

Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

*Specifika užívání opioidů
jako významných imunomodulátorů v terapii bolesti*

*Specifics of the use of opioids
as important immunomodulators in the treatment of pain*



Veronika Švubová

Školitel: RNDr. Lucie Hejnová, Ph.D.

Děčín 2021

Děkuji své školitelce RNDr. Lucii Hejnové, Ph.D. za to, že souhlasila s vedením mé práce a že i navzdory době, která nepřála osobnímu setkání, mi pomohla tuto práci dokončit. Zároveň bych chtěla moc poděkovat svojí mamince – především za to, že to se mnou doma vydržela.

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala sama z uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucí mé práce.

Děčín 2021.

Obsah

Abstrakt	3
Abstract	4
Seznam použitých zkratk	5
1. Úvod	6
2. Způsoby interakce opioidů s organismem	8
2.1. Opioidní receptory (OR)	8
2.1.1. μ -opioidní receptor (MOR)	9
2.1.2. δ -opioidní receptor (DOR)	10
2.1.3. κ -opioidní receptor (KOR).....	10
2.1.4. Nociceptinový opioidní receptor (NOP)	11
2.2. Osa hypothalamus – hypofýza – nadledviny (HPA).....	11
2.3. Sympatikus (SNS).....	12
3. Vliv opioidních látek na komponenty IS	13
3.1. B-lymfocyty.....	13
3.2. T-lymfocyty	14
3.3. NK buňky	15
3.4. Granulocyty	17
3.5. Monocyty a makrofágy.....	17
3.6. Dendritické buňky	18
3.7. Mastocyty	19
4. Vliv opioidních látek na procesy IS	21
4.1. Reakce na infekci	21
4.1.1. Bakteriální infekce	21
4.1.2. Virová infekce	22
4.2. Regenerace tkání	23
4.3. Rakovina	24
5. Závěr	26
6. Citovaná literatura	28

Abstrakt

Tato práce se věnuje specifikům spojeným s používáním opioidních analgetik při potlačování bolesti. Z hlediska antinociceptivních účinků zatím opioidy nebyly překonány jinými dostupnými farmaky, ale jejich užívání přesto není bezproblémové. Již přes 30 let jsou k dispozici studie, které dokazují, že opioidy mohou nepříznivým způsobem ovlivňovat komponenty imunitního systému (IS) a tím i celkový stav pacienta. Pro pochopení vztahu mezi opioidními látkami a IS je nezbytné znát mechanismy směřující k imunomodulačním procesům. Ke kontaktu s opioidy dochází na buněčném rozhraní interakcí s opioidními receptory (OR). OR se běžně vyskytují na povrchu buněk nervových tkání, ale dnes víme, že k jejich expresi dochází také v imunocytech. V rámci IS se setkáváme se všemi třemi základními typy OR – tedy μ (MOR), δ (DOR), κ (KOR) a neklasickým nociceptinovým receptorem (NOP). Opioidní stimulace těchto OR indukuje v cílových buňkách aktivaci signalizačních kaskád, které mohou vést k dysregulaci buněčných procesů a modulovat tak imunitní odpověď. Nicméně působení opioidů na buňky IS nemusí být jen přímé. Byly nalezeny složitější regulační dráhy zahrnující části centrální nervové soustavy (CNS), sympatický nervový systém (SNS) či endokrinně aktivní tkáň. Aktivací těchto drah pak dochází k ovlivňování aktivity celých lymfoidních orgánů.

Každý buněčný typ v rámci IS je z hlediska imunomodulace jedinečný. Výsledný efekt závisí na způsobu, jakým je podnět zpracováván a předáván dál. Záleží na míře exprese příslušných receptorů a signálních molekul. Tyto podmínky se liší nejen mezi jednotlivými buněčnými liniemi imunocytů, ale také mezi jejich vývojovými stádii, v nichž se buňka právě nachází. Dále je rozdíl mezi reaktivitou naivní a aktivované buňky. Opioidy vykazují celé spektrum účinků na buňky IS. Ovlivňují produkci cytokinů a protilátek, mění míru exprese receptorů, interferují se specifickými funkcemi daného buněčného typu a způsobují dysregulaci diferenciaci a proliferaci zmíněných buněk. Všechny tyto efekty mohou v konečném důsledku vést k narušení integrity organismu a snížení jeho obranyschopnosti vůči vnějším vlivům.

Klíčová slova: opioidní analgetika, opioidní receptory, imunitní systém, imunocyty, imunomodulace, imunosuprese

Abstract

This work deals with the specifics associated with the use of opioid analgesics in pain relief. In terms of antinociceptive effects, opioids have not yet been surpassed by other available drugs. However the use of these analgesics is quite problematic in many respects. For over 30 years, studies have shown that opioids can adversely affect components of the immune system (IS) and thus the overall condition of the patient. To understand the relationship between opioids and IS, it is necessary to know the mechanisms leading to immunomodulatory processes. Contact with opioids occurs at the cellular interface through interactions with opioid receptors (ORs). Within IS, we encounter all three basic types of OR – μ (MOR), δ (DOR), κ (KOR) and non-classical nociceptin receptors (NOP). Stimulation of these receptors induces activation of signaling cascades in target cells which can lead to dysregulation of cellular processes, thus modulating the immune response. However, the effect of opioids on IS cells may not be exclusively direct. More complex regulatory pathways have been found, involving parts of the central nervous system (CNS), the sympathetic nervous system (SNS), and endocrine-active tissues. Activation of these pathways then affects the activity of whole lymphoid organs.

Each cell type within an IS is unique in terms of immunomodulation. The resulting effect depends on the way the stimulus is processed and passed on – it depends on the level of expression of the respective receptors and signaling molecules. These conditions differ not only between individual cell lines of the immunocytes but also between the developmental stages of the cell. Furthermore, the naive cell will respond differently than the activated cell. Opioids affect the production of cytokines and antibodies, alter the expression level of receptors, interfere with the specific functions of a given cell type, and cause dysregulation of the differentiation and proliferation of said cells. All these effects can ultimately lead to the disruption of the integrity of the organism and reduce its defense against external influences.

Key words: opioid analgesics, opioid receptors, immune system, immunocytes, immunomodulation, immunosuppression

Seznam použitých zkratk

Akt – proteinkináza B
APC – antigen-prezentující buňky, „Antigen-presenting cells“
Bax – apoptický regulátor, „Bcl-2-associated X protein“
Bcl-2 – apoptický regulátor
cAMP – cyklický adenosinmonofosfát
CD (11b, 14, 40, 80, 83, 86) – diferenciační povrchové receptory (11b, 14, 40, 80, 83, 86), „cluster of differentiation“
CNS – centrální nervová soustava
DOR – δ -opioidní receptor
ERK – kináza regulovatelných extracelulárními signály
FADD – doména smrti asociovaná s Fas
GABA – kyselina γ -amino-máselná
GM-CSF – faktor stimulující kolonie granulocytů a makrofágů
GPCR – receptory spřažené s G-proteiny
HPA – osa Hypothalamus – hypofýza – nadledviny, „Hypothalamic–pituitary–adrenal axis“
IL (1, 1b, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 17, 23) – interleukin (1, 1b, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 17, 23)
IFN (α , β , γ) – interferon (α , β , γ)
IKK – kináza regulátoru I κ B
IRAK 1/4 – kináza spojená s receptorem pro IL-1 1/4, „Interleukin-1 receptor associated kinase“
IS – imunitní systém
JNK – kináza fosforylující N-konce proteinu c-Jun, „c-Jun N-terminal kinase“
KOR – κ -opioidní receptor
LPS – lipopolysacharid
MAP kináza – proteinkinázy aktivované mitogenem
MCP-1 – chemoatraktantový protein monocytů 1
MIP-1 – zánětlivý protein makrofágů 1
MOR – μ -opioidní receptor
MRGPRX2 – GPCR receptor související s Mas signalizací 2
Myd88 – myeloidní diferenciační protein primární odpovědi 88
NK buňky – cytotoxické lymfocyty, „Natural killer cells“
NO – oxid dusnatý
NS – nervová soustava
OR – opioidní receptor
PI3K – fosfatidylinositol-3-kinázy
Rac-1 – G-protein, GTPáza
SNS – sympatický nervový systém
T_c – cytotoxické T-lymfocyty
T_h – pomocné T-lymfocyty
T_{reg} – regulační T-lymfocyty
TGF β – transformující růstový faktor β
TLR – povrchové receptorové proteiny rozeznávající cizí struktury, „toll-like receptor“
TNF α – faktor nádorové nekrózy α
TRAF 6 – adaptorový protein pro TNF receptor, „TNF receptor associated factor“
VEGF – vaskulární endotelový růstový faktor

1. Úvod

Důležitou součástí prozánětlivých imunitních reakcí je vnímání bolesti. V procesech potlačování nocicepce, jak fenomén vzniku a přenosu signálu o bolesti nazýváme, se setkáváme s působením opioidů, které se v mnohém podobají cytokinům. Stejně jako klasické cytokiny mohou být endogenní opioidy přirozeně secernovány samotnými buňkami daného organismu a jejich účinky mohou být autokrinní i parakrinní. Další podobnosti nacházíme v pleiotropním charakteru účinků, které jsou často závislé na množství dané látky, zacílení a načasování (Peterson et al., 1998). Receptory pro opioidy jsou běžně exprimovány buňkami nervové soustavy (NS), nicméně nalézáme je i v široké škále buněk účastnících se imunitních reakcí. Aktivací těchto receptorů dochází k individuálním modulacím imunitních funkcí, ale i k celkové regulaci proliferace a aktivace různých typů imunocytů (Brejchova et al., 2021). Předmětem této práce jsou ale především exogenní opioidy, které mohou zásadním způsobem interferovat s přirozenými regulačními procesy IS. Potlačování bolesti pomocí opioidních analgetik může být v pacientech provázeno supresí imunitního systému a při dlouhodobém užívání se často projevuje vysoký potenciál vzniku závislosti či tolerance. Imunomodulační efekty opioidů se mohou projevovat narušením produkce funkčních molekul (cytokinů, protilátek, enzymů atd.), indukci nestandardní aktivity nebo celkovou dysregulací proliferace a diferenciací imunocytů (Roy et al., 2011). V laboratorních podmínkách mohou vysoké dávky opioidů u myši vést dokonce ke znatelnému zakrnění lymfoidních orgánů (Arora et al., 1990).

Zajímavé je, že jednotlivé opioidní látky se svým vlivem na různé typy imunocytů mohou velmi lišit. V některých případech mohou být jejich účinky na tentýž buněčný typ zcela protichůdné. Stejně tak je tomu při působení jednoho typu opioidu na různé linie imunocytů (Filipczak-Bryniarska et al., 2018). Jedním důvodem je rozdílná míra exprese příslušných OR buňkami IS. Druhým důvodem je pak variabilita vztahů mezi opioidy a receptory. Opioidy, které interakcí s OR stimulují buňku ke konkrétní aktivitě, nazýváme agonisty. Morfin, stejně jako velká většina opioidních látek, je vysokoafinitním agonistou MOR a zároveň nízkoafinitním parciálním agonistou DOR a KOR. Některé opioidy ale mohou fungovat jako antagonisté, kteří blokují OR a tím zabraňují stimulaci dané buňky. Vzhledem ke strukturním rozdílům OR, se tyto dvě role nemusí vzájemně vylučovat. Např. buprenorfin je vysokoafinitním agonistou MOR a zároveň funguje jako antagonist DOR a KOR. Právě proměnlivost afinity a parciální interakce s více typy OR může využít moderní věda k navržení šetrnějších a efektivněji působících analgetik (Boland et al., 2014; Filipczak-Bryniarska et al., 2018; Z. Y. Wang et al., 2006).

Situaci ale poněkud komplikuje, že opioidní analgetika ovlivňují organismus jako celek. Na složky IS tedy nemusí působit přímo skrz jejich povrchové OR. Efekty opioidů mohou být zprostředkovány také některými částmi CNS, sympatikem či neuroendokrinním systémem (Budd, 2006). Zásadní vliv na opioidy indukovanou imunomodulaci má také stresová expozice organismu. Ať už se jedná o infekci,

mechanické narušení tkání, stres neurologického charakteru nebo kombinaci všech zmíněných faktorů, každý zásah do integrity organismu ovlivňuje citlivost IS k opioidním podnětům (Tseng et al., 2005). Navíc je nutné si uvědomit, že každá buněčná linie i každé stádium buňky reaguje na kontakt s opioidem zcela specifickým způsobem. Stejně tak se setkáváme s různými závěry při srovnání buněk naivních s buňkami, které už byly v minulosti působení opioidů vystaveny (Wilson et al., 2021).

Odhalení všech vztahů v rámci tohoto komplexního systému se zdá být skoro nemožné, nicméně každý nový poznatek významně přispívá k vytvoření lepší představy o efektech opioidů v kontextu fungování IS. Navzdory všem známým nevýhodám je potlačování bolesti s využitím opioidů stále v mnoha případech upřednostňováno, protože bolest sama může být imunosupresivní a opioidní analgetika zatím nebyla, co se účinnosti týče, překonána. Správné pochopení dynamiky interakcí opioidů s organismem by nám do budoucna umožnilo navržení nových efektivněji působících opioidních analgetik nebo alespoň nalezení vhodných alternativ ke stávajícím metodám potlačování bolesti. Cílem této práce je shrnutí dopadů užívání opioidních analgetik na úrovni jednotlivých buněčných linií imunocytů i jimi zprostředkovaných procesů na úrovni celého organismu.

2. Způsoby interakce opioidů s organismem

2.1. Opioidní receptory (OR)

Již dříve byla prokázána přítomnost opioidních receptorů v buňkách IS a jejich role v procesech imunomodulace (Radulović et al., 1996). Tyto receptory jsou exprimovány na povrchu imunocytů a řadíme je do rodiny receptorů spřažených s G-proteiny (GPCR). Ze strukturního hlediska je dělíme na receptory typu μ (MOR), δ (DOR) a κ (KOR). Zmíněné tři typy jsou tzv. klasické, setkat se ale můžeme i se čtvrtou skupinou – nociceptinovými receptory (NOP). NOP opět patří mezi GPCR, nicméně navzdory strukturní podobnosti je neřadíme mezi klasické OR. Primárním ligandem tohoto typu receptoru je nociceptin, nikoliv klasické opioidní molekuly. NOP navíc, na rozdíl od klasických OR, neinteragují s antagonistou naloxonem (Al-Hashimi et al., 2013). Přehled nejčastějších ligandů OR je uveden v tabulce (Tab1). Velká část imunomodulačních efektů opioidních látek na komponenty IS je zprostředkována právě těmito receptory (Kraus et al., 2006). Jejich stimulace pomocí endogenních (endorfiny, enkefaliny, dynorfin, atd.) i exogenních (morfin, fentanyl, buprenorfin) opioidů má za následek výkyvy v koncentraci produkovaných cytokinů a následně i protilátek (Bidlack, 2000). Dysregulace imunitní odpovědi nemusí být trvalá, nicméně při nadměrné stimulaci (dlouhodobá léčba, vysoké dávky) se prodlužuje doba nutná pro obnovení funkcí IS (Z. Y. Wang et al., 2006). Důležitým zjištěním je, že exprese těchto receptorů není (narozdíl od nervových buněk) v buňkách IS stabilním jevem. Mnohé studie si protiřečí v tom, na jakých buňkách a za jakých podmínek se receptory vyskytují (Gavériaux et al., 1995). Existují dokonce novodobé publikace, které přítomnost OR v imunocytech zcela vyvrací. V rámci těchto studií se nepodařilo detekovat funkční receptorové proteiny či příslušné transkripty. Naopak byla prokázána přítomnost NOP. Kuriózní je, že tyto studie využívaly ty samé analytické metody, kterými se již dříve povedlo expresi OR prokázat (Al-Hashimi et al., 2016; Williams et al., 2007). Vysvětlení přišlo se zjištěním, že indukce exprese receptorových proteinů je přísně regulována cytokiny. Tím je zajištěno, že syntéza opioidních receptorů v dané buňce citlivě reaguje na aktuální podmínky a požadavky IS (Kraus et al., 2001). Navíc na základě strukturních podobností transkriptů pro OR bylo prokázáno, že k jejich expresi jsou v buňkách IS využívány stejné geny, jako je tomu u buněk NS (Alicea et al., 1998; Gavériaux et al., 1995). Je ale důležité zmínit, že existují publikace, které popisují působení opioidních látek bez účasti OR. Kerros et al. (2010) tvrdí, že jeden z typických KOR agonistů U50,488 vykazuje přímý cytotoxický efekt při kultivaci lidských myelomových buněk. Aplikace vyšších dávek této látky vedla ke snížení schopnosti přechodu do S fáze buněčného cyklu a až 15% nárůstu apoptického chování imunocytů. Tento efekt nebyl zvrtný pomocí KOR antagonistů. Imunomodulační efekt opioidů může být i nepřímý – jak je nastíněno v kapitolách 2.2 a 2.3. Ke stimulaci OR dochází také v rámci NS, což může vést k supresi IS skrze složitější signalizační dráhy.

Tabulka 1 - Ligandy opioidních receptorů

Ligand	Příslušný OR	Vztah k OR	Původ
Buprenorfin	MOR NOP DOR, KOR	vysokoafinitní agonista slabý parciální agonista antagonista	exogenní
Diamorfin	(= heroin, metabolizován na morfin)		exogenní
Dynorfin	KOR MOR, DOR	vysokoafinitní agonista nízkoafinitní agonista	endogenní
Fentanyl	MOR DOR, KOR	vysokoafinitní agonista nízkoafinitní agonista	exogenní
Ketamin*	MOR, KOR	nízkoafinitní agonista	exogenní
Methadon	MOR DOR, KOR	vysokoafinitní agonista nízkoafinitní agonista	exogenní
Morfin	MOR DOR, KOR	agonista nízkoafinitní agonista	exogenní
Naloxon	MOR DOR, KOR	vysokoafinitní antagonist nízkoafinitní antagonist	exogenní
Naltrexon	MOR, KOR DOR	vysokoafinitní antagonist nízkoafinitní antagonist	exogenní
Nociceptin	NOP	vysokoafinitní agonista	endogenní
Oxykodon	MOR DOR, KOR	vysokoafinitní agonista nízkoafinitní agonista	exogenní
Tramadol	MOR DOR, KOR	vysokoafinitní agonista nízkoafinitní agonista	exogenní

* Ketamin (antagonista NMDA receptorů) není standardně řazen mezi opioidy, ačkoliv při vysokých dávkách se váže k OR.

Upraveno podle databáze **IUPHAR/BPS** (Armstrong et al., 2020)

2.1.1. μ -opioidní receptor (MOR)

Ze tří podtypů klasických opioidních receptorů jsou MOR tím nejvíce prozkoumaným. Dnes již víme, že jejich exprese je v buňkách IS stimulována cytokiny faktorem nádorové nekrózy α (TNF- α) a interleukinem 4 (IL-4) (Kraus et al., 2001, 2003). Konkrétně u T-lymfocytů je exprese MOR závislá na aktivaci transkripčních faktorů STAT6 a GATA3, přičemž IL-4 působí induktivně, zatímco interferon γ (IFN- γ) aktivaci zmíněných faktorů potlačuje. Zajímavé je, že tímto způsobem opioidy stimulují buňky k expresi dalších MOR, čímž zvyšují svůj vlastní potenciál (Kraus et al., 2006). Opioidy indukované zvyšování senzitivity buněk ke stimulaci MOR ostatně potvrzují i novější studie (Campana et al., 2010). Dalším regulačním cytokinem je faktor stimulující kolonie granulocytů a makrofágů (GM-CSF), který působí proti vlivu IL-4 a jehož účinky se projevují u monocytů a dendritických buněk. I zde je pro expresi MOR nezbytný STAT6. Je vhodné zmínit, že i jednonukleotidový polymorfismus v rámci IL-4

responzivního elementu má zásadní vliv na vazbu ke zmíněnému TF, čímž rozhoduje o výsledné expresi MOR v dané buňce. Tento polymorfismus by mohl vysvětlovat některé rozdíly v průběhu a výsledcích terapie bolesti u konkrétních pacientů (Kraus et al., 2001). Výše zmíněnou spojitost mezi užíváním opioidů a následným zvýšením citlivosti buněk k další opioidní stimulaci potvrzuje také studie týmu Liu et al. (2010). Lymfocyty dlouhodobě vystavené působení morfinu vykazují zvýšenou aktivitu fosfatidylinositol-3-kinázy (PI3K) a proteinkinázy B (Akt). Naopak aktivita fosfatázy PTEN a transkripčního faktoru p53 je inhibována. S tím souvisí zvýšení hladiny transkripčního faktoru E2F1, který se váže na specifické místo v promotoru genu po MOR a tím podporuje jeho transkripci.

2.1.2. δ -opioidní receptor (DOR)

Již dříve byla prokázána exprese DOR v T-lymfocytech, B-lymfocytech, monocytech a makrofázích (Carr et al., 1989; Wick et al., 1996), nicméně poznatky o jejich roli v modulaci aktivit IS nebyly od té doby nijak výrazně rozšířeny. Tento typ receptoru, resp. působení jeho agonistů je spojováno spíše s imunostimulačními účinky, které jsou přirozenou součástí regulačních procesů organismu. Imunosupresivní efekty, jako je snížení aktivity NK buněk, dysregulace proliferace B-lymfocytů, či pokles exprese cytokinů T-lymfocyty, byly naopak zjištěny při blokování DOR jeho antagonisty (naltridol, naltriben) (House et al., 1995). O negativním vlivu DOR agonistů pojednává Cheido et al. (1996). Stimulace DOR vedla k útlumu produkce IgM nepřímo skrz osu Hypothalamus – hypofýza – nadledviny (HPA). Moderní studie, které by se zabývaly konkrétními imunomodulačními vlivy stimulace DOR ve zdravých jedincích, chybí. Nicméně nová studie z roku 2021 upozorňuje na propojení opiátové terapie, DOR a zvýšeného rizika progresu rakoviny (Tripolt et al., 2021). Tomuto fenoménu se věnuje kapitola 4.3.

2.1.3. κ -opioidní receptor (KOR)

Transkripty genů pro KOR byly nalezeny v naivních T-lymfocytech, B-lymfocytech a makrofázích (Radulović et al., 1995; Wick et al., 1996). Exprese KOR je v makrofázích přirozeně up-regulována působením prozánětlivého cytokinu IFN- γ , jak bylo prokázáno pomocí aplikace dynorfinu. Stimulace KOR indukuje signalizaci zahrnující fosforylaci mitogenem aktivovaných proteinkináz (MAP kináz) – konkrétně kináz regulovatelných extracelulárními signály (ERK 1/2) (Gabrilovac et al., 2012). Užívání opioidů může v cílových buňkách vést ke snížení produkce cytokinů nebo celkovému narušení proliferace a v případě dlouhodobé stimulace dokonce k nevratnému snížení exprese KOR. Nicméně tyto efekty nejsou napříč jednotlivými liniemi buněk IS konstantní. Můžeme se tedy domnívat, že exprese KOR reaguje na aktuální podněty a není pro všechny tyto linie společná (Guan et al., 1997; Shahkarami et al., 2019).

2.1.4. Nociceptinový opioidní receptor (NOP)

Přítomnost NOP byla potvrzena u monocytů, T-lymfocytů, B-lymfocytů, neutrofilů a NK buněk v periferní krvi (Serhan et al., 2001; Williams et al., 2007). Exprese je v těchto buňkách up-regulována pomocí MAP kináz (ERK, JNK, p38) a transkripčního faktoru NF- κ B v návaznosti na prozánětlivé podněty (L. Zhang et al., 2019). Stimulace NOP ve spojitosti se zánětlivou stimulací vede ke zvýšení produkce TNF- α , IFN- γ , interleukinu 1 β (IL-1 β) a interleukinu 2 (IL-2) v buňkách sleziny a thymu (Goldfarb et al., 2006). Nociceptin, přirozený agonista NOP, je běžně produkován buňkami NS. Zajímavé ale je, že k jeho expresi dochází i ve výše zmíněných buňkách exprimujících nociceptinový receptor. Rychlost, s níž neutrofilové exocytují svá granula, s velkou pravděpodobností vylučuje variantu zánětem indukované de-novo syntézy. Vše nasvědčuje tomu, že exprese nociceptinu v buňkách IS je konstitutivní a má význam pro regulaci sebe sama i ostatních imunocytů (Fiset et al., 2003; Williams et al., 2008). Vzhledem k tomu, že opioidy zřejmě mohou indukovat degranulaci u žírných buněk (Schmidt-Rondon et al., 2018), nabízí se otázka: Mohou běžně užívaná analgetika indukovat sekreci nociceptinu v granulocytech? Jak již bylo zmíněno, NOP neřadíme mezi klasické OR. Aktivita tohoto receptoru byla detailně popsána ve vztahu k nociceptinu a jeho analogům, moderní poznatky o interakci s klasickými opioidy ale chybí. Závěry starších publikací mohou být samozřejmě zavádějící, přesto považuji za vhodné zmínit práci týmu Butour et al. (1997). V rámci této studie bylo zjištěno, že nociceptin vykazuje alespoň minimální afinitu ke všem třem základním typům OR a je schopen je aktivovat. Druhým zásadním poznatkem je, že některé další opioidy (lofentanil, etorfin) mohou být vázány nociceptinovými receptory. Bylo by vhodné pokusit se tato tvrzení podložit důkazy získanými spolehlivějšími novými metodami.

2.2. Osa hypotalamus – hypofýza – nadledviny (HPA)

Stres je v posledních letech jedním z nejkoumanějších faktorů ovlivňující imunitu. Je přirozenou reakcí na narušení integrity organismu. Při stresových reakcích dochází k aktivaci HPA a kaskádové produkci stresových hormonů. Hypotalamický hormon kortikoliberin indukuje uvolňování adrenokortikotropního hormonu z hypofýzy. Tím jsou pak stimulovány nadledviny k tvorbě glukokortikoidů, tedy kortikosteronu a kortisolu, které dále ovlivňují komponenty IS (Dunn, 2007). K aktivaci HPA a následné imunomodulaci ale dochází i působením opioidních látek, a to skrze více typů receptorů. Bylo prokázáno, že k modulaci aktivity HPA může docházet v závislosti na konkrétním opioidu skrze MOR, DOR i KOR (Iyengar et al., 1987). Jak ale tvrdí Franchi et al. (2007), ne všechny opioidy mají vůči HPA stejné induktivní účinky. Ve své publikaci zabývající se myšími NK buňkami pracují s hypotézou, která tvrdí, že efekt různých opioidů závisí na rozdílné schopnosti stimulovat různé typy OR. Srovnání vlivu tří různých opioidních analgetik ukázalo, že zatímco morfin a fentanyl způsobují aktivaci HPA a tím i pokles aktivity NK buněk, buprenorfin tyto vedlejší efekty nevykazuje. Aktivace HPA hraje významnou roli také v regulaci produkce cytokinů v imunocytech. Příkladem takovéto modulace je např. morfinem

indukované uvolňování glukokortikoidů ve virem (*Herpes simplex*) infikovaných myších. Konkrétně dochází ke zvýšení hladiny IFN- β následované snížením hladiny IFN- γ . Souvisejícím jevem je i zesílené uvolňování IFN- α za současného poklesu produkce interleukinu 12 (IL-12). Aplikace RU486, antagonisty receptorů pro glukokortikoidy, vedlo jen k částečné inhibici účinků morfinu, a to v případě IFN- β a IFN- γ . Citlivost HPA vůči stimulaci morfinem je v tomto případě zjevná, nicméně mechanismus, který dysbalanci v produkci cytokinů způsobuje, není jasný (Sheridan & Moynihan, 2005). Zajímavým zjištěním je, že citlivost regulačních procesů na rozhraní cytokinů a HPA vůči opioidním podnětům je rovněž individuální. V populaci se vyskytuje polymorfismus v genu pro IL-1 β ovlivňující reaktivitu HPA ve vztahu k opioidní stimulaci. Tento cytokin přímo ovlivňuje uvolňování kortikoliberinu z hypothalamu. Zmiňovaný polymorfismus spočívá ve dvou možných jednonukleotidových rozdílech v sekvenci promotoru genu pro IL-1 β . Nositelé nestandardních alel vykazují po aplikaci oxykodonu výrazně zvýšenou hladinu kortisolu – probíhá u nich silnější stresová reakce. Tito jedinci se potýkají s výrazně nižším rizikem vzniku závislosti (Kershaw et al., 2015).

2.3. Sympatikus (SNS)

Sympatický nervový systém hraje mimo jiné roli při přirozené analgesii v místě zánětu. Jeho nervová zakončení stimulují endoteliální buňky cév ke zvýšené expresi adhezivních molekul (např. intracelulární adhezivní molekuly ICAM-1), které zprostředkovávají diapedézu imunocytů nesoucích endogenní opioidy (Mousa et al., 2010). SNS se ale pod vlivem opioidů může podílet taky na imunosupresivních procesech v organismu. Sympatická zakončení inervující lymfatické orgány (Felten et al., 1985) mohou zprostředkovávat nepřímé imunomodulační efekty morfinu. Přesný mechanismus zatím není znám, ale předpokládá se účast MOR v oblasti periakvaduktální šedé hmoty a ventrálního tegmenta. Morfin zde působí proti inhibičním účinkům kyseliny γ -amino-máselné (GABA), což vede k posílení dopaminergní signalizace směrem k nucleu accumbens (Saurer et al., 2006a). Toto zvýšení dopaminergní signalizace vede k uvolnění neuropeptidu Y ze zakončení sympatiku, což způsobí útlum aktivity splenických NK buněk (Saurer et al., 2006b). Odlišný mechanismus imunomodulace se uplatňuje při dysregulaci aktivit mitogenem stimulovaných T-lymfocytů. Morfin zde ovlivňuje jak produkci cytokinů (IL-2, IFN- γ), tak proliferaci (Fecho et al., 1993b) a diferenciaci buněk (Sanders et al., 1997). Tato dráha místo přímého kontaktu SNS s lymfoidní tkání zahrnuje stimulaci dřeně nadledvin k produkci katecholaminů aktivujících β -adrenergní receptory (Fecho et al., 1993a; Saurer et al., 2006b). Tento typ receptoru je v rámci IS exprimován makrofágy (Grisanti et al., 2010; Lamkin et al., 2016; Liggett, 1989), dendritickými buňkami (Hu et al., 2012) a některými T-lymfocyty (Sanders et al., 1997). Opět se jedná o receptory spadající mezi GPCR. Jsou spouštěči kaskády vedoucí v cílových buňkách ke zvýšení produkce cyklického adenosinmonofosfátu (cAMP) a následné fosforylaci CREB pomocí protein kinázy A. Konečným efektem může být snížení produkce IL-2 či IL-12, dysregulace další diferenciaci Th

buněk nebo inhibice signalizace pomocí receptorů T-buněk. Naopak u aktivovaných B-lymfocytů může vést k posílení produkce imunoglobulinů IgG a IgM (Araujo et al., 2019; Bauman et al., 1994; Wong et al., 2007). Stejným způsobem je potlačována exprese TNF- α v makrofázích aktivovaných kontaktem s lipopolysacharidem (LPS). Tento jev je zvrtný pomocí naloxonu, což opět naznačuje zapojení klasických OR (Bencsics et al., 1997). Působení morfinu v neurální tkáni ale nemusí souviset pouze s ovlivněním signalizace, jeho dopady mohou být mnohem závažnější. Zkoumání interakcí morfinu s NS na hladavcích *in vivo* odhalilo, že morfin může k buňkám v oblasti prefrontálního kortexu a výše zmíněného nucleu accumbens vykazovat přímý cytotoxický efekt (Katebi et al., 2013).

3. Vliv opioidních látek na komponenty IS

3.1. B-lymfocyty

B-lymfocyty jsou základním buněčným typem vrozené imunity. Jimi zprostředkovaná produkce vhodných protilátek je klíčová pro zvládnutí širokého spektra infekcí. Jedním z přirozených regulačních mechanismů humorální imunity je endogenní stimulace klasických OR. Je tak např. negativně ovlivňována exprese cytokinu interleukinu 6 (IL-6), na níž přímo závisí produkce IgG (Morgan, 1996). Navzdory původním publikacím, které tvrdily, že exogenní opioidní látky jako morfin či kokain nemají na aktivitu B-buněk prokazatelný vliv (Martinez & Watson, 1990), dnes existuje několik důkazů potvrzující opak. Například stimulace KOR na povrchu splenických plasmatických buněk příslušnými agonisty způsobuje snížení produkce hemagglutininu a hemolysinu. Míra citlivosti k tomuto podnětu je ale vysoce individuální a nejspíše závisí na síle exprese KOR v buňkách daného jedince (Radulović et al., 1995). Vliv celého spektra opioidů byl posuzován z hlediska produkce cytokinů a imunoglobulinů u několika linií B-lymfocytů (U266, LP-1, RPMI 8226, klasické lidské lymfocyty z periferní krve). Nízké koncentrace opioidů vyvolávaly snížení produkce IgG v linii LP-1. Naopak vysoké koncentrace stimulovaly U266 buňky k produkci IgE a IL-6. V linii RPMI 8226 morfin inhiboval produkci interleukinů 8 a 10 (IL-8 a IL-10). V klasických B-buňkách došlo ke snížení produkce IgG, IgA a IgM. Překvapivě byly odhaleny dvě varianty signalizace, skrz něž je zprostředkována modulace aktivity B-lymfocytů. V rámci dráhy typické pro myelomové buněčné linie dochází vlivem opioidů k přerušení signalizace mezi PI3K a Akt, přičemž aktivace regulačního faktoru I κ B- α je rovněž utlumena. Naproti tomu dochází k výraznému posílení aktivity kináz p38 a JNK, což má za následek aktivaci transkripčních faktorů CREB a c-jun. Naopak stimulace klasických B-lymfocytů vede k prvotnímu poklesu aktivity p38 a funkčnost JNK nejspíš není ovlivněna vůbec. Suprese signalizace mezi PI3K a Akt přichází s mírným zpožděním (Vassou et al., 2008). Se zajímavou informací přišla studie z roku 2005, která tvrdí, že ještě silnější vliv na produkci imunoglobulinů, než má samotný morfin, můžeme pozorovat u jeho metabolitů (Hashiguchi et al., 2005). Vzhledem k variabilitě exprese OR napříč použitými buněčnými liniemi se jeví jako pravděpodobné, že efekty opioidů nejsou nutně zprostředkovány pouze přímou stimulací OR na

povrchu imunocytů (Vassou et al., 2008). Jak již bylo zmíněno v předchozích kapitolách, do působení opioidů bývá někdy zapojena signalizace skrz HPA či SNS. Navíc bylo zjištěno, že opioidní látky mohou být transportovány skrz buněčnou membránu (Wandel et al., 2002), ačkoliv poznatky o jejich intracelulárním působení jsou zatím jen spekulativní. Je tedy pravděpodobné, že produkce protilátek a cytokinů v rámci humorální imunity je v jeden okamžik ovlivňována několika regulačními drahami najednou.

3.2. T-lymfocyty

Účinnost adaptivní imunity velkou měrou závisí na přítomnosti funkčních T-lymfocytů. Ty se účastní specifických imunitních odpovědí, ale také procesů protinádorové imunity a autoregulace IS. Jak bylo v této práci již zmíněno, T-lymfocyty exprimují MOR a tato exprese je běžně regulována cytokiny. Konkrétně přirozený antagonismus IL-4 a IFN- γ je klíčový pro diferenciaci prekurzorů T-lymfocytů ve funkční Th1 a Th2 buňky. Indukce pomocí IL-4 závisí na transkripčních faktorech STAT6 a GATA3, s jejichž aktivací právě IFN- γ interferuje (Kraus et al., 2006). Opioidní stimulace těchto buněk skrz MOR vede ke snížení produkce IFN- γ za účasti cAMP-dependentní dráhy. Nedochozí zde k fosforylaci MAP kináz typu ERK. Transkripční faktory NF-AT a NF- κ B jsou tímto způsobem negativně regulovány (Wang et al., 2003), což má za následek zvýšenou expresi MOR a dysregulaci diferenciaci prekurzorů ve prospěch Th2 (Kraus et al., 2006). Konkrétní vliv morfinu na populaci pomocných T-lymfocytů byl v minulém roce demonstrován týmem Han et al. (2020). Naivní Th buňky stimulované morfinem ve zvýšené míře exprimují IL-4 a transkripční faktor GATA3, který je následně aktivován spolu s proteinkinázou C. To vše přispívá k posílení diferenciaci těchto buněk ve prospěch typu Th2 (Han et al., 2020). K dysregulaci proliferace a snížení funkčnosti T-lymfocytů běžně dochází i vlivem pooperačního stresu. Tento stav je ale často ještě zhoršován podáváním opioidních látek během rekonvalescence, která je tím výrazně zpomalena. Nejvýraznější zpoždění při obnovování populace T-lymfocytů vyvolává podávání morfinu, mírnější účinky má tramadol. Nejlepší výsledky z tohoto hlediska poskytuje kombinace tramadolu s lornoxikamem (Wang et al., 2006). Použití methadonu, oxykodonu a diamorfinu sice nemá přímý vliv na diferenciaci, ale zase v cílových buňkách potlačuje produkci cytokinu IL-6 (Boland et al., 2014). Další nevýhodou morfinu může být i to, že jedním z jeho vedlejších efektů, jak již bylo řečeno v kapitole 2.1.1, je zvyšování vlastního potenciálu. Při dlouhodobém podávání morfinu dochází u pacientů k postupnému posilování exprese MOR na povrchu T-buněk (Campana et al., 2010). V některých případech bylo prokázáno, že morfin samotný přímo indukuje apoptickou smrt T-lymfocytů. Studie z roku 2006 pracuje s morfinem indukovanou signalizací zahrnující tzv. death doménu asociovanou s Fas (FADD) a transkripční faktor p53. Zároveň dochází k útlumu inhibičních účinků PI3K, Akt a NF- κ B, které jsou zapojeny do signalizace nezbytné pro přežití (Yin et al., 2006). Aktivace odlišné dráhy byla potvrzena při použití myšího modelu s nádorem

plic. V tomto případě byla detekovatelná specifická signalizace v rámci populace cytotoxických T-lymfocytů. Aplikace morfinu zde způsobila útlum diferenciaci směrem k Tc a zároveň došlo k dysregulaci Bax/Bcl-2 signalizace v již diferencovaných lymfocytech, což vedlo k selektivnímu navození apoptózy těchto buněk (Cheng et al., 2006).

V praxi se efektivita klasických opioidních látek často zvyšuje kombinací s doplňujícími analgetiky. Bohužel i ta často přispívají nežádoucím způsobem k celkovému oslabení IS. Problematický je např. ketamin, který působí synergicky se širokou škálou opioidů a může v některých případech interagovat s klasickými OR. Aplikace ketaminu vede v cílových buňkách k signalizaci zahrnující aktivaci MAP kinázy ERK1/2 (Gupta et al., 2011; Hirota et al., 1999). Nízké koncentrace ketaminu podávané spolu s morfinem navozují u T-lymfocytů aktivaci mitochondriální apoptické dráhy, podávání dávek o vyšších koncentracích vede až k nekrotickému odumírání (Braun et al., 2010). Zcela specifická negativa kombinované terapie můžeme pozorovat u onkologických pacientů. Podávání analgetik u nich vede k posunu diferenciaci T-lymfocytů ve prospěch pomocných buněk (Th) a k vyššímu počtu aktivních Treg buněk (Hou et al., 2016). Zároveň ale morfin výrazně snižuje zastoupení Th1 buněk v periferní krvi. Nižší dávky ketaminu (50 μ M) naopak zvyšují poměr Th1 vůči Th2. Vyšší dávky ketaminu (100 μ M) způsobují pokles v počtu Th1 i Th2, přičemž vyšší poměr Th1 vůči Th2 je zachován (Hou et al., 2019). Nicméně k modulacím aktivity T-lymfocytů nedochází vždy pouze vlivem morfinu či prostřednictvím MOR. Aplikace KOR agonistů (např. U50,488H) rovněž způsobuje útlum proliferace T-buněk provázený snížením produkce IL-2. Tento efekt můžeme pozorovat u lymfocytů v thymu, které byly aktivovány bakteriálním superantigenem. Stimulace buněk v lymfatických uzlinách tento efekt nemá. Vzhledem k rozdílné míře exprese KOR různými typy buněk IS ale není zcela jasné, jestli dochází k přímé interakci s těmito buňkami, nebo jde o nepřímé ovlivňování (Guan et al., 1997).

Imunomodulace aktivity T-lymfocytů exogenními opioidy skrz ostatní typy OR je zatím spíše hypotetická. Nicméně víme, že endogenní opioidy hrají v regulaci těchto buněk důležitou roli. Aktivace NOP za současné kostimulace CD80 a CD86 způsobuje posílení exprese IFN- γ provázené snížením produkce transformujícího růstového faktoru β (TGF- β) a oxidu dusnatého (NO). V daných buňkách tak dochází k produkci indolamin-2,3-dioxygenázy, což následně vede k útlumu proliferace T-lymfocytů (Easten et al., 2009). Účast DOR je zase nezbytná pro selekci funkčních T-lymfocytů v thymu. Knock-out genu pro expresi DOR u myšího modelu zamezuje navození apoptózy u nestandardně se chovajících buněk (McCarthy et al., 2004). Zůstává otázkou, jestli jsou exogenní opioidy schopné s těmito drahami interferovat.

3.3. NK buňky

Jedním z agresivních typů lymfocytů jsou tzv. NK buňky. V rámci organismu se díky svému cytotoxickému charakteru podílí na likvidaci napadených či jinak poškozených buněk a následně

mohou k aktivitě stimulovat i ostatní typy imunocytů. Útlum aktivity NK buněk způsobený administrací opioidních látek je ukázkovým příkladem složitosti vzájemných vztahů regulačních mechanismů IS. Na základě rozsáhlého srovnání působení opioidních látek na NK buňky pomocí *in vitro* kultivace bylo zjištěno, že k modulaci cytotoxicity dochází skrz receptory typu MOR a KOR. Jako účinné supresory aktivity NK buněk se ukázaly morfin, methadon, buprenorfin a loperamid, přičemž jejich působení bylo zvrátne pomocí naloxonu (Maher et al., 2019). Zajímavé je, že stejným týmem bylo o rok později prokázáno, že stimulace MOR či KOR vede v cílových buňkách paradoxně k posílení sekrece granzymu A a B – enzymů umožňujících eliminaci buněk určených k apoptóze. Stejně tak interakce morfinu s toll-like receptory (TLR4) vyvolává ve zmíněných buňkách posílení produkce IL-6. Vzhledem k těmto výsledkům by mělo dojít naopak k posílení cytotoxicity NK buněk. Aktivita těchto lymfocytů je ale přísně regulována, proto je pravděpodobné, že útlum cytotoxicity je následkem dysbalance v produkci funkčních molekul. Podle týmu Maher et al. (2020) může být snížená efektivita v chování NK buněk připisována i morfinem způsobenému oslabení mezibuněčných interakcí mezi lymfocitem a likvidovanou buňkou. Naopak na nepřímé ovlivňování cytotoxicity ukazuje studie, která NK buňky podrobila působení hned několika typů opioidů. Přímá kultivace buněk s morfinem, methadonem, fentanylem ani diamorfinem navzdory poznatkům z lékařské praxe nevedla k očekávanému útlumu aktivity imunocytů. Boland et al. (2014) v této studii tvrdí, že pokud je aktivita NK buněk ovlivňována, tak skrze složitější *in vivo* fungující mechanismy. Jak již bylo v této práci zmíněno, existují dvě dráhy (kapitoly 2.2 a 2.3), jimiž může být aktivita NK buněk nepřímo regulována. Morfin může působit na receptorovém rozhraní v nucleu accumbens, odkud se supresivní signalizace šíří sympatickými nervy k cílovým buňkám v lymfoidních orgánech (Saurer et al., 2006a; Saurer et al., 2006b). Druhou variantou je účast osy HPA. Tomuto fenoménu se věnuje studie z roku 2007 využívající myší model k simulaci pooperačního stresu a ke zkoumání následků opiátové terapie. Stimulace morfinem a fentanylem vedla ke zvýšení hladiny kortikosteronu provázenému poklesem aktivity NK buněk. Tento efekt se paradoxně uplatňoval silněji u zvířat, která sloužila jako kontrolní a nebyla operována. Naproti tomu u buprenorfinu nebyl pozorován vliv na hladinu kortikosteronu, ani na aktivitu NK buněk. Na rozdíl od výše zmíněných opioidů je buprenorfin jen částečným agonistou MOR a zároveň funguje jako antagonistu KOR. Je možné, že díky těmto rozdílům jeho působení neinterferuje s aktivitou HPA (Franchi et al., 2007). Úzké propojení opioidních látek s funkcí NK buněk je zřejmé, ale dynamika tohoto vztahu není jednoduchá a vyžaduje další zkoumání. Jedním z důležitých témat jsou změny efektů morfinu na NK buňky v čase. Starší studie pracující s myším modelem tvrdí, že po dvaceti dnech podávání morfinu vzniká tolerance, supresivní efekt odeznívá a aktivita lymfocytů je časem obnovena (West et al., 1997). Proti tomu stojí novější výsledky *in vivo* pozorování u lidských pacientů. Dlouhodobá terapie vedla ke znatelnému snížení počtu aktivních NK buněk přetrvávajícímu až 2 roky po administraci (Campana et al., 2010).

3.4. Granulocyty

Granulocyty v čele s neutrofilny jsou klíčovými komponenty IS při zánětlivých procesech organismu. Pro zánětlivé signály je naváděn do místa poškození a indukují v nich degranulaci funkčních molekul, které zprostředkovávají jak atrakci dalších složek IS, tak často i přímou likvidaci patogenních agens. K aktivaci neutrofilů a následnému vzniku zánětu dochází např. v závislosti na makrofágy produkovaném IL-6. Zajímavým zjištěním je, že poměr mezi aktivními neutrofilny a lymfocyty by mohl být využíván jako parametr určujících úspěšnost analgezie, např. u pacientů v paliativní péči, kteří nedokážou vyjádřit míru bolesti, kterou pociťují (Canbolat et al., 2019). Jak si ale můžeme být u takových pacientů jistí, že je analgezie účinná, jestliže použitá analgetika mohou interferovat s aktivitou detekovatelného množství neutrofilů a zkreslovat tak výsledky rozborů? To, že opioidy skutečně ovlivňují funkčnost granulocytů, potvrzuje např. Lin et al. (2013). V rámci experimentu byl hlodavcům se simulovaným infarktem myokardu podáván KOR agonista U50,488H. Na základě detekce nestandardně nízké hladiny myeloperoxidázy byl odhalen útlum v pronikání neutrofilních granulocytů do postižené tkáně. Vlivem opioidu tedy došlo k umlčení jedné ze složek zánětu (Lin et al., 2013). Negativní vliv na funkci myeloperoxidázy vykazuje také morfin. V principu se jedná o přímou inhibici aktivity tohoto enzymu. Stejná hydroxylová skupina, která zajišťuje interakci s OR, nejspíš funguje jako antioxidantní agens, který blokuje aktivní místo zmíněného enzymu. Nicméně tento efekt nastává pouze za určitých sterických podmínek a je reverzibilní (Nyssen et al., 2018). Naopak ke zvýšení aktivity granulocytů dochází stimulací DOR. V závislosti na koncentraci podávaného opioidu dochází ke zvýšení exprese DOR, receptorů pro imunoglobuliny a receptorů pro složky komplementu. Produkce reaktivních kyslíkových radikálů v rámci oxidativního vzplanutí se zvyšuje až o 40 % (Menzebach et al., 2003).

3.5. Monocyty a makrofágy

Monocyty a z nich vznikající makrofágy jsou nezbytné pro rozpoznávání a likvidaci cizorodých částic. Díky schopnosti tyto částice fagocytovat a jejich fragmenty následně prezentovat dalším efektorovým buňkám IS je s dendritickými buňkami souhrnně nazýváme antigen-prezentující buňky (APC). Tyto imunocyty na svém povrchu exprimují všechny tři základní typy OR, i zde tedy dochází k modulaci aktivity opioidními ligandy. Hatsukari et al. (2006) tvrdí, že monocyty stimulované morfinem vykazují sníženou schopnost migrace a dochází u nich k potlačení přeměny v aktivované makrofágy. Dalším negativním dopadem stimulace MOR je také inhibice fagocytózy. Dlouhodobé užívání morfinu vede ve fagocytujících buňkách k akumulaci cytosolického cAMP, což má za následek zvýšenou aktivitu proteinkinázy A. Ta zamezuje aktivaci GTPázy Rac-1 a MAP kinázy p38, čímž se podílí na narušení funkčnosti aktinového cytoskeletu. Současně morfin blokuje signály pro internalizaci imunoglobulinových receptorů s navázaným ligandem a tím u makrofágů navozuje neschopnost pohlcovat malé opsonizované částice (Ninkovic & Roy, 2012). Dalším z negativních efektů, který je

znám už delší dobu, je indukce apoptického chování makrofágů. Morfinem stimulované makrofágy vykazují vysoké hladiny transkriptů inducibilní isoformy NO syntázy a s tím související zvýšenou produkci NO. Dále se v takových buňkách hromadí transkripční faktor p53 a apoptický regulátor Bax. Vzhledem k tomu, že p53 je marker poškození DNA a inhibitory NO syntázy snížily morfinem indukovanou apoptózu, se předpokládá, že apoptóza je výsledkem morfinem zvýšené produkce NO (Singhal et al., 1998). Podobné informace vyplývají i ze studie srovnávající účinky morfinu, buprenorfinu a oxykodonu na modelu myších makrofágů. Administraci morfinu provázela intenzivnější zánět a vznik otoku v modelu kontaktní hypersenzitivity, opačný účinek měli oxykodon a buprenorfin. Buprenorfin, morfin i oxykodon stimulovaly buňky k produkci NO, nicméně produkce reaktivních kyslíkových radikálů byla podpořena pouze buprenorfinem, morfin měl neutrální efekt a oxykodon ji potlačoval. Morfin pak v makrofázích potlačoval expresi povrchových molekul (CD80, CD86, CD40, CD11b a CD14). Buprenorfin a oxykodon vykazovali rozdílné účinky od potlačení až po posílení jejich exprese v závislosti na populaci makrofágů. Všechny tři zkoumané opioidy svým působením výrazně ovlivňují potenciál makrofágů jako APC (Filipczak-Bryniarska et al., 2018). Poměrně novou informací ale je, že morfin může paradoxně aktivitu makrofágů i zvyšovat. Je tomu tak v případě mikroglíí uplatňujících se při udržování integrity CNS. Aplikace morfinu je zde obzvláště problematická, protože nadměrná prozánětlivá aktivita v nervové tkáni může být fatální. Hromadění mikroglíí vlivem morfinu v rámci poškozené tkáně CNS je spojováno s nižší pravděpodobností obnovení motorických a senzorických funkcí, s úbytkem zdravé nervové tkáně a v konečném důsledku i s nižší pravděpodobností přežití (Aceves et al., 2019).

S použitím myšího modelu bylo prokázáno, že nižší dávky KOR stimulantů způsobují dysregulaci endotoxinem (LPS) indukované produkce cytokinů interleukinu 1 (IL-1) a TNF α v aktivovaných makrofázích. Vyšší dávky pak negativně ovlivňují i produkci IL-6 (Alicea et al., 1996). Aktivace KOR může obecně vést k útlumu aktivity a proliferace makrofágů i přes zvýšené indukční dávky bakteriálních toxinů. Nicméně, jak již bylo zmíněno, ne všechny linie imunocytů exprimují KOR rovnocenně, a proto nejsou tyto poznatky absolutně aplikovatelné ve všech případech (Guan et al., 1997).

3.6. Dendritické buňky

Specifické reakce vyvolané opioidními látkami můžeme pozorovat u dalších imunocytů ze skupiny APC – dendritických buněk. V rámci jejich jednotlivých subpopulací je v tomto ohledu poměrně vysoká míra variability. Zajímavé výsledky poskytuje např. srovnání myeloidní a plazmacytoidní linie ve studii, ve které byl jako modelový organismus byl vybrán *Makak rhesus*, jehož dendrocyty byly stimulovány k proliferaci cílenou virovou infekcí (konkr. virem opičí imunodeficiency). Aplikace morfinu po infekci virem vedla k výraznému snížení počtu volných myeloidních imunocytů v periferní krvi. Naproti tomu populace plazmacytoidních buněk byla morfinem stimulována k proliferaci, a to i v případě kontrolní

skupiny, která nebyla infikována. Zmíněné efekty morfinu byly dočasné (Cornwell et al., 2016). Mezi další vedlejší efekty morfinu patří dysregulace produkce cytokinů. Běžně užívané analgetické dávky způsobují výrazné snížení produkce interleukinu 23 (IL-23) v myších dendrocytech infikovaných streptokokem (*S. pneumoniae*). Exprese tohoto cytokinu je ve zmíněných buňkách indukována bakteriální infekcí, která aktivuje receptory TLR2. Odtud signalizace pokračuje přes Myd88 a IRAK1/4 směrem k transkripčním faktorům. Za běžných okolností by následovala aktivace interferonového regulačního faktoru 3 (IFR3), na němž je závislá produkce IL-23. Chronické působení morfinu v dendrocytech inhibuje aktivitu adenylátcyklázy, což vede k poklesu hladiny intracelulárního cAMP. Buňka na to následně reaguje hromaděním cAMP, což způsobuje, že aktivace IFR3 je inhibována a IL-23 nemůže být exprimován (Jing et al., 2010; J. Wang et al., 2011).

Výsledky zkoumání vlivu morfinu na DC ale nejsou vždy takto jednoznačné. Sporné se ukázaly být informace týkající se sekrece IL-10 nebo role DC jako APC. Studie z roku 2006 tvrdí, že LPS-indukovaná maturace dendritických buněk je po aplikaci morfinu provázena nestandardně zvýšenou expresí HLA-DR, CD83 a CD86. Stimulace již zralých buněk pak vyvolává zvýšení produkce IL-12 a naopak snižuje produkci IL-10. Morfin, jehož efekt je s největší pravděpodobností zprostředkován MAP kinázou p38, v tomto případě zvyšuje potenciál dendritických buněk jako APC (Messmer et al., 2006). Existuje ale novější publikace, která tyto poznatky vyvrací. Píše se v ní, že morfin zabraňuje aktivaci ERK1/2 a defosforylaci MAP kinázy p38, čímž negativně ovlivňuje maturaci DC. V rámci stejné studie byl dále zaznamenán pokles sekrece IL-6 a TNF α , zatímco produkce IL-10 vzrostla. Administrace morfinu také obecně snížila schopnost pozorovaných DC stimulovat cytotoxické T-lymfocyty k efektivní protinádorové aktivitě (Chang et al., 2016). Messmer et al. ale v rámci starší studie poznamenává, že nezralé dendritické buňky na svém povrchu exprimují všechny tři základní typy OR. Je tedy možné, že působení opioidů je specifické pro jednotlivé linie DC právě podle toho, v jakém poměru jsou na jejich povrchu přítomny dané receptory.

3.7. Mastocyty

Mastocyty neboli žírné buňky v rámci organismu zprostředkovávají agresivnější nespécifickou odpověď na patogenní podněty. Opioidní látky vykazují ve vztahu k žírným buňkám silné indukční účinky. Široké spektrum opioidů, vč. jejich metabolitů, stimuluje tyto buňky k vyšší aktivitě a tím podporuje vznik zánětu. Síla celkového efektu je podle všeho přímo úměrná dávkování a době, po kterou jsou buňky působení opioidu vystaveny. Vlivem takové stimulace mastocytů dochází k posílení jejich proliferace a migrace směrem k poškozené tkáni (zranění, místo chirurgického zákroku). Mimo jiné bylo zjištěno, že morfin může dokonce sám fungovat jako účinný chemoatraktant. Nicméně nejdůležitějším projevem opioidních látek je pravděpodobně jejich schopnost navození degranulace v cílových buňkách. Takto indukovaná degranulace vyvolává nepřiměřenou zánětlivou reakci, která

negativně ovlivňuje nejen nejbližší okolní tkáň ale mnohdy i integritu celého organismu (Schmidt-Rondon et al., 2018; Wypasek et al., 2011). Při morfinem indukované exocytóze se uvolňují látky jako histamin a serotonin, proteázy, chemokiny či prozánětlivě působící cytokiny (IL-8, MCP-1, MIP-1, TNF). Je zajímavé, že morfin v případě serotoninu ovlivňuje, kromě jeho sekrece, také samotnou produkci, která může být vlivem tohoto opioidu zvýšena až na 162 % (Manning et al., 2012). Tyto dílčí efekty mají za následek zvýšení propustnosti cévních stěn, vazodilataci, snížení tlaku a následně vznik otoku. Dále dochází ke zvýšení aktivity fibroblastů a k akumulaci dalších buněk IS podílejících se na zánětlivé reakci (Schmidt-Rondon et al., 2018; T. Zhang et al., 2019). Při dlouhodobé aplikaci morfinu bývá zánět navíc provázen vznikem lokálních granulomatózních útvarů. Granulomy pak fyzicky utlačují okolní tkáň a blízká nervová zakončení, čímž mohou negativně přispívat k míře vnímané bolesti (Yaksh et al., 2013; T. Zhang et al., 2019). Na základě detekce hladin tryptázy a β -hexosaminidázy v nádorových tkáních byla prokázána zvýšená lokální aktivita žírných buněk. Nalezené buňky navíc vykazovaly zvýšenou míru exprese cytokinů GM-CSF a RANTES, jimiž jsou lákány a aktivovány další mastocyty (Nguyen et al., 2014).

Ani zde se ale nevyhneme kontradikcím. Navzdory tomu, co bylo řečeno výše, existuje studie z roku 2013, která tvrdí, že jedním z efektů morfinu je naopak suprese uvolňování cytokinů mastocyty. Konkrétně se tento jev týká produkce TNF. Nedochozí k inhibici de-novo syntézy, jak by se dalo očekávat, ale k zadržování nasyntetizovaného TNF pomocí umlčování TLR4 signalizace. Klasická dráha směřující v mastocytech k sekreci TNF zahrnuje mimo jiné kinázu regulátoru I κ B (IKK). Inaktivovaná IKK tvoří komplex s proteinem SNAP23, který je na základě signálu aktivujícího IKK fosforylován, což za normálních okolností vede k sekreci TNF. V přítomnosti morfinu ale tento krok nenastane, protože IKK nemůže být aktivována. Klíčový protein TRAF6 spojující TLR4 se zbytkem sekreční signalizační dráhy je blokován β -arrestinem. Morfin zde s největší pravděpodobností působí skrz heterodimerní receptorové komplexy MOR/DOR (Madera-Salcedo et al., 2013).

Nicméně induktivní účinky morfinu mohou být zprostředkovávány i jinak než klasickými OR. Ve studii zabývající se korelací mezi aplikací morfinu a výskytem granulomů bylo překvapivě zjištěno, že efekty morfinu nejsou v tomto konkrétním případě zvrtné pomocí typických receptorových antagonistů. Naltrexon ani naloxon nedokázaly efektivně potlačit působení morfinu (Yaksh et al., 2013). Později se ukázalo, že opioidy mohou interagovat s povrchovými molekulami, které jsou exprimovány některými liniemi mastocytů a jsou klíčové pro celé spektrum jejich aktivit. Jedná se o receptory rodiny GPCR souvisejícími s Mas signalizací (konkr. typu X2) – tedy MRGPRX2 (Lansu et al., 2017). Důležitým zjištěním také je, že výše zmíněná morfinem indukovaná aktivace mastocytů, hromadění Ca²⁺ a následná degranulace jsou rovněž výsledkem signalizace skrz tyto pro opioidy nestandardní receptory (Yaksh et al., 2019). Buněčné linie žírných buněk exprimující MRGPRX2

můžeme najít např. v pokožce či synoviální tekutině, naproti tomu mastocyty plic tuto schopnost nemají. Vzhledem k této variabilitě není překvapivé, že i projevy působení opioidů se napříč buněčnými podtypy mastocytů liší. Nejsilnější efekt morfinu se projevuje při uvolňování histaminu a tryptázy mastocyty pokožky. Naopak bylo vyloučeno, že by morfin buňky jakkoliv stimuloval k produkci derivátů kyseliny arachidonové (Varricchi et al., 2019).

4. Vliv opioidních látek na procesy IS

4.1. Reakce na infekci

Odpověď IS na narušení integrity organismu vlivem infekce je velice komplexní proces vyžadující účast mnoha typů imunocytů a signalizačních molekul. Jak již bylo v této práci pospáno, velká část buněk IS podléhá opioidy indukované dysregulaci. Snížení funkčnosti jednoho buněčného typu může negativně ovlivňovat ostatní komponenty IS a celkovou obranyschopnost organismu. V rámci studie zabývající se onkologickými pacienty s nádory plic, kteří podstoupili chirurgický zákrok, byla prokázána významná korelace mezi užíváním opioidů a zvýšeným rizikem komplikací spojených s výskytem různých typů infekcí (Nelson et al., 2020). Hassan et al. (2020) ve své publikaci navíc tvrdí, že na zvýšení rizika infekce v místě zákroku se významně podílí především dlouhodobé preoperativní užívání opioidních látek. Fenoménu dlouhodobého užívání opioidů před začátkem dalšího typu terapie se věnuje i Eidenschink et al. (2021). Je známo, že onkologičtí pacienti podstupující chemoterapii jsou vystaveni zvýšenému riziku vzniku febrilní neutropenie. Nedostatek funkčních neutrofilních granulocytů se projevuje zvýšenou pravděpodobností výskytu závažných oportunních infekcí. Historie aktivního užívání opioidních analgetik v takovém případě stav pacienta ještě zhoršuje. V rámci pozorování bylo potvrzeno, že pravděpodobnost výskytu sepse se s užíváním opioidů zvyšuje v průměru o 25 % a mortalita se může až zdvojnásobit. Jsou ale známy případy, v nichž má aplikace opioidu příznivé účinky. Na modelu myši infikovaných tuberkulózou bylo demonstrováno, že vyšší dávky morfinu snižují intenzitu infekce a usnadňují rekonvalescenci. Zdá se, že morfin zde stimuluje makrofágy k vyšší aktivitě, a tím zvyšuje efektivitu likvidace mykobakterií (Singh et al., 2008)

4.1.1. Bakteriální infekce

Poměrně komplexní pohled na opioidy indukovanou supresi antibakteriální imunitní odpovědi poskytuje experiment využívající myší model z roku 2010. Myši byly orálně infikovány *Salmonella entericou*. Použité dávky byly dostatečné pro stimulaci IS, ale zároveň nenesly riziko úmrtí. Podávání morfinu podpořilo rozšíření infekce do krve, lymfatických uzlin a Peyerových plátů. Přibližně 80 % testovaných zvířat dokonce nákaze během 3 dnů podlehl. Skupina, jíž byl podáván morfin, dále vykazovala zvýšenou hladinu TNF α , IFN γ , IL-6 a IL-10. U kontrolní MOR knock-out skupiny tyto efekty pozorovatelné nebyly, z čehož můžeme usuzovat, že suprese je tomto případě zprostředkována MOR (Breslow et al., 2010). Boland et al. (2014) v rámci své publikace shrnuje působení několika různých

opioidů. Ačkoliv získaná data nevyovídala o tak významných dopadech užívání opioidů, o kterých pojednává výše zmíněná studie, byl zde popsán obecný imunopresivní trend. Při aplikaci morfinu, tramadolu, fentanylu a buprenorfinu bylo možné detekovat mírný pokles v počtu monocytů a neutrofilů účastnících se fagocytózy. Zmíněná analgetika společně s methadonem pak také negativně působili na procesy oxidativního vzplanutí. Jak již bylo rozepsáno v předešlých kapitolách, morfin působí imunomodulačně na populace makrofágů, dendritických buněk a neutrofilů, což výrazně ovlivňuje jejich vzájemnou synergickou aktivitu. Kromě již zmíněných efektů se navíc setkáváme s MOR-dependentní supresí produkce interleukinu 17 (IL-17) v $\gamma\delta$ T-lymfocytech a sníženou produkcí antibakteriálních proteinů S100A9 a S100A8/A9. Oba tyto jevy jsou spjaty s výrazným oslabením obranyschopnosti organismus vůči bakteriálním infekcím (Jing et al., 2010; J. Wang et al., 2011).

4.1.2. Virová infekce

Podávání analgetik také ovlivňuje imunitní reakci vůči virovým infekcím. Pro úspěšné zvládnutí takové infekce jsou klíčové NK buňky. Jak ale víme, regulace jejich aktivity je velice citlivá na přímé i nepřímé působení opioidů – jak endogenních, tak exogenních. Opioidní látky mohou spouštět stresové reakce zprostředkované HPA a sympatikem, což hraje důležitou roli v modulaci vrozených i adaptivních složek imunity. To ostatně potvrzuje publikace z roku 2005. Pro účely experimentu byly myši infikovány *Influenzou A/PR8* a následně byla analyzována aktivita jejich NK buněk pod vlivem simulovaného stresu. Aktivace HPA způsobila očekávané zvýšení hladiny kortikoidů, což vedlo ke snížení počtu aktivních NK buněk. Zároveň došlo k útlumu jejich cytotoxicity, přičemž tento efekt byl částečně zvrátelný pomocí MOR antagonistů, což ukazuje na účast endogenních opioidů (Tseng et al., 2005). Zajímavé je, že působení opioidů v kontextu virových infekcí může mít zcela odlišné dopady než u zdravých jedinců. Za běžných okolností se můžeme setkat s opioidy indukovanou apoptózou imunocytů. V případě buněk infikovaných virem opičí imunodeficiency je ale apoptické chování vlivem opioidů inhibováno. Morfin svou interakcí s MOR způsobuje pokles v produkci apoptického proteinu Bax a naopak podporuje expresi stabilizujícího Bcl-2. Dočasně je blokována exprese p53. Morfin tedy způsobuje oddálení navození programované buněčné smrti a umožňuje tak úspěšné množení viru za účasti hostitelského aparátu (Suzuki et al., 2003). Užívání morfinu, zatímco je organismus oslabován virem opičí imunodeficiency, může být rizikem i z hlediska poškození mozku. Poměrně nová studie z roku 2014 tento fenomén demonstruje na zástupcích druhu *Makak rhesus*. Podávání morfinu infikovaným zvířatům způsobilo migraci dendritických buněk do CNS, což vedlo k up-regulaci produkce prozánětlivých cytokinů a k atrakci T-lymfocytů. K samotné aktivaci imunocytů dochází v tomto případě spíše vlivem infekce. Nicméně morfin, jak se zdá, zvyšuje permeabilitu cév, čímž výrazně oslabuje izolační vlastnosti hematoencefalické bariéry (Hollenbach et al., 2014).

S chronickým užíváním opioidních látek se navíc pojí fenomén závislosti. Přerušení administrace daného opioidu je pak velmi problematické a nese s sebou riziko celkového oslabení organismu a s tím spojené imunosuprese. Tuto hypotézu potvrzuje *in vitro* zkoumání HIV infikovaných imunocytů od dárců dlouhodobě užívajících opioidní látky. T-lymfocyty vystavené nedostatku opioidu časem obsahovaly více virových částic a vykazovaly zvýšenou aktivitu virové reverzní transkriptázy. Infekce byla v těchto buňkách dále posílena produkcí substance P (X. Wang et al., 2006). Interference opioidní terapie s HIV je obecně důležitým tématem vyžadujícím detailní zkoumání. Tým Mutua et al. (2020) v rámci své práce přišli s nekonvenčním způsobem, jak usnadnit proces navrhování léčebných postupů a dosáhnout tak vyšší efektivity terapie. Na základě dostupných dat byli schopni sestavit funkční matematický model popisující dynamický vztah mezi průběhem HIV infekce a různými způsoby užívání opioidů. Pomocí tohoto modelu lze přibližně zjistit limitní hodnoty proměnných, při kterých infekce vymizí, či přetrvá. Zároveň je možné odvodit, jaké dopady budou mít změny podmínek na produkci virově specifických protilátek. Tento model samozřejmě není dokonalou simulací chování organismu *in vivo*, nicméně je to důležitý krok k lepšímu pochopení dynamiky mezi infekčními agens, IS a látkami užívanými v terapii.

4.2. Regenerace tkání

U pacientů, jímž je podáván morfin, se setkáváme se sníženou schopností hojení ran a zvýšenou pravděpodobností výskytu oportunních infekcí. Podobný fenomén lze pozorovat i u dlouhodobě drogově závislých. Opět tu hraje roli MOR, jehož stimulace vede k výraznému zpomalení hojení provázenému častějším otokem a nekrózou okolních tkání. Morfin inhibuje migraci neutrofilů a makrofágů do místa zánětu. Je to dáno poklesem hladin chemoatraktantů pro monocyty a keratinocyty, ale zároveň i snížením exprese chemokinových receptorů (C-X-C Motif Chemokine Receptor 2) ve zmíněných buňkách (Martin et al., 2010b). Makrofágy kultivované s morfinem vykazují sníženou produkci vaskulárního endoteliálního růstového faktoru (VEGF), který je klíčový v procesu angiogeneze. Jeho exprese je regulována přítomností stabilizačního proteinu HIF-1 α . Ten je makrofágy exprimován neustále, ale jen v případě, že je buňka vystavena hypoxickým podmínkám, je zabráněno jeho ubiquitinaci. Není-li HIF-1 α degradován, může být translokován do jádra, kde zajišťuje expresi VEGF. Morfinem stimulované makrofágy ale navzdory hypoxii produkují výrazně snížené množství HIF-1 α transkriptů a angiogeneze je tím výrazně zpomalená (Martin et al., 2010a). Publikace z roku 2018 navíc tvrdí, že opioidy negativně ovlivňují hojení i bez přímé interakce s komponenty IS. Na králících, jímž byl před i po zákroku v oblasti páteře podáván fenantyl, bylo možné pozorovat zpomalení srůstání kostí v daném místě. Nově vznikající kostní hmota byla navíc méně kompaktní a ani morfologické uspořádání nebylo standardní (Jain et al., 2018). Imunosupresivní důsledky podávání morfinu byly potvrzeny také v rámci publikace pana profesora Holáně (Holan et al., 2018). Negativní vliv morfinu na

hojení tkání byl zkoumán z hlediska kmenových buněk kostní dřeně. Tyto buňky na svém povrchu nesou všechny tři základní typy OR, přičemž exprese těchto receptorů je posílena vlivem prozánětlivých cytokinů (TNF α , IFN γ). Při administraci morfinu se setkáváme s útlumem proliferace a narušení procesů diferenciací. Menší dávky morfinu způsobují posílení adipogenní diferenciací na úkor osteogenní linie. Vyšší dávky pak diferenciaci zcela inhibují v obou směrech. V neposlední řadě dochází vlivem morfinu ke snížení produkce faktoru inhibujícího leukémii a růstového faktoru hepatocytů.

Zároveň se ale setkáváme i se studiemi, které vyzdvihují přínosy opioidní terapie v oblasti postoperační péče. Resnick et al. (2016) tvrdí, že starší pacienti, kterým byly v následujících dnech po ortopedickém zákroku pravidelně podávány opioidy, vykazují lepší výsledky než ti, jimž opioidy podávány nebyly. U pacientů, jimž byl podáván acetaminofen, oxykodon, hydromorfon či morfin, se výrazně zkrátila doba nutné lékařské péče. Receptory typu MOR jsou dokonce ve zvýšené míře exprimovány buňkami v oblasti poškozené tkáně, čímž se přirozeně zvyšuje efektivita endogenních opioidů produkovaných keratinocyty. MOR se společně s DOR podílejí na revaskularizaci a angiogenezi. V rámci studie z roku 2017 bylo prokázáno, že morfin, hydromorfon a fenantyl indukují proliferaci epiteliálních buněk skrz aktivaci kinázové kaskády MAP/ERK. Morfin samotný pak potlačuje lokální produkci imunoreaktivních neuropeptidů jako substance P a peptidu souvisejícího s genem pro kalcitonin. Navíc se zdá, že podporuje migraci buněk nutných pro angiogenezi (Y. Wang et al., 2017).

4.3. Rakovina

Důležitým zjištěním je souvislost exprese opioidních receptorů s výskytem rakoviny. Analýza několika typů nádorových tkání odhalila vysoké koncentrace mRNA pro OR. Zvýšená exprese KOR se týkala např. nádorů plic, pankreatu a prostaty. Podobně tomu bylo v případě MOR u nádorových buněk ledvin, pankreatu, plic a střev. Velmi podstatným se jeví výskyt DOR v nádorových buňkách ledvin, plic, kůže, prsu, aj. Opioidy podle všeho napomáhají metastázování nádorů interakcí právě s těmito receptory (Tripolt et al., 2021). Zapojení OR do procesů nádorové proliferace bylo již dříve prokázáno, nicméně závěry týkající se jejich role při vzniku nových nádorů nejsou definitivní. Ještě studie z roku 2014 vylučuje účast MOR a vyvrací názor, že by morfin napomáhal indukci nádorového bujení (Nguyen et al., 2014). Zároveň ale existují záznamy, které uvádí, že podávání morfinu riziko vzniku nádoru výrazně zvyšuje (Cheng et al., 2006). Současným důležitým tématem je, že množství opioidů podávané onkologickým pacientům v průběhu chirurgického zásahu má přímý vliv na pooperační vývoj pacientova stavu. Jak příznivý tento vliv ve skutečnosti je, je předmětem sporu. Můžeme nalézt informace o tom, že vysoké dávky opioidů podávané perioperativně pacientům s nádory dutiny ústní zvyšují riziko vzniku recidivy až o 27 % a snižují pravděpodobnost přežití až o 77 % (Patino et al., 2017).

V této souvislosti je také nezanedbatelný vliv opioidů na IS. Rozsáhlá studie z roku 2020 se věnuje vymezení rozdílů v imunosupresivním působení opioidů v závislosti na době expozice. Vyhodnocována

byla data od 6 437 pacientů s nádorem plic, z nichž 56 % nebylo nikdy vystaveno působení opioidů, zatímco 15 % z nich užívalo analgetika trvale. Ukázalo se, že dlouhodobé užívání opioidů úzce souvisí s prodlouženou dobou pooperační terapie, vyšší pravděpodobností recidivy, zvýšeným rizikem dalších komplikací (infekce, respirační potíže, snížená funkce ledvin) a vyšší mortalitou operovaných pacientů (Nelson et al., 2020). Simulace opioidové terapie na laboratorních hlodavcích zase poskytla vhodné podmínky pro srovnání imunomodulačního vlivu běžně užívaných analgetik. Aplikace morfinu a fentanylu zde vedla k posílení metastázování. Byla zde také zaznamenána aktivace HPA a útlum aktivity NK buněk, a to i v případě, že zvířata nebyla operována. Naopak u operovaných zvířat, jimž byl podán buprenorfin, můžeme pozorovat pokles pravděpodobnosti vzniku metastáz až o 50 % (Franchi et al., 2007). Nicméně Montagna et al. (2021) naopak tvrdí, že opioidy mohou působit příznivě na expresi protinádorových receptorů v buňkách triple-negativního karcinomu prsu. Detailnější pohled na pozitivní dopady opioidní terapie poskytuje Koodie et al. (2014). U myši s nádory plic, jimž byl podáván morfin, docházelo ke znatelnému zpomalení progresu rakoviny. Ukázalo se, že morfin potlačuje migraci tumor-infiltrujících leukocytů (monocytů a makrofágů) skrz endotel, čímž zpomaluje angiogenezi nezbytnou pro existenci nádoru (Koodie et al., 2014).

Posuzování vlivu opioidů na stav onkologických pacientů je ale mnohdy ztíženo neúplností informací o projevech rakoviny samotné. Často se setkáváme s rozdílnými závěry při srovnání studií věnujících se nádorové aktivitě v různých tkáních. Kontradikce ale nalzáme i mezi studii zabývajícími se stejným typem rakoviny. M. Hou et al. (2016) tvrdí, že rakovina žaludku se vyznačuje dysbalancí Th/Tc lymfocytů a zvýšeným výskytem Treg buněk, přičemž podávání morfinu či ketaminu tento problém ještě více prohlubuje. Užívání opioidů v tomto případě koreluje s horším průběhem nemoci a nižší úspěšností léčby. Bod týkající se regulačních T-lymfocytů je ale sporný, protože starší studie tvrdí, že hladina Treg je konkrétně v pacientech s tímto typem rakoviny naopak výrazně snížena (Szczepanik et al., 2011). Je ale nutné zmínit, že obě studie využívaly k detekci těchto buněk jiný způsob. Můžeme tedy předpokládat, že FoxP3, transkripční faktor nezbytný pro diferenciaci regulačních T-lymfocytů s nímž pracovala novější studie, je spolehlivějším markerem a poskytuje přesnější výsledky.

5. Závěr

Poodhalení dynamiky vztahů mezi opioidy a organismem je zatím závislé na *in vivo* studiích – ideálně prováděných s lidskými pacienty. Opioidy svým působením zasahují do velmi komplexních procesů v organismu. Takové podmínky často nemůžeme simulovat v rámci *in vitro* pozorování, protože zatím nejsme schopni zajistit zachování klíčových interakcí mezi komponenty IS. Data získaná při experimentech s modelovými organismy mohou být navíc zkreslena vlivem potenciální druhové specifity účinků opioidů. Srovnáváním dat pocházejících ze studia různých druhů mohou vznikat kontradikce (Brown et al., 2012; DeClue et al., 2014; Monibi et al., 2015). Navíc se ukazuje, že citlivost vůči opioidním podnětům může být individuální i mezi jedinci stejného druhu. Navzdory strukturální a funkční podobnosti je každý organismus jiný a vykazuje ve vztahu k opioidním stimulům jiné genetické predispozice (Kershaw et al., 2015). Situaci dále komplikuje také vysoká variabilita ve výskytu OR napříč buněčnými typy i liniemi imunocytů (Al-Hashimi et al., 2016). Stejně jako naprostá většina buněčných procesů je i exprese OR v těchto buňkách přísně regulována cytokiny. IS se tak velmi sofistikovaně přizpůsobuje aktuálním požadavkům organismu. Proto není neobvyklé, že se přítomnost OR liší i mezi jednotlivými vývojovými stádii buněk a koresponduje s jejich diferenciací. Neshody můžeme částečně připisovat i rozdílům v metodách, jimiž byly transkripty či receptorové proteiny dříve detekovány. V současné době je k dispozici široké spektrum dostupných analytických metod od využití polymerázové řetězové reakce, přes průtokovou cytometrii, až po různé typy fluorescenčního barvení a využití radioligandů. Je tedy vhodné přistupovat k dříve získaným poznatkům o přítomnosti OR přiměřeně kriticky a ověřovat správnost informací pomocí nových spolehlivějších metod. Jak ale víme, opioidní látky nemusí IS ovlivňovat vždy jen přímou interakcí s OR na povrchu imunocytů. Místo toho často interferují s imunitními procesy skrze modulaci aktivity sympatiku a HPA. Navíc se setkáváme i s názorem, že opioidy mohou za určitých podmínek prostupovat cytoplazmatickou membránou a ovlivňovat tak buněčné procesy bez účasti klasických OR (Wandel et al., 2002), nicméně tato teorie zatím není dostatečně podložena.

Látky, které řadíme mezi opioidy, vykazují mnoho společných rysů, nicméně se od sebe strukturně liší a na základě sterické kompatibility interagují s různými typy receptorů. Tyto látky musíme také rozlišovat na tělu přirozené endogenní opioidní peptidy a exogenní analgetika. Ne vždy jsou poznatky týkající se účinků mezi těmito dvěma skupinami opioidů přenosné. Velká část běžných analgetik cílí převážně na MOR, ale setkat se můžeme i s jevem parciálního agonismu či antagonismu, kdy daný opioid může stimulovat jeden typ receptoru, zatímco jiný blokuje. Důležitá je také proměnlivost afinity a vzájemná kompetice napříč spektrem opioidů. Opioidní analgetika jsou navíc v těle metabolizována a jejich deriváty mohou mít opět zcela specifické účinky, které zatím nemusí být spolehlivě popsány. Poznatky týkající se právě těchto unikátních vlastností jednotlivých typů opioidů jsou zcela klíčové pro

výzkum nových analgetických látek. Novodobé studie se převážně shodují v tom, že většina imunosupresivních efektů je zprostředkována skrz MOR. Naopak interakce opioidů s DOR příznivým způsobem stimuluje IS k větší aktivitě. Na všech těchto dosavadních poznacích může stavět moderní farmakologie, jejímž cílem je navrhnout „dokonalou“ analgetickou molekulu. Moderní opioidní analgetika by měla podle potřeby interagovat kombinovaně s více typy OR s ohledem na požadavky aplikované léčby. Využitím současného agonismu k MOR a antagonismu k ostatním OR by mohla být zajištěna dostatečná antinocicepce, přičemž nežádoucí imunosupresivní efekty klasických opioidních analgetik by byly minimalizovány.

V neposlední řadě velmi záleží na historii užívání analgetik. Různé důsledky má krátkodobé či dlouhodobé vystavení působení opioidních analgetik, může docházet ke vzniku závislosti a tolerance. Trend prostupující většinu studií zmíněných v této práci je zřejmý – množství užívaných opioidů nepříznivě ovlivňuje účinnost další terapie a zvyšuje pravděpodobnost výskytu negativních vedlejších efektů. Z tohoto hlediska se pro klinickou praxi jeví jako velmi důležité vysazení či snížení dávek opioidů v období před výkonem potenciálního zákroku. Stejně tak je vhodné snížit množství perioperativně podávaných opioidů na nezbytně nutné minimum. Nicméně ani výše zmíněné poznatky o opioidech nejsou definitivní a nemohou zcela vymezit postoj k jejich užívání v terapii bolesti. Opioidní analgetika stále zůstávají jednou z nejefektivnějších variant v terapii bolesti. V dnešní době je tedy každá aplikace opioidů v rámci péče o pacienty kompromisem mezi jejich vysokou účinností a často nevyhnutelnými vedlejšími efekty.

6. Citovaná literatura

Sekundární zdroje jsou označeny hvězdičkou (*)

- Aceves, M., Terminel, M. N., Okoreeh, A., Aceves, A. R., Gong, Y. M., Polanco, A., Sohrabji, F., & Hook, M. A. (2019). Morphine increases macrophages at the lesion site following spinal cord injury : Protective effects of minocycline. *Brain Behavior and Immunity*, *79*(June 2018), 125–138. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2019.01.023>
- Al-Hashimi, M., McDonald, J., Thompson, J. P., & Lambert, D. G. (2016). Evidence for nociceptin/orphanin FQ (NOP) but not μ (MOP), δ (DOP) or κ (KOP) opioid receptor mRNA in whole human blood. *British Journal of Anaesthesia*, *116*(3), 423–429. <https://doi.org/10.1093/bja/aev540>
- *Al-Hashimi, M., Scott, S. W. M., Thompson, J. P., & Lambert, D. G. (2013). Opioids and immune modulation: More questions than answers. *British Journal of Anaesthesia*, *111*(1), 80–88. <https://doi.org/10.1093/bja/aet153>
- Alicea, C., Belkowski, S., Eisenstein, T. K., Adler, M. W., & Rogers, T. J. (1996). Inhibition of primary murine macrophage cytokine production in vitro following treatment with the K-opioid agonist U50,488H. *Journal of Neuroimmunology*, *64*(1), 83–90. [https://doi.org/10.1016/0165-5728\(95\)00159-X](https://doi.org/10.1016/0165-5728(95)00159-X)
- Alicea, C., Belkowski, S. M., Sliker, J. K., Zhu, J., Liu-Chen, L. Y., Eisenstein, T. K., Adler, M. W., & Rogers, T. J. (1998). Characterization of κ -opioid receptor transcripts expressed by T cells and macrophages. *Journal of Neuroimmunology*, *91*(1–2), 55–62. [https://doi.org/10.1016/S0165-5728\(98\)00151-9](https://doi.org/10.1016/S0165-5728(98)00151-9)
- *Araujo, L. P., Maricato, J. T., Guerreschi, M. G., Takenaka, M. C., Nascimento, V. M., de Melo, F. M., Quintana, F. J., Brum, P. C., & Basso, A. S. (2019). The Sympathetic Nervous System Mitigates CNS Autoimmunity via β 2-Adrenergic Receptor Signaling in Immune Cells. *Cell Reports*, *28*(12), 3120–3130.e5. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.08.042>
- Armstrong, J. F., Faccenda, E., Harding, S. D., Pawson, A. J., Southan, C., Sharman, J. L., Campo, B., Cavanagh, D. R., Alexander, S. P. H., Davenport, A. P., Spedding, M., & Davies, J. A. (2020). The IUPHAR/BPS Guide to PHARMACOLOGY in 2020: extending immunopharmacology content and introducing the IUPHAR/MMV Guide to MALARIA PHARMACOLOGY. *Nucleic Acids Research*, *48*(D1), D1006–D1021. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz951>
- Arora, P. K., Fride, E., Petitto, J., Waggle, K., & Skolnick, P. (1990). Morphine-induced immune alterations in vivo. *Cellular Immunology*, *126*(2). [https://doi.org/10.1016/0008-8749\(90\)90326-M](https://doi.org/10.1016/0008-8749(90)90326-M)
- Bauman, G. P., Bartik, M. M., Brooks, W. H., & Roszman, T. L. (1994). Induction of cAMP-dependent protein kinase (PKA) activity in T cells after stimulation of the prostaglandin E2 or the β -adrenergic receptors: Relationship between PKA activity and inhibition of anti-CD3 monoclonal antibody-induced T cell proliferation. In *Cellular Immunology* (Vol. 158, Issue 1, pp. 182–194). <https://doi.org/10.1006/cimm.1994.1266>
- Bencsics, A., Elenkov, I. J., & Vizi, E. S. (1997). Effect of morphine on lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor- α production in vivo: Involvement of the sympathetic nervous system. *Journal of Neuroimmunology*, *73*(1–2), 1–6. [https://doi.org/10.1016/S0165-5728\(96\)00163-4](https://doi.org/10.1016/S0165-5728(96)00163-4)
- *Bidlack, J. M. (2000). Detection and function of opioid receptors on cells from the immune system. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, *7*(5), 719–723. <https://doi.org/10.1128/CDLI.7.5.719-723.2000>
- *Bodera, P., Stankiewicz, W., & Kocik, J. (2014). Interactions of orphanin FQ/nociceptin (OFQ/N) system with immune system factors and hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis. *Pharmacological Reports*, *66*(2), 288–291. <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2013.12.003>
- Boland, J. W., Foulds, G. A., Ahmedzai, S. H., & Graham Pockley, A. (2014). A preliminary evaluation of the effects of opioids on innate and adaptive human in vitro immune function. *BMJ Supportive and Palliative Care*, *4*(4), 357–367. <https://doi.org/10.1136/bmjspcare-2013-000573>
- Braun, S., Gaza, N., Werdehausen, R., Hermanns, H., Bauer, I., Durieux, M. E., Hollmann, M. W., & Stevens, M. F. (2010). Ketamine induces apoptosis via the mitochondrial pathway in human lymphocytes and neuronal cells. *British Journal of Anaesthesia*, *105*(3), 347–354. <https://doi.org/10.1093/bja/aeq169>
- Brejchova, J., Holan, V., & Svoboda, P. (2021). Expression of opioid receptors in cells of the immune system. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(1), 1–13. <https://doi.org/10.3390/ijms22010315>
- Breslow, J. M., Feng, P., Meissler, J. J., Pintar, J. E., Gaughan, J., Adler, M. W., & Eisenstein, T. K. (2010). Potentiating effect of morphine on oral salmonella enterica serovar typhimurium infection is μ -opioid receptor-dependent. *Microbial Pathogenesis*, *49*(6), 330–335. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2010.07.006>
- Brown, J. N., Ortiz, G. M., Angel, T. E., Jacobs, J. M., Gritsenko, M., Chan, E. Y., Purdy, D. E., Murnane, R. D., Larsen, K., Palermo, R. E., Shukla, A. K., Clauss, T. R., Katze, M. G., McCune, J. M., & Smith, R. D. (2012). Morphine produces

- immunosuppressive effects in nonhuman primates at the proteomic and cellular levels. *Molecular and Cellular Proteomics*, 11(9), 605–618. <https://doi.org/10.1074/mcp.M111.016121>
- Budd, K. (2006). Pain management: is opioid immunosuppression a clinical problem? *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 60(7), 310–317. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2006.06.015>
- Butour, J. L., Moissand, C., Mazarguil, H., Mollereau, C., & Meunier, J. C. (1997). Recognition and activation of the opioid receptor-like ORL1 receptor by nociceptin, nociceptin analogs and opioids. *European Journal of Pharmacology*, 321(1), 97–103. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(96\)00919-3](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(96)00919-3)
- Campana, G., Sarti, D., Spampinato, S., & Raffaelli, W. (2010). Long-term intrathecal morphine and bupivacaine upregulate MOR gene expression in lymphocytes. *International Immunopharmacology*, 10(9), 1149–1152. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2010.06.016>
- Canbolat, N., Buget, M. I., Sivrikoz, N., Altun, D., & Kucukay, S. (2019). The relationship between neutrophil to lymphocyte ratio and postoperative pain in total knee and hip arthroplasty. *Brazilian Journal of Anesthesiology (English Edition)*, 69(1), 42–47. <https://doi.org/10.1016/j.bjane.2018.07.005>
- Carr, D. J. J., DeCosta, B. R., Kim, C. H., Jacobson, A. E., Guarcello, V., Rice, K. C., & Blalock, J. E. (1989). Opioid receptors on cells of the immune system: Evidence for δ - and κ -classes. *Journal of Endocrinology*, 122(1), 161–168. <https://doi.org/10.1677/joe.0.1220161>
- Chang, M. C., Chen, Y. L., Chiang, Y. C., Cheng, Y. J., Jen, Y. W., Chen, C. A., Cheng, W. F., & Sun, W. Z. (2016). Anti-CD40 antibody and toll-like receptor 3 ligand restore dendritic cell-mediated anti-tumor immunity suppressed by morphine. *American Journal of Cancer Research*, 6(2), 157–172.
- Cheido, M., Idova, G., & Devoino, L. (1996). Involvement of delta-opioid receptors in immunosuppression. *International Journal of Neuroscience*, 84(1–4), 195–203. <https://doi.org/10.3109/00207459608987265>
- Cheng, W. F., Chen, L. K., Chen, C. A., Chang, M. C., Hsiao, P. N., Su, Y. N., Lee, C. N., Jeng, H. J., Hsieh, C. Y., & Sun, W. Z. (2006). Chimeric DNA vaccine reverses morphine-induced immunosuppression and tumorigenesis. *Molecular Therapy*, 13(1), 203–210. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2005.06.479>
- Cornwell, W. D., Wagner, W., Lewis, M. G., Fan, X., Rappaport, J., & Rogers, T. J. (2016). Effect of chronic morphine administration on circulating dendritic cells in SIV-infected rhesus macaques. *Journal of Neuroimmunology*, 295–296, 30–40. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2016.04.007>
- DeClue, A. E., Yu, D. H., Prochnow, S., Axiak-Bechtel, S., Amorim, J., Tsuruta, K., Donaldson, R., Lino, G., Monibi, F., Honaker, A., & Dodam, J. (2014). Effects of opioids on phagocytic function, oxidative burst capacity, cytokine production and apoptosis in canine leukocytes. *Veterinary Journal*, 200(2), 270–275. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.02.019>
- *Dunn, A. J. (2007). The HPA Axis and the Immune System. A Perspective. *NeuroImmune Biology*, 7(C), 3–15. [https://doi.org/10.1016/S1567-7443\(07\)00201-3](https://doi.org/10.1016/S1567-7443(07)00201-3)
- Easten, K. H., Harry, R. A., Purcell, W. M., & McLeod, J. D. (2009). Nociceptin-induced modulation of human T cell function. *Peptides*, 30(5), 926–934. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2009.01.021>
- Eidenschink, B. B., Stenzel, A. E., Michael, Y., Alwahab, U. K., Kurniali, P. C., & Guerrero, D. M. (2021). Opioid use prior to admission for chemotherapy induced febrile neutropenia is associated with increased documented infection, sepsis, and death. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 27(4), 568–572. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2020.11.011>
- Fecho, K., Dykstra, L. A., & Lysle, D. T. (1993a). Evidence for beta adrenergic receptor involvement in the immunomodulatory effects of morphine. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 265(3), 1079–1087.
- Fecho, K., Karamarie, Maslonek, K. A., Dykstra, L. A., & Lysle, D. T. (1993b). Alterations of Immune Status Induced by the Sympathetic Nervous System: Immunomodulatory Effects of DMPP Alone and in Combination with Morphine. In *Brain Behavior and Immunity* (Vol. 7, Issue 3, pp. 253–270). <https://doi.org/10.1006/brbi.1993.1026>
- Felten, D. L., Felten, S. Y., Carlson, S. L., Olschowka, J. A., & Livnat, S. (1985). Noradrenergic and peptidergic innervation of lymphoid tissue. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 135(2 Suppl), 755s–765s.
- Filipczak-Bryniarska, I., Nazimek, K., Nowak, B., Kozłowski, M., Wąsik, M., & Bryniarski, K. (2018). In contrast to morphine, buprenorphine enhances macrophage-induced humoral immunity and, as oxycodone, slightly suppresses the effector phase of cell-mediated immune response in mice. *International Immunopharmacology*, 54(November 2017), 344–353. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2017.11.039>
- Fiset, M. É., Gilbert, C., Poubelle, P. E., & Pouliot, M. (2003). Human neutrophils as a source of nociceptin: A novel link between pain and inflammation. *Biochemistry*, 42(35), 10498–10505. <https://doi.org/10.1021/bi0300635>

- Franchi, S., Panerai, A. E., & Sacerdote, P. (2007). Buprenorphine ameliorates the effect of surgery on hypothalamus-pituitary-adrenal axis, natural killer cell activity and metastatic colonization in rats in comparison with morphine or fentanyl treatment. *Brain, Behavior, and Immunity*, 21(6), 767–774. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2007.01.001>
- Gabrilovac, J., Čupić, B., Zapletal, E., & Brozovic, A. (2012). IFN- γ up-regulates kappa opioid receptors (KOR) on murine macrophage cell line J774. *Journal of Neuroimmunology*, 245(1–2), 56–65. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2012.02.006>
- Gavériaux, C., Peluso, J., Simonin, F., Laforet, J., & Kieffer, B. (1995). Identification of κ - and δ -opioid receptor transcripts in immune cells. *FEBS Letters*, 369(2–3), 272–276. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(95\)00766-3](https://doi.org/10.1016/0014-5793(95)00766-3)
- Goldfarb, Y., Reinscheid, R. K., & Kusnecov, A. W. (2006). Orphanin FQ/nociceptin interactions with the immune system in vivo: Gene expression changes in lymphoid organs and regulation of the cytokine response to staphylococcal enterotoxin A. *Journal of Neuroimmunology*, 176(1–2), 76–85. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2006.04.008>
- Grisanti, L. A., Evanson, J., Marchus, E., Jorissen, H., Woster, A. P., DeKrey, W., Sauter, E. R., Combs, C. K., & Porter, J. E. (2010). Pro-inflammatory responses in human monocytes are β 1-adrenergic receptor subtype dependent. *Molecular Immunology*, 47(6), 1244–1254. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2009.12.013>
- Guan, L., Eisenstein, T. K., Adler, M. W., & Rogers, T. J. (1997). Inhibition of T cell superantigen responses following treatment with the κ -opioid agonist U50,488H. *Journal of Neuroimmunology*, 75(1–2), 163–168. [https://doi.org/10.1016/S0165-5728\(97\)00018-0](https://doi.org/10.1016/S0165-5728(97)00018-0)
- Gupta, A., Devi, L. A., & Gomes, I. (2011). Potentiation of μ -opioid receptor-mediated signaling by ketamine. *Journal of Neurochemistry*, 119(2), 294–302. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2011.07361.x>
- Han, C., Lei, D., Liu, L., Xie, S., He, L., Wen, S., & Zhou, H. (2020). Morphine induces the differentiation of T helper cells to Th2 effector cells via the PKC- θ – GATA3 pathway. *International Immunopharmacology*, 80(October 2019), 106133. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2019.106133>
- Hashiguchi, S., Morisaki, H., Kotake, Y., & Takeda, J. (2005). Effects of morphine and its metabolites on immune function in advanced cancer patients. *Journal of Clinical Anesthesia*, 17(8), 575–580. <https://doi.org/10.1016/j.jclinane.2005.03.004>
- Hassan, Z., Nisiewicz, M. J., Ueland, W., Plymale, M. A., Plymale, M. C., Davenport, D. L., Totten, C. F., & Roth, J. S. (2020). Preoperative opioid use and incidence of surgical site infection after repair of ventral and incisional hernias. *Surgery (United States)*, 168(5), 921–925. <https://doi.org/10.1016/j.surg.2020.05.048>
- Hatsukari, I., Hitosugi, N., Dinda, A., & Singhal, P. C. (2006). *Morphine modulates monocyte – macrophage conversion phase*. 239, 41–48. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2006.03.004>
- Hirota, K., Okawa, H., Appadu, B. L., Grandy, D. K., Devi, L. A., & Lambert, D. G. (1999). Stereoselective interaction of ketamine with recombinant mu, kappa, and delta opioid receptors expressed in Chinese hamster ovary cells. *Anesthesiology*, 90(1), 174–182. <https://doi.org/10.1097/0000542-199901000-00023>
- Holan, V., Cechova, K., Zajicova, A., Kossl, J., Hermankova, B., Bohacova, P., Hajkova, M., Krulova, M., Svoboda, P., & Javorkova, E. (2018). The Impact of Morphine on the Characteristics and Function Properties of Human Mesenchymal Stem Cells. *Stem Cell Reviews and Reports*, 14(6), 801–811. <https://doi.org/10.1007/s12015-018-9843-8>
- Hollenbach, R., Sagar, D., Khan, Z. K., Callen, S., Yao, H., Shirazi, J., Buch, S., & Jain, P. (2014). Effect of morphine and SIV on dendritic cell trafficking into the central nervous system of rhesus macaques. *Journal of NeuroVirology*, 20(2), 175–183. <https://doi.org/10.1007/s13365-013-0182-x>
- Hou, M. I. N., Zhou, N., Li, H. A. O., Wang, B., Wang, X., Wang, X., Jiang, T. A. O., Wang, K., & Xue, F. (2019). Morphine and ketamine treatment suppress the differentiation of T helper cells of patients with colorectal cancer in vitro. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 17(1), 935–942. <https://doi.org/10.3892/etm.2018.7035>
- Hou, M., Zhou, N. B., Li, H., Wang, B. S., Wang, X. Q., Wang, X. W., Wang, K. G., & Xue, F. S. (2016). Morphine and ketamine inhibit immune function of gastric cancer patients by increasing percentage of CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells in vitro. *Journal of Surgical Research*, 203(2), 306–312. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2016.02.031>
- House, R. V., Thomas, P. T., Kozak, J. T., & Bhargava, H. N. (1995). Suppression of immune function by non-peptidic delta opioid receptor antagonists. *Neuroscience Letters*, 198(2), 119–122. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(95\)11983-4](https://doi.org/10.1016/0304-3940(95)11983-4)
- Hu, Z., Chen, R., Cai, Z., Yu, L., Fei, Y., Weng, L., Wang, J., Ge, X., Zhu, T., Wang, J., & Bai, C. (2012). *Salmeterol attenuates the inflammatory response in asthma and decreases the pro-inflammatory cytokine secretion of dendritic cells*. November 2011, 267–275. <https://doi.org/10.1038/cmi.2011.56>

- Iyengar, S., Kim, H. S., & Wood, P. L. (1987). μ -, δ -, κ - and ϵ -Opioid receptor modulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical (HPA) axis: subchronic tolerance studies of endogenous opioid peptides. *Brain Research*, *435*(1–2), 220–226. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(87\)91604-0](https://doi.org/10.1016/0006-8993(87)91604-0)
- Jain, N., Himed, K., Toth, J. M., Briley, K. C., Phillips, F. M., & Khan, S. N. (2018). Opioids delay healing of spinal fusion: a rabbit posterolateral lumbar fusion model. *Spine Journal*, *18*(9), 1659–1668. <https://doi.org/10.1016/j.spinee.2018.04.012>
- Jing, M., Wang, J., Wan, J., Charboneau, R., Chang, Y., Barke, R. A., & Roy, S. (2010). Morphine disrupts interleukin-23 (IL-23)/IL-17-mediated pulmonary mucosal host defense against *Streptococcus pneumoniae* infection. *Infection and Immunity*, *78*(2), 830–837. <https://doi.org/10.1128/IAI.00914-09>
- Katebi, S., Razavi, Y., & Zeighamy, S. (2013). Morphine could increase apoptotic factors in the nucleus accumbens and prefrontal cortex of rat brain 's reward circuitry. *Brain Research*, *1540*, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2013.09.045>
- Kerros, C., Brood, I., Sola, B., Jauzac, P., & Allouche, S. (2010). Reduction of cell proliferation and potentiation of Fas-induced apoptosis by the selective kappa-opioid receptor agonist U50 488 in the multiple myeloma LP-1 cells. *Journal of Neuroimmunology*, *220*(1–2), 69–78. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2010.01.010>
- Kershaw, S. G., Della Vedova, C. B., Majumder, I., Ward, M. B., Farquharson, A. L., Williamson, P. A., & White, J. M. (2015). Acute opioid administration induces hypothalamic-pituitary-adrenal activation and is mediated by genetic variation in interleukin (IL)1B. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *138*, 9–13. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2015.09.005>
- Koodie, L., Yuan, H., Pumper, J. A., Yu, H., Charboneau, R., Ramkrishnan, S., & Roy, S. (2014). Morphine inhibits migration of tumor-infiltrating leukocytes and suppresses angiogenesis associated with tumor growth in mice. *American Journal of Pathology*, *184*(4), 1073–1084. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2013.12.019>
- Kraus, J., Börner, C., Giannini, E., Hickfang, K., Braun, H., Mayer, P., Hoehe, M. R., Ambrosch, A., König, W., & Höllt, V. (2001). Regulation of μ -Opioid Receptor Gene Transcription by Interleukin-4 and Influence of an Allelic Variation within a STAT6 Transcription Factor Binding Site. *Journal of Biological Chemistry*, *276*(47), 43901–43908. <https://doi.org/10.1074/jbc.M107543200>
- Kraus, J., Börner, C., Giannini, E., & Höllt, V. (2003). The role of nuclear factor kappaB in tumor necrosis factor-regulated transcription of the human mu-opioid receptor gene. *Molecular Pharmacology*, *64*(4), 876–884. <https://doi.org/10.1124/mol.64.4.876>
- Kraus, J., Börner, C., Lendeckel, U., & Höllt, V. (2006). Interferon- γ down-regulates transcription of the μ -opioid receptor gene in neuronal and immune cells. *Journal of Neuroimmunology*, *181*(1–2), 13–18. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2006.07.012>
- Lamkin, D. M., Ho, H. Y., Ong, T. H., Kawanishi, C. K., Stoffers, V. L., Ahlawat, N., Ma, J. C. Y., Arevalo, J. M. G., Cole, S. W., & Sloan, E. K. (2016). β -Adrenergic-stimulated macrophages: Comprehensive localization in the M1-M2 spectrum. *Brain, Behavior, and Immunity*, *57*, 338–346. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2016.07.162>
- Lansu, K., Karpiak, J., Liu, J., Huang, X. P., McCorvy, J. D., Kroeze, W. K., Che, T., Nagase, H., Carroll, F. I., Jin, J., Shoichet, B. K., & Roth, B. L. (2017). In silico design of novel probes for the atypical opioid receptor MRGPRX2. *Nature Chemical Biology*, *13*(5), 529–536. <https://doi.org/10.1038/nchembio.2334>
- Liggett, S. B. (1989). Identification and characterization of a homogeneous population of β 2-adrenergic receptors on human alveolar macrophages. *American Review of Respiratory Disease*, *139*(2), 552–555. <https://doi.org/10.1164/ajrccm/139.2.552>
- Lin, J. J., Wang, H. Y., Li, J., Wang, Q. M., Zhang, S. M., Feng, N., Fan, R., & Pei, J. M. (2013). κ -Opioid receptor stimulation modulates TLR4/NF- κ B signaling in the rat heart subjected to ischemia-reperfusion. *Cytokine*, *61*(3), 842–848. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2013.01.002>
- Liu, H., Li, H., Guo, L., Li, M., Li, C., Wang, S., Jiang, W., Liu, X., McNutt, M. A., & Li, G. (2010). Mechanisms involved in phosphatidylinositol 3-kinase pathway mediated up-regulation of the mu opioid receptor in lymphocytes. *Biochemical Pharmacology*, *79*(3), 516–523. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2009.09.013>
- Madera-Salcedo, I. K., Cruz, S. L., & Gonzalez-Espinosa, C. (2013). Morphine Prevents Lipopolysaccharide-Induced TNF Secretion in Mast Cells Blocking I κ B Kinase Activation and SNAP-23 Phosphorylation: Correlation with the Formation of a β -Arrestin/TRAF6 Complex. *The Journal of Immunology*, *191*(6), 3400–3409. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1202658>
- Maher, D. P., Walia, D., & Heller, N. M. (2019). Suppression of Human Natural Killer Cells by Different Classes of Opioids. *Anesthesia and Analgesia*, *128*(5), 1013–1021. <https://doi.org/10.1213/ANE.0000000000004058>

- Manning, B. M., Hebbel, R. P., Gupta, K., & Haynes, C. L. (2012). Carbon-fiber microelectrode amperometry reveals sickle-cell-induced inflammation and chronic morphine effects on single mast cells. *ACS Chemical Biology*, 7(3), 543–551. <https://doi.org/10.1021/cb200347q>
- Martin, J. L., Charboneau, R., Barke, R. A., & Roy, S. (2010a). Chronic morphine treatment inhibits LPS-induced angiogenesis : Implications in wound healing. *Cellular Immunology*, 265(2), 139–145. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2010.08.002>
- Martin, J. L., Koodie, L., Krishnan, A. G., Charboneau, R., Barke, R. A., & Roy, S. (2010b). Chronic morphine administration delays wound healing by inhibiting immune cell recruitment to the wound site. *American Journal of Pathology*, 176(2), 786–799. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2010.090457>
- Martinez, F., & Watson, R. R. (1990). Effects of cocaine and morphine on IgG production by human peripheral blood lymphocytes in vitro. *Life Sciences*, 47(15), PL59–PL64. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0024-3205\(90\)90205-6](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0024-3205(90)90205-6)
- McCarthy, L. E., Nitsche, J. F., Pintar, J. E., & Rogers, T. J. (2004). The δ -opioid receptor participates in T-cell development by promoting negative selection. *Journal of Neuroimmunology*, 153(1–2), 91–98. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2004.04.006>
- Menzebach, A., Hirsch, J., Hempelmann, G., & Welters, I. D. (2003). Effects of endogenous and synthetic opioid peptides on neutrophil function in vitro. *British Journal of Anaesthesia*, 91(4), 546–550. <https://doi.org/10.1093/bja/aeg219>
- Messmer, D., Hatsukari, I., Hitosugi, N., Schmidt-Wolf, I. G. H., & Singhal, P. C. (2006). Morphine reciprocally regulates IL-10 and IL-12 production by monocyte-derived human dendritic cells and enhances T cell activation. *Molecular Medicine (Cambridge, Mass.)*, 12(11–12), 284–290. <https://doi.org/10.2119/2006-00043.Messmer>
- Monibi, F. A., Dodam, J. R., Axiak-Bechtel, S. M., Amorim, J., Zhang, Y., Tsuruta, K., Mann, F. A., & DeClue, A. E. (2015). Morphine and buprenorphine do not alter leukocyte cytokine production capacity, early apoptosis, or neutrophil phagocytic function in healthy dogs. *Research in Veterinary Science*, 99, 70–76. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2015.01.010>
- Montagna, G., Gupta, H. V., Hannum, M., Tan, K. S., Lee, J., Scarpa, J. R., Plitas, G., Irie, T., McCormick, P. J., Fischer, G. W., Morrow, M., & Mincer, J. S. (2021). Intraoperative opioids are associated with improved recurrence-free survival in triple-negative breast cancer. *British Journal of Anaesthesia*, 126(2), 367–376. <https://doi.org/10.1016/j.bja.2020.10.021>
- Morgan, E. L. (1996). Regulation of human B lymphocyte activation by opioid peptide hormones inhibition of IgG production by opioid receptor class (μ -, κ -, and δ -) selective agonists. *Journal of Neuroimmunology*, 65(1), 21–30. [https://doi.org/10.1016/0165-5728\(95\)00171-9](https://doi.org/10.1016/0165-5728(95)00171-9)
- Mousa, S. A., Shaqura, M., Brendl, U., Al-Khrasani, M., Fürst, S., & Schäfer, M. (2010). Involvement of the peripheral sensory and sympathetic nervous system in the vascular endothelial expression of ICAM-1 and the recruitment of opioid-containing immune cells to inhibit inflammatory pain. *Brain, Behavior, and Immunity*, 24(8), 1310–1323. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2010.06.008>
- Mutua, J. M., Wang, F. Bin, & Vaidya, N. K. (2020). Effects of periodic intake of drugs of abuse (morphine) on HIV dynamics: Mathematical model and analysis. *Mathematical Biosciences*, 326(December 2019), 108395. <https://doi.org/10.1016/j.mbs.2020.108395>
- Nelson, D. B., Niu, J., Mitchell, K. G., Antonoff, M. B., Giordano, S. H., Hofstetter, W. L., Vaporciyan, A. A., Sepesi, B., Mehran, R. J., & Rice, D. C. (2020). Perioperative outcomes among chronic opioid users who receive lobectomy for non-small cell lung cancer. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 159(2), 691-702.e5. <https://doi.org/10.1016/j.jtcvs.2019.09.059>
- Nguyen, J., Luk, K., Vang, D., Soto, W., Vincent, L., Robiner, S., Saavedra, R., Li, Y., Gupta, P., & Gupta, K. (2014). Morphine stimulates cancer progression and mast cell activation and impairs survival in transgenic mice with breast cancer. *British Journal of Anaesthesia*, 113(SUPPL. 1), 4–13. <https://doi.org/10.1093/bja/aeu090>
- Ninkovic, J., & Roy, S. (2012). Morphine decreases bacterial phagocytosis by inhibiting actin polymerization through cAMP-, Rac-1-, and p38 MAPK-dependent mechanisms. *American Journal of Pathology*, 180(3), 1068–1079. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2011.11.034>
- Nyssen, P., Mouithys-Mickalad, A., Minguet, G., Sauvage, E., Wouters, J., Franck, T., & Hoebeker, M. (2018). Morphine, a potential inhibitor of myeloperoxidase activity. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, 1862(10), 2236–2244. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2018.07.007>
- Patino, M. A., Ramirez, R. E., Perez, C. A., Feng, L., Kataria, P., Myers, J., & Cata, J. P. (2017). The impact of intraoperative

- opioid use on survival after oral cancer surgery. *Oral Oncology*, 74(August), 1–7.
<https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2017.09.006>
- *Peterson, P. K., Molitor, T. W., & Chao, C. C. (1998). The opioid-cytokine connection. *Journal of Neuroimmunology*, 83(1–2), 63–69. [https://doi.org/10.1016/S0165-5728\(97\)00222-1](https://doi.org/10.1016/S0165-5728(97)00222-1)
- Radulović, J., Mančev, Z., Stanojević, S., Vasiljević, T., Kovačević-Jovanović, V., & Pešić, G. (1996). Modulation of humoral immune response by central administration of leucine-enkephalin: Effects of μ , δ and κ opioid receptor antagonists. *Journal of Neuroimmunology*, 65(2), 155–161. [https://doi.org/10.1016/0165-5728\(96\)00017-3](https://doi.org/10.1016/0165-5728(96)00017-3)
- Radulović, J., Miljević, C., Djergović, D., Vujić, V., Antić, J., Horsten, stephan Von, & Janković, B. D. (1995). Opioid receptor-mediated suppression of humoral immune response in vivo and in vitro: involvement of κ opioid receptors. *Journal of Neuroimmunology*, 57(1–2), 55–62. [https://doi.org/10.1016/0165-5728\(94\)00161-G](https://doi.org/10.1016/0165-5728(94)00161-G)
- *Resnick, B., Galik, E., Wells, C. L., Boltz, M., Renn, C. L., & Dorsey, S. G. (2016). The Impact of Pain Management with Opioids among Older Adults Post Orthopedic Trauma. *Pain Management Nursing*, 17(5), 302–310.
<https://doi.org/10.1016/j.pmn.2016.05.005>
- Roy, S., Ninkovic, J., Banerjee, S., Charboneau, R. G., Das, S., Dutta, R., Kirchner, V. A., Koodie, L., Ma, J., Meng, J., & Barke, R. A. (2011). Opioid drug abuse and modulation of immune function: Consequences in the susceptibility to opportunistic infections. In *Journal of Neuroimmune Pharmacology* (Vol. 6, Issue 4). <https://doi.org/10.1007/s11481-011-9292-5>
- Sanders, V. M., Baker, R. A., Ramer-Quinn, D. S., Kasprovicz, D. J., Fuchs, B. A., & Street, N. E. (1997). Differential expression of the beta2-adrenergic receptor by Th1 and Th2 clones: implications for cytokine production and B cell help. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 158(9), 4200–4210.
- Saurer, T. B., Carrigan, K. A., Ijames, S. G., & Lysle, D. T. (2006a). Suppression of natural killer cell activity by morphine is mediated by the nucleus accumbens shell. *Journal of Neuroimmunology*, 173(1–2), 3–11.
<https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2005.11.009>
- Saurer, T. B., Ijames, S. G., & Lysle, D. T. (2006b). Neuropeptide Y Y1 receptors mediate morphine-induced reductions of natural killer cell activity. *Journal of Neuroimmunology*, 177(1–2), 18–26.
<https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2006.05.002>
- Schmidt-Rondon, E., Wang, Z., Malkmus, S. A., Di Nardo, A., Hildebrand, K., Page, L., & Yaksh, T. L. (2018). Effects of opioid and nonopioid analgesics on canine wheal formation and cultured human mast cell degranulation. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 338(October 2017), 54–64. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2017.10.017>
- Serhan, C. N., Fierro, I. M., Chiang, N., & Pouliot, M. (2001). Nociceptin Stimulates Neutrophil Chemotaxis and Recruitment: Inhibition by Aspirin-Triggered-15-Epi-Lipoxin A 4. *The Journal of Immunology*, 166(6), 3650–3654.
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.166.6.3650>
- Shahkarami, K., Vousooghi, N., Golab, F., Mohsenzadeh, A., Baharvand, P., Sadat-Shirazi, M. S., Babhadi-Ashar, N., Shakeri, A., & Zarrindast, M. R. (2019). Evaluation of dynorphin and kappa-opioid receptor level in the human blood lymphocytes and plasma: Possible role as a biomarker in severe opioid use disorder. *Drug and Alcohol Dependence*, 205(March), 107638. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2019.107638>
- Sheridan, P. A., & Moynihan, J. A. (2005). Modulation of the innate immune response to HSV-1 following acute administration of morphine: Role of hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *Journal of Neuroimmunology*, 158(1–2), 145–152. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2004.09.001>
- Singh, R. P., Jhamb, S. S., & Singh, P. P. (2008). Effects of morphine during Mycobacterium tuberculosis H37Rv infection in mice. *Life Sciences*, 82(5–6), 308–314. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2007.11.024>
- Singhal, P. C., Sharma, P., Kapasi, A. A., Reddy, K., Franki, N., & Gibbons, N. (1998). Morphine enhances macrophage apoptosis. *The Journal of Immunology*, 160(4), 1886–1893.
- Suzuki, S., Chuang, L. F., Doi, R. H., & Chuang, R. Y. (2003). Morphine suppresses lymphocyte apoptosis by blocking p53-mediated death signaling. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 308(4), 802–808.
[https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(03\)01472-4](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(03)01472-4)
- Szczepanik, A. M., Siedlar, M., Sierzega, M., Goroszeniuk, D., Bukowska-Strakova, K., Czupryna, A., & Kulig, J. (2011). T-regulatory lymphocytes in peripheral blood of gastric and colorectal cancer patients. *World Journal of Gastroenterology*, 17(3), 343–348. <https://doi.org/10.3748/wjg.v17.i3.343>
- Tripolt, S., Neubauer, H. A., Knab, V. M., Elmer, D. P., Aberger, F., Moriggl, R., & Fux, D. A. (2021). Opioids drive breast cancer metastasis through the δ -opioid receptor and oncogenic STAT3. *Neoplasia (United States)*, 23(2), 270–279.

<https://doi.org/10.1016/j.neo.2020.12.011>

- Tseng, R. J., Padgett, D. A., Dhabhar, F. S., Engler, H., & Sheridan, J. F. (2005). Stress-induced modulation of NK activity during influenza viral infection: Role of glucocorticoids and opioids. *Brain, Behavior, and Immunity*, *19*(2), 153–164. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2004.07.001>
- Varricchi, G., Pecoraro, A., Loffredo, S., Poto, R., Rivellese, F., Genovese, A., Marone, G., & Spadaro, G. (2019). Heterogeneity of human mast cells with respect to MRGPRX2 receptor expression and function. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *13*(July), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00299>
- Vassou, D., Bakogeorgou, E., Kampa, M., Dimitriou, H., Hatzoglou, A., & Castanas, E. (2008). Opioids modulate constitutive B-lymphocyte secretion. *International Immunopharmacology*, *8*(5), 634–644. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2008.01.002>
- Wandel, C., Kim, R., Wood, M., Ch, M. B. B., & Wood, A. (2002). Interaction of Morphine, Fentanyl, Sufentanil, Alfentanil, and Loperamide with the Efflux Drug Transporter P-glycoprotein. *PubMed*, *4*, 913–920.
- Wang, J., Barke, R. A., Charboneau, R., Loh, H. H., & Roy, S. (2003). Morphine negatively regulates interferon- γ promoter activity in activated murine T cells through two distinct cyclic AMP-dependent pathways. *Journal of Biological Chemistry*, *278*(39), 37622–37631. <https://doi.org/10.1074/jbc.M301224200>
- Wang, J., Ma, J., Charboneau, R., Barke, R., & Roy, S. (2011). Morphine inhibits murine dendritic cell IL-23 production by modulating toll-like receptor 2 and Nod2 signaling. *Journal of Biological Chemistry*, *286*(12), 10225–10232. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.188680>
- Wang, X., Douglas, S. D., Peng, J. S., Zhou, D. J., Wan, Q., & Ho, W. Z. (2006). An in vitro model of morphine withdrawal manifests the enhancing effect on human immunodeficiency virus infection of human T lymphocytes through the induction of substance P. *American Journal of Pathology*, *169*(5), 1663–1670. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2006.060358>
- Wang, Y., Gupta, M., Poonawala, T., Farooqui, M., Li, Y., Peng, F. E. I., Rao, S., Ansonoff, M., Pintar, J. E., & Gupta, K. (2017). Opioids and opioid receptors orchestrate wound repair. *Translational Research*, *185*, 13–23. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2017.05.003>
- Wang, Z. Y., Wang, C. Q., Yang, J. J., Sun, J., Huang, Y. H., Tang, Q. F., & Qian, Y. N. (2006). Which has the least immunity depression during postoperative analgesia-morphine, tramadol, or tramadol with lornoxicam? *Clinica Chimica Acta*, *369*(1), 40–45. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2006.01.008>
- West, J. P., Lysle, D. T., & I, L. A. D. (1997). Tolerance development to morphine-induced alterations of immune status. *Animals*, *46*.
- Wick, M. J., Minnerath, S. R., Roy, S., Ramakrishnan, S., & Loh, H. H. (1996). Differential expression of opioid receptor genes in human lymphoid cell lines and peripheral blood lymphocytes. *Journal of Neuroimmunology*, *64*(1), 29–36. [https://doi.org/10.1016/0165-5728\(95\)00144-1](https://doi.org/10.1016/0165-5728(95)00144-1)
- Williams, J. P., Thompson, J. P., McDonald, J., Barnes, T. A., Cote, T., Rowbotham, D. J., & Lambert, D. G. (2007). Human peripheral blood mononuclear cells express nociceptin/orphanin FQ, but not μ , δ , or κ opioid receptors. *Anesthesia and Analgesia*, *105*(4), 998–1005. <https://doi.org/10.1213/01.ane.0000278865.11991.9d>
- Williams, J. P., Thompson, J. P., Rowbotham, D. J., & Lambert, D. G. (2008). Human peripheral blood mononuclear cells produce pre-pro-nociceptin/ orphanin FQ mRNA. *Anesthesia and Analgesia*, *106*(3), 865–866. <https://doi.org/10.1213/ane.0b013e3181617646>
- Wilson, J. M., Schwartz, A. M., Farley, K. X., Erens, G. A., Bradbury, T. L., & Guild, G. N. (2021). The impact of preoperative tramadol-only use on outcomes following total knee arthroplasty – Is tramadol different than traditional opioids? *The Knee*, *28*, 131–138. <https://doi.org/10.1016/j.knee.2020.11.003>
- *Wong, J., Murthy, A., & Patterson, M. (2007). Beta-adrenergic receptors (β AR): role in modulating the host immune response. *Seminars in Anesthesia, Perioperative Medicine and Pain*, *26*(1), 10–16. <https://doi.org/10.1053/j.sane.2006.11.003>
- Wypasek, E., Natorka, J., Stankiewicz, E., & Kolaczowska, E. (2011). Morphine-modulated mast cell migration and proliferation during early stages of zymosan-induced peritonitis in CBA mice. *Folia Biologica*, *59*(3–4), 99–106. https://doi.org/10.3409/fb59_3-4.99-106
- Yaksh, T. L., Allen, J. W., Veasart, S. L., Horais, K. A., Malkmus, S. A., Scadeng, M., Steinauer, J. J., & Rossi, S. S. (2013). Role of meningeal mast cells in intrathecal morphine-evoked granuloma formation. *Anesthesiology*, *118*(3), 664–678. <https://doi.org/10.1097/ALN.0b013e31828351aa>

- Yaksh, T. L., Eddinger, K. A., Kokubu, S., Wang, Z., Dinardo, A., Ramachandran, R., Zhu, Y., He, Y., Weren, F., Quang, D., Malkmus, S. A., Lansu, K., Kroeze, W. K., Eliceiri, B., Steinauer, J. J., Schiller, P. W., Gmeiner, P., Page, L. M., & Hildebrand, K. R. (2019). Mast Cell Degranulation and Fibroblast Activation in the Morphine-induced Spinal Mass: Role of Mas-related G Protein-coupled Receptor Signaling. *Anesthesiology*, *131*(1), 132–147. <https://doi.org/10.1097/ALN.0000000000002730>
- Yin, D., Woodruff, M., Zhang, Y., Whaley, S., Miao, J., Ferslew, K., Zhao, J., & Stuart, C. (2006). Morphine promotes Jurkat cell apoptosis through pro-apoptotic FADD/P53 and anti-apoptotic PI3K/Akt/NF- κ B pathways. *Journal of Neuroimmunology*, *174*(1–2), 101–107. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2006.02.001>
- Zhang, L., Stüber, F., Lippuner, C., Schiff, M., & M Stamer, U. (2019). ERK and p38 contribute to the regulation of nociceptin and the nociceptin receptor in human peripheral blood leukocytes. *Molecular Pain*, *15*. <https://doi.org/10.1177/1744806919828921>
- Zhang, T., Liu, R., Che, D., Pundir, P., Wang, N., Han, S., Cao, J., Lv, Y., Dong, H., Fang, F., Wang, J., Ma, P., Zhao, T., Lei, T., Dong, X., & He, L. (2019). A Mast Cell-Specific Receptor Is Critical for Granuloma Induced by Intrathecal Morphine Infusion. *The Journal of Immunology*, *203*(7), 1701–1714. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1801423>