) که نشان‌دهنده افزایش پاسخ ایمنی (حداقل در سطح بیگانه‌خواری) توسط ترامadol می‌باشد. مکانیسم دقیق این فرایند مشخص نیست و بررسی بیشتری را می‌طلبد. نمونه‌گیری چهارم و پنجم موش‌ها به‌دلیل اشکالات تکنیکی که شاید ناشی از نامناسب بودن آنتی‌بادی به‌کاررفته با RBC باشد، از نظر آزمایشی مردود و مخدوش بود که از محاسبات مطالعه حذف شدند.

نتیجه این مطالعه نشان داد ترامadol در بهبود

References:

- Roy S, Ninkovic J, Banerjee S, et al. Opioid drug abuse and modulation of immune function: consequences in the susceptibility to opportunistic infections. *J Neuroimmune Pharmacol* 2011 DOI: 10.1007/s11481-011-9292-5. [ahead to print]
- Madera-Salcedo IK, Cruz SL, Gonzalez-Espinosa C. Morphine decreases early peritoneal innate immunity responses in Swiss-Webster and balb/c mice through the inhibition of mast cell TNF- α release. *J Neuroimmunol* 2011; 232: 101-7.
- Bosshart H. Morphine-mediated suppression of phagocytosis. *Int Immunopharmacol* 2010; 10: 264-5.
- Eisenstein TK, Hilburger ME. Opioid modulation of immune responses: effects on phagocyte and lymphoid cell populations. *J Neuroimmunol* 1998; 15: 36-44.
- Wang J, Barke RA, Charboneau R, et al. Morphine impairs host innate immune response and increases susceptibility to *Streptococcus pneumoniae* lung infection. *J Immunol* 2005; 174: 426-34.
- Fecho K, Nelson CJ, Lysle DT. Phenotypic and functional assessments of immune status in the rat spleen following acute heroin treatment. *Immunopharmacology* 2000; 46: 193-207.
- Driessens B, Reimann W. Interaction of the central analgesic tramadol with the uptake and release of 5-hydroxytryptamine in the rat brain in vitro. *Br J Pharmacol* 1992; 105: 147-51.
- Driessens B, Reimann W, Giertz H. Effects of

- the central analgesic tramadol on the uptake and release of noradrenaline and dopamine in vitro. *Br J Pharmacol* 1993; 108: 806-11.
- 9.Trevor AJ, Katzung BG, Masters SB. Katzung & Trevor's pharmacology. 6th ed. New ork: McGraw-Hill; 2002: p. 227-32.
 - 10.Murthy BN, Pandya KS, Booker PD, et al. Pharmacokinetics of tramadol in children after i.v. or caudal epidural administration. *Br J Anaesth* 2000; 84: 346-9.
 - 11.Dayer P, Collart L, Desmeules J. The pharmacology of Tramadol. *Drugs* 1994; 47: 3-7.
 - 12.Grond S, Sablotzki A. Clinical pharmacology of Tramadol. *J Clin Pharmacokinet* 2004; 43: 879-923.
 - 13.Gibson IP. Pharmakokinetics, efficacy and safety of analgesics with focus on tramadol Hcl. *Am J Med* 1995; 101: 475-535.
 - 14.Liu Z, Gao F, Tian Y. Effects of morphine, fentanyl and tramadol on human immune response. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2006; 26: 478-81.
 - 15.Sacerdote P, Bianchi M, Gaspani L, et al. Effects of tramadol and its enantiomers on concanavalin-A induced proliferation and NK activity of mouse splenocytes: involvement of serotonin. *Int J Immunopharmacol* 1999; 21: 727-34.
 - 16.Gaspani L, Bianchi M, Limiroli E, et al. The analgesic drug tramadol prevents the effect of surgery on natural killer cell activity and metastatic colonization in rats. *J Neuroimmunol* 2002; 129: 18-24.
 - 17.Muller F, Rollag H, Froland SS. Nitroblue tetrazolium reduction in monocytes and monocyte-derived macrophages. Effect of oxidative burst stimulants and interferons. *APMIS: Acta Pathologica, Microbiologica and Immunologica Scandinavica* 1989; 97: 490-6.
 - 18.Shirzad H, Shahrani M, Rafieian-Kopaei M. Comparison of morphine and tramadol effects on phagocytic activity of mice peritoneal phagocytes in vivo. *Int Immunopharmacol* 2009; 9: 968-70.
 - 19.Shirzadeh H, Clarke RC, Mcneil PH, Wang W, et al. An IL-3-Induced Splenic NC-1.1+Mast Cell Line Mediates Natural Cytotoxicity Independent of TNF- α Cell Immunol 1996; 174: 147-54.
 - 20.Laurence DR, Bennett P, editors. *Clinical Pharmacology*. 6th ed. Singapore: Cherchill Livingston; 1987: p. 343-70.
 - 21.Beilin B, Grinevich G, Yardeni IZ, et al. Tramadol does not impair the phagocytic capacity of human peripheral blood cells. *Can J Anaesth* 2005; 52: 1035-9.
 - 22.Tsai YC, Won SJ. Effects of tramadol on T lymphocyte proliferation and natural killer cell activity in rats with sciatic constriction injury. *Pain* 2001; 92: 63-9.
 - 23.Sacerdote P, Manfredi B, Mantegazza P, et al. Antinociceptive and immunosuppressive effects of opiate drugs: a structure-related activity study. *Br J Pharmacol* 1997; 121: 834-40.
 - 24.Kohnke A, Maier C, Palm S, et al. In vitro investigations of the effect of morphine and its metabolites on the phagocytosis of peripheral mononuclear cells. *Schmerz* 1999; 13: 121-6.
 - 25.Malik AA, Radhakrishnan N, Reddy K, et al. Morphine-induced macrophage apoptosis modulates migration of macrophages: use of in vitro model of urinary tract infection. *J Endourol* 2002; 16: 605-10.
 - 26.Budd K. Pain management: is opioid immunosuppression a clinical problem?. *Biomed Pharmacother* 2006; 60: 310-7.