

# Niveles de citoquinas en suero de adictos a heroína bajo consumo activo o en terapia de mantenimiento con metadona y controles sanos en Pereira (Colombia)

Carlos Alberto Isaza<sup>\*,\*\*</sup>, Juan Carlos Sepúlveda Arias<sup>\*,\*\*</sup>,  
Juan Pablo Vélez<sup>\*\*\*</sup>, Sandra Yolanda Valencia<sup>\*</sup>, Juan Camilo Restrepo<sup>\*</sup>

---

## Resumen

**Introducción:** el tratamiento con metadona constituye el estándar de manejo de adictos a heroína. Durante la rehabilitación los pacientes mejoran su estado de salud y parecen volverse inmunocompetentes; hecho atribuido al abandono de prácticas de riesgo, mejor nutrición y suspensión de la heroína, cuyo efecto inmunodepresor es conocido. Pero como la metadona es también antagonista del glutamato, podría tener actividad inmunoestimulante adicional.

**Objetivo:** comparar niveles séricos de las citoquinas FNT- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  e IL-10, entre adictos a heroína en consumo activo (CA=32), adictos tratados con metadona (Met=20) y controles sanos sin historia de adicción (Cont=20).

**Materiales y métodos:** participaron 72 individuos de ambos sexos, mayores de edad, con pruebas serológicas para VIH/SIDA, hepatitis B y C negativas, que no utilizaran fármacos con efectos sobre el sistema inmune.

**Resultados:** no hubo diferencias entre los grupos respecto a género (91,7% hombres), edad ( $25,2 \pm 8$  años) y tiempo de abuso de heroína ( $5,3 \pm 2,9$  años). Todos los adictos reportaron consumo de otras drogas ilícitas: 96% marihuana, 79% cocaína/basuco y 52% otros psicoactivos. Ningún individuo del grupo Met seguía consumiendo cocaína/basuco, pero la mayoría continuaba el consumo de marihuana. Se encontraron diferencias significativas en los niveles de FNT- $\alpha$  ( $p=0,0004$ ), IFN- $\gamma$  ( $p=0,014$ ) e IL-10 ( $p=0,0001$ ) entre los tres grupos estudiados; esta diferencia se conserva para las tres citoquinas cuando se comparan adictos con no adictos.

**Conclusión:** se encontró un patrón de producción de citoquinas séricas diferencial entre adictos y no adictos, pero no fue posible determinar un patrón de respuesta inmune inducido por metadona.

---

### Palabras clave

Adicción a Opiáceos; Dependencia de Heroína; Factor de Necrosis Tumoral alfa; Interferón gamma; Interleucina-10; Metadona.

---

\* Programa de Medicina de la Fundación Universitaria Autónoma de las Américas, Pereira, Colombia. [caisaza@utp.edu.co](mailto:caisaza@utp.edu.co)

\*\* Programa de Medicina, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira, Colombia.

\*\*\* Hospital Mental Universitario de Risaralda (HOMERIS), Pereira, Colombia.

# Cytokine levels in serum of heroin addicts under active consumption or methadone maintenance therapy and healthy control in Pereira (Colombia)

---

## Abstract

**Introduction:** methadone constitutes the standard therapy for the management of heroin addiction. During the rehabilitation, patients improve their health status and seem to become immunocompetent, a fact attributed to the decrease in risk practices, better nutrition and the cessation of heroin consumption, whose immunosuppressive effects are known. However, since methadone is also a glutamate antagonist, it might have an additional immunostimulant activity.

**Aim:** to compare serum levels of the cytokines TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  and IL-10 between heroin addicts under active consumption (CA=32), addicts under methadone maintenance therapy (Met=20) and healthy controls without history of addiction (Cont=20).

**Materials and methods:** seventy two individuals from both sexes, under 18 years-old, without any recent infection or a positive HIV, hepatitis B or hepatitis C test, were included in the study. None of the subjects were taking drugs with effects on the immune system.

**Results:** there were no differences between the groups in terms of gender (91,7 % men), age ( $25,2 \pm 8$  years) and time of heroin abuse ( $5,3 \pm 2,9$  years). All the addicts reported the use of other illicit drugs such as marijuana (96%), cocaine/bazuco (79%) and other psychoactive drugs (52%). In the Met group, none of the individuals reported the use of cocaine/bazuco but most of them kept on consuming marijuana. Significant differences in the TNF- $\alpha$  ( $p=0.0004$ ), IFN- $\gamma$  ( $p=0.014$ ) and IL-10 ( $p=0.0001$ ) levels between the studied groups were found; these differences persist when we compared addicts and control individuals.

**Conclusion:** a differential pattern of cytokine production in the sera of addicts and healthy individuals was found, however, a clear pattern of immune response induced by the methadone treatment could not be determined.

---

### Key words

Heroin Dependence; Opioid-related Disorders; Tumor Necrosis Factor-alpha; Interferon-gamma; Interleukin-10; methadone.

---

## Níveis de citocinas em soro de dependentes de heroína de baixo consumo ativo ou em terapia de manutenção com metadona e controles sãos em Pereira (Colômbia)

---

### Resumo

**Introdução:** o tratamento com metadona constitui o padrão no manejo de dependentes de heroína. Durante a reabilitação, os pacientes melhoram seu estado de saúde e parecem se tornar imunocompetentes; o fato é atribuído ao abandono de práticas de risco, melhor nutrição e suspensão da heroína, cujo efeito imunodepressor é conhecido. Mas como a metadona é também antagonista do glutamato, poderia ter atividade imune-estimulante adicional.

**Objetivo:** comparar níveis séricos das citocinas FNT- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  e IL-10, entre dependentes de consumo ativo da heroína (CA=32), dependentes tratados com metadona (Met=20) e controles de pessoas sãs sem história de dependência (Cont=20).

**Materiais e métodos:** participaram 72 pessoas de ambos os sexos, maiores de idade, com provas serológicas para VIH/SIDA, hepatites B e C negativas, que não utilizaram medicamentos com efeitos sobre o sistema imunológico.

**Resultados:** não houve diferenças entre os grupos a respeito de gênero (91,7% homens), idade ( $25,2 \pm 8$  anos) e tempo de abuso de heroína ( $5,3 \pm 2,9$  anos). Todos os dependentes empregaram outras drogas ilícitas: 96% - maconha, 79% - cocaína/crack e 52% - outros psicoativos. Ninguém do grupo Met continuava consumindo cocaína/crack, mas a maioria continuava com maconha. Encontraram-se diferenças significativas nos níveis de FNT- $\alpha$  ( $p=0,0004$ ), IFN- $\gamma$  ( $p=0,014$ ) e IL-10 ( $p=0,0001$ ) entre os três grupos estudados; esta diferença se conserva para as três citocinas quando se comparam dependente e não dependentes.

**Conclusão:** encontrou-se um padrão de produção de citocinas séricas, considerado o diferencial entre dependentes e os que não o são, mas não se achou um padrão de resposta imune-induzido por metadona.

---

### Palavras Chave

Dependência a Opiáceos; Heroína; Fator de Necrose Tumoral alfa; Interferon-gama; Interleucina-10; Metadona.

---

*Fecha de recibo:* Febrero/2013

*Fecha aprobación:* Febrero/2014

## Introducción

La drogadicción es una enfermedad crónica, recurrente, caracterizada por búsqueda y consumo compulsivo de la droga, pese a sus consecuencias físicas, psíquicas y sociales negativas. La probabilidad de que una persona haga la transición del consumo ocasional a la adicción depende de la interacción de factores relacionados con la propia droga (disponibilidad, potencia, toxicocinética), con el individuo expuesto (herencia, trastornos psiquiátricos) y con su medio ambiente (1).

Dado el alto poder adictivo de la heroína, cuando una persona inicia su consumo puede escalar al abuso (uso problemático) y luego a la farmacodependencia (presencia de tolerancia, síndrome de abstinencia y búsqueda compulsiva) con mayor frecuencia que con otras drogas psicoactivas. En efecto, una de cada cuatro personas que usan heroína termina dependiente, la mortalidad entre sus adictos es 10-20 veces mayor que la de no usuarios, apareados por edad y género, y 12 veces mayor que la de la población general. Esto significa que la magnitud del problema no debe medirse solamente por las estadísticas de consumo, sino también por la forma como la drogadicción repercute en otras áreas, pues para financiar el consumo con frecuencia los adictos recurren a actividades delincuenciales y prostitución, al tiempo que adoptan conductas de riesgo que llevan a enfermedades infecto-contagiosas (hepatitis B y C, tuberculosis, VIH/SIDA y enfermedades de transmisión sexual) (2).

Aunque la alta frecuencia de infecciones entre adictos a heroína se ha relacionado con su estilo de vida y sus prácticas de

riesgo, la inmunosupresión inducida por opioides puede contribuir a la susceptibilidad a las mismas. En efecto, la heroína, la morfina y otros opioides causan supresión de la respuesta inmune humoral y celular, la cual incluye inhibición de la proliferación de linfocitos, de la actividad de células NK, de la función del macrófago y de la producción de interferón- $\gamma$  e IL-2 (3-7). También se ha demostrado alteración en la producción por células dendríticas y macrófagos de IL-23, la cual juega un papel crítico en la inmunidad innata contra infecciones bacterianas (8,9), y alteración en la capacidad del linfocito B para expresar moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad clase II (MHC-II) (10).

Se han propuesto varios mecanismos por los cuales los opioides alteran la respuesta inmune, pero la mayor evidencia apunta a que tales efectos son mediados por receptores opioides ( $\mu$  y  $\delta$ ), los cuales se expresan en linfocitos T, linfocitos B y macrófagos. De hecho, en casi todos los estudios los efectos inmunosupresores de los opioides son bloqueados por el tratamiento previo con naloxona o naltrexona (11-13). Sin embargo, se desconoce la verdadera relevancia clínica de tales efectos y, además, no todos los opioides tienen los mismos efectos inmunosupresores, por lo que resulta importante evaluar el perfil de cada uno de ellos; por ejemplo, la buprenorfina y el tramadol parecen tener un perfil inmune más favorable (3,4,14,15), en tanto que la metadona también bloquea los receptores NMDA del glutamato, una ruta neurobioquímica reconocida por su capacidad para modular la función inmune (16-19).

A tono con la evidencia científica actual, importantes entidades sanitarias

internacionales y nacionales recomiendan que todas las personas dependientes de opioides deberían tener acceso al “tratamiento de mantenimiento” (20,21), que consiste en el remplazo de la heroína por agonistas opioides de larga acción, como la metadona, la cual bloquea los efectos euforizantes de la heroína y previene el síndrome de abstinencia y la búsqueda compulsiva de droga (*craving*); en consecuencia se asocia con disminución del uso de heroína, reducción de conductas criminales, mejor desempeño social y reducción de la morbi-mortalidad (22-27). Sin embargo, respecto a la respuesta inmune, queda la duda de cuál es el efecto neto de la metadona, pues dado su perfil farmacológico dual, por un lado podría inhibir dicha respuesta por ser agonista de receptores opioides, pero, por otro lado, podría estimularla por ser antagonista del receptor NMDA del glutamato (6,28-29).

En este estudio nos propusimos comparar los niveles de FNT- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  e IL-10 en el suero de pacientes dependientes de heroína atendidos en el Programa de Mantenimiento con Metadona (PMM), con pacientes dependientes de heroína que no han iniciado tratamiento de rehabilitación y con personas sanas no adictas.

## Materiales y métodos

*Participantes y su manejo.* Se incluyeron en el estudio adictos en consumo activo de heroína que no habían iniciado tratamiento de rehabilitación (CA, n=32); pacientes del PMM del Hospital Mental de Risaralda (HOMERIS) (Met, n=20) y personas sanas sin historia de adicción (Cont, n=20).

Tras la explicación verbal del estudio y la firma del consentimiento informado, a cada individuo se le aplicó una encuesta y se le practicaron los paraclínicos de interés en la investigación:

- 1) enfermedades infecto-contagiosas: VIH/SIDA (previa firma del consentimiento especial, según norma del Ministerio de Salud), hepatitis B y C;
- 2) condición inmune: IL-10, IFN- $\gamma$ , FNT- $\alpha$ .

Los criterios de inclusión fueron:

- 1) diagnóstico de dependencia a opioides de acuerdo con los criterios del DSM IV;
- 2) aceptar los requerimientos del estudio y firmar el consentimiento informado por parte del paciente y de su representante legal, si era menor de edad.

Fueron excluidas las personas con trauma cerebral, enfermedad neurológica crónica, déficit cognitivo o severa enfermedad psiquiátrica (demencia o psicosis) que comprometieran la capacidad para firmar el consentimiento, epilepsia, embarazo o lactancia, infección o enfermedad inflamatoria activa o consumo de fármacos con efectos sobre el sistema inmunológico.

El consentimiento informado fue diligenciado de acuerdo con la Resolución 008430 de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia, en la categoría de investigación con riesgo mínimo. El estudio fue aprobado por el Comité de Bioética de la Universidad Tecnológica de Pereira.

*Paraclínicos.* Se realizaron en un laboratorio clínico de reconocida idoneidad y debidamente acreditado, empleando kits comerciales y siguiendo las instrucciones de los fabricantes.

**Cuantificación de citoquinas.** Las concentraciones séricas de FNT- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  e IL-10 se determinaron mediante la técnica de ELISA, empleando kits comerciales (OptEIA ELISA Set, Biosciences, USA) siguiendo las recomendaciones del fabricante. Los resultados se muestran como pg/mL de la citoquina evaluada.

**Manejo estadístico.** Las variables cualitativas se presentan como porcentajes y las cuantitativas como media $\pm$ DE. Se empleó la prueba Ji cuadrado para comparar variables cualitativas entre los grupos; las variables cuantitativas se compararon mediante la prueba t de Student o Mann-Whitney, según que tuvieran distribución normal o no. Se consideraron significativos valores de  $P < 0.05$ . Los datos se procesaron y analizaron con los software SPSS for Window (v 19.0), GraphPad Prism (v 5.0) e InStat (v 3.0).

## Resultados

Se reclutaron inicialmente 42 individuos en consumo activo de heroína (CA), 29 en terapia de mantenimiento con metadona (Met) y 20 controles no adictos (Cont). Se excluyeron del estudio 19 individuos en consumo activo por resultar positivos

para VIH, hepatitis B o C; por lo tanto, 32 pacientes fueron incluidos finalmente en el grupo CA. El 91,7% de los voluntarios eran de sexo masculino ( $n=66$ ) y la edad promedio de los 72 individuos fue de  $25,2 \pm 8$  años (rango 14-63), sin diferencias significativas entre los tres grupos ( $p=0,55$ ).

El tiempo de abuso de heroína fue de  $5,3 \pm 2,9$  años, sin diferencias entre los que continuaban en consumo activo y los del programa de metadona ( $p=0,3$ ). Todos los adictos a heroína reportaron consumo de otras drogas ilícitas, en el siguiente orden: 50/52 (96%) marihuana, 41/52 (79%) cocaína/basuco y 27/52 (52%) otros psicoactivos (anfetaminas, benzodiazepinas, inhalantes, etc). Resulta interesante anotar que en el subgrupo de pacientes en tratamiento con metadona (dosis:  $43 \pm 17$  mg/día; tiempo de uso:  $11,4 \pm 15,6$  meses) prácticamente todos (18/19) seguían consumiendo marihuana, mientras que ninguno (0/14) continuaba consumiendo cocaína/basuco.

Respecto a los marcadores de inmunidad, el cuadro 1 muestra que hay diferencias significativas en los niveles de FNT- $\alpha$  ( $p=0,0004$ ), IFN- $\gamma$  ( $p=0,014$ ) e IL-10 ( $p=0,0001$ ), entre los tres subgrupos de individuos estudiados. La reducción

**Cuadro 1.** Niveles de citoquinas en adictos a heroína en consumo activo, en el programa con metadona y en controles no adictos.

Citoquina	Controles (n=20)	Adictos a heroína		P*
		Consumo activo (n=32)	Terapia con metadona (n=20)	
FNT- $\alpha$	37,1 $\pm$ 50,3	18,5 $\pm$ 18	4,4 $\pm$ 8,3	0,0004
IFN- $\gamma$	7,9 $\pm$ 17,2	16,3 $\pm$ 24	2,5 $\pm$ 5,7	0,014
IL-10	1,8 $\pm$ 3,5	0,93 $\pm$ 1,7	1,2 $\pm$ 1,8	0,0001

\*Test de Mann-Whitney. Los valores de citoquinas están expresados como pg/mL (media  $\pm$  DE).

**Cuadro 2.** Niveles de citoquinas en adictos a heroína y en controles no adictos.

Citoquina	Controles (n=20)	Adictos a heroína (n=52)	P*
FNT- $\alpha$	37,1 $\pm$ 50,3	13,0 $\pm$ 16,4	0,0002
IFN- $\gamma$	7,9 $\pm$ 17,2	11,0 $\pm$ 20,3	0,022
IL-10	1,8 $\pm$ 3,5	1,0 $\pm$ 1,7	0,0001

\*:Test de Mann-Whitney. Los valores de citoquinas están expresados como pg/mL (media  $\pm$  DE).

en los niveles séricos de las citoquinas evaluadas fue mayor en los pacientes en tratamiento con metadona (Met) comparado con los otros dos grupos.

La significancia estadística se conserva para las tres citoquinas cuando se comparan adictos (en terapia con Metadona o no) con los no adictos (cuadro 1).

Los individuos adictos poseen unos niveles de citoquinas significativamente más bajos que aquellos del grupo control (cuadro 2).

## Discusión

En general, los opioides poseen efectos inmunosupresores sobre el sistema inmune innato y adquirido, tanto en consumidores por razones médicas como en adictos a opioides y, aunque dichos efectos podrían afectar el curso natural de enfermedades como el cáncer, o en pacientes ancianos o inmunodeprimidos, la relevancia clínica de los efectos inmunosupresores de los opioides sigue siendo incierta (30).

Es importante indicar que la habilidad de los opioides para modular el funcionamiento del sistema inmune se asocia con mayor susceptibilidad al desarrollo de enfermedades infecciosas, pero no todos los opioides inducen los mismos efectos inmunosupresores en

todas las condiciones clínicas, como se ha demostrado de manera general con la metadona y la buprenorfina, las cuales activan el sistema inmune que ha sido suprimido por el uso de heroína (31).

Los linfocitos T CD4<sup>+</sup> o ayudadores (Th) se han dividido en subpoblaciones Th1 (productora de IL-2 e IFN- $\gamma$ ), Th2 (productora de IL-4) y la subpoblación de células Treg o reguladoras (productora de IL-10 y TGF- $\beta$ ). Algunos estudios que han evaluado el efecto del consumo de heroína sobre el balance de las citoquinas Th1/Th2 han encontrado que el balance de citoquinas se dirige hacia la respuesta Th1 (32), mientras otros estudios indican que el balance se dirige hacia la respuesta Th2 (28). Recientemente se reportó que la expansión de las células Treg en sangre periférica de adictos a heroína explica el efecto inmunosupresor de dicha sustancia y que, por el contrario, la metadona disminuye el número de células Treg circulantes, lo cual lleva a la activación del sistema que había sido inhibido por el uso de la heroína. Estos resultados han sido explicados por la actividad reguladora de la IL-10, producida por las células Treg (33).

En este estudio evaluamos las concentraciones séricas de IFN- $\gamma$  (citoquina clave en la respuesta Th1, relacionada con el control de agentes infecciosos), TNF- $\alpha$  (citoquina

proinflamatoria producida igualmente por las células de la subpoblación Th1, que también cumple un papel importante en la respuesta antimicrobiana) y la IL-10 (citoquina con efecto anti-inflamatorio y modulador de la respuesta inmune). El hecho de encontrar disminución significativa en los niveles de TNF- $\alpha$  e IL-10 en adictos a heroína, comparado con los controles sanos, sumado al incremento en los niveles de IFN- $\gamma$  (cuadro 2), indica que bajo las condiciones experimentales empleadas, no es posible determinar claramente si el balance de citoquinas se dirige hacia la respuesta Th1 o hacia la respuesta Th2.

Por otra parte, la disminución en los niveles de TNF- $\alpha$  y de IFN- $\gamma$  observados al comparar los adictos a heroína en tratamiento con metadona y los adictos en consumo activo, puede indicar que la metadona disminuye la respuesta de células T (31) y dirige el balance de citoquinas producidas hacia la respuesta Th2. El tratamiento con metadona incrementó significativamente los niveles de IL-10, comparados con los pacientes en consumo activo, indicando que dicho tratamiento tiende a regresar los niveles séricos de IL-10 a los valores encontrados en los controles sanos (cuadro 1). Adicionalmente, dado que el TNF- $\alpha$  es un mediador de respuesta inflamatoria aguda y el IFN- $\gamma$  se considera marcador de respuesta inflamatoria crónica, los mayores niveles de estas citoquinas en pacientes en consumo activo vs en tratamiento con metadona (cuadro 1) nos hace pensar que los pacientes en consumo activo se encuentran más expuestos a condiciones pro-inflamatorias agudas y crónicas, en comparación con los adictos en tratamiento, estos últimos inmersos

en un proceso de cambios de hábitos y reinserción familiar y social.

Los resultados indican que, basados en la medición sérica de citoquinas, no es posible determinar con claridad el patrón de respuesta inmune inducido por el tratamiento con metadona, en pacientes adictos a heroína. Es necesario tener en cuenta el efecto que podría tener el tiempo de tratamiento con metadona sobre los niveles de citoquinas plasmáticas, asumiendo que sus concentraciones regresarían progresivamente hasta los niveles encontrados en pacientes no adictos, a medida que se incrementa el tiempo de tratamiento.

Se hace necesario entonces evaluar la respuesta de citoquinas en el mismo sujeto experimental antes y después de ingresar al PMM, en cultivos de mononucleares de sangre periférica, estimulados con Concanavalina A o Fitohemaglutinina, para tener una mejor aproximación al tipo de respuesta Th1 o Th2 que predomina antes y después del tratamiento con metadona.

## Financiación

Esta investigación fue financiada por la Fundación Universitaria Autónoma de las Américas, por la Universidad Tecnológica de Pereira y por el Hospital Mental Universitario de Risaralda (HOMERIS).

## Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses y que no hubo injerencia externa alguna en la marcha del estudio o en la preparación del manuscrito.

## Referencias

1. Khokhar JY, Ferguson CS, Zhu AZ, Tyndale RF. Pharmacogenetics of drug dependence: role of gene variations in susceptibility and treatment. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2010; 50:39-61.
2. Connock M, Juarez-Garcia A, Jowett S, Frew E, Liu Z, Taylor RJ, *et al.* Methadone and buprenorphine for the management of opioid dependence: a systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess.* 2007; 11:1-17.
3. Bosshart H. Morphine-mediated suppression of phagocytosis. *Int Immunopharmacol.* 2010; 10:264-5.
4. Börner C, Warnick B, Smida M, Hartig R, Lindquist JA, Schraven B, *et al.* Mechanisms of opioid-mediated inhibition of human T cell receptor signaling. *J Immunol.* 2009; 183:882-9.
5. Toskulkao T, Pornchai R, Akkarapatumwong V, Vatanatunyakum S, Govitrapong P. Alteration of lymphocyte opioid receptors in methadone maintenance subjects. *Neurochem Int.* 2010; 56:285-90.
6. Kraus J, Lehmann L, Börner C, Höllt V. Epigenetic mechanisms involved in the induction of the mu opioid receptor gene in Jurkat T cells in response to interleukin-4. *Mol Immunol.* 2010; 48:257-63.
7. Wang J, Ma J, Charboneau R, Barke R, Roy S. Morphine inhibits murine dendritic cell IL-23 production by modulating Toll-like receptor 2 and Nod2 signaling. *J Biol Chem.* 2011; 286:10225-32.
8. Hutchinson MR, Shavit Y, Grace PM, Rice KC, Maier SF, Watkins LR. Exploring the neuroimmunopharmacology of opioids: an integrative review of mechanisms of central immune signaling and their implications for opioid analgesia. *Pharmacol Rev.* 2011; 63:772-810.
9. Nugent AL, Houghtling RA, Bayer BM. Morphine suppresses MHC-II expression on circulating B lymphocytes via activation of the HPA. *J Neuroimmune Pharmacol.* 2011; 6:130-41.
10. Al-Hashimi M, Scott SW, Thompson JP, Lambert DG. Opioids and immune modulation: more questions than answers. *Br J Anaesth.* 2013; 111:80-8.
11. Eisenstein TK. Opioids and the immune system: what is their mechanism of action? *Br J Pharmacol.* 2011; 164:1826-8.
12. Wang X, Ye L, Zhou Y, Liu MQ, Zhou DJ, Ho WZ. Inhibition of anti-HIV microRNA expression: a mechanism for opioid-mediated enhancement of HIV infection of monocytes. *Am J Pathol.* 2011; 178:41-7.
13. Sauriyal DS, Jaggi AS, Singh N. Extending pharmacological spectrum of opioids beyond analgesia: multifunctional aspects in different pathophysiological states. *Neuropeptides.* 2011; 45:175-88.
14. Sacerdote P. Opioid-induced immunosuppression. *Curr Opin Support Palliat Care.* 2008; 2:14-8.
15. Shirzad H, Shahrani M, Rafeian-Kopaei M. Comparison of morphine and tramadol effects on phagocytic activity of mice peritoneal phagocytes *in vivo*. *Int Immunopharmacol.* 2009; 9:968-70.
16. Kvaratskhelia E, Maisuradze E, Dabrundashvili NG, Natsvlishvili N, Zhuravliova E, Mikeladze DG. N-methyl-D-aspartate and sigma-ligands change the production of interleukins 8 and 10 in lymphocytes through modulation of the NMDA glutamate receptor. *Neuroimmunomodulation.* 2009; 16:201-7.
17. Mashkina AP, Cizkova D, Vanicky I, Boldyrev AA. NMDA receptors are expressed in lymphocytes activated both *in vitro* and *in vivo*. *Cell Mol Neurobiol.* 2010; 30:901-7.
18. Capuron L, Miller AH. Immune system to brain signaling: neuropsychopharmacological implications. *Pharmacol Ther.* 2011; 130:226-38.
19. Boldyrev AA, Bryushkova EA, Vladychenskaya EA. NMDA Receptors in Immune Competent Cells. *Biochemistry.* 2012; 77:128-34.
20. Bart G. Maintenance medication for opiate addiction: the foundation of recovery. *J Addict Dis.* 2012; 31:207-25.
21. Soyka M, Kranzler HR, van den Brink W, Krystal J, Möller HJ, Kasper S; WFSBP Task Force on Treatment, Guidelines for Substance Use Disorders. The World Federation of Societies of Biological Psychiatry (WFSBP) guidelines for the biological treatment of substance use and related disorders. Part 2: Opioid dependence. *World J Biol Psychiatry.* 2011; 12:160-87.

22. Mattick RP, Breen C, Kimber J, Davoli M. Methadone maintenance therapy versus no opioid replacement therapy for opioid dependence. *Cochrane Database Syst Rev.* 2009;(3).CD002209. <http://dx.doi.org/10.1002/14651858>.
23. Newman RG. Opiate agonist treatment for addiction. *Lancet.* 2008; 372:1951-2.
24. D'Egidio PF, Bignamini E, De Vivo E, Leonardi C, Pieri MC, González-Saiz F, *et al.* METODO, A Prospective Observational Study to Assess the Efficacy and Tolerability of Methadone in Heroin-Addicted Patients Undergoing a Methadone Maintenance Treatment: Preliminary Results at Baseline Evaluation. *Subst Use Misuse.* 2013; 1-11. <http://dx.doi.org/10.3109/10826084.2013.800886>.
25. Skeie I, Brekke M, Lindbaek M, Waal H. Somatic health among heroin addicts before and during opioid maintenance treatment: a retrospective cohort study. *BMC Public Health.* 2008; 8:43.
26. DeBeck K, Kerr T, Li K, Milloy MJ, Montaner J, Wood E. Incarceration and drug use patterns among a cohort of injection drug users. *Addiction.* 2009; 104:69-76.
27. Barta WD, Kurth ME, Stein MD, Tennen H, Kiene SM. Craving and self-efficacy in the first five weeks of methadone maintenance therapy: a daily process study. *J Stud Alcohol Drugs.* 2009; 70:735-40.
28. Sacerdote P, Franchi S, Gerra G, Leccese V, Panerai AE, Somaini L. Buprenorphine and methadone maintenance treatment of heroin addicts preserves immune function. *Brain Behav Immun.* 2008; 22:606-13.
29. Hutchinson MR, Somogyi AA. (S)-(+)-methadone is more immunosuppressive than the potent analgesic (R)-(-)-methadone. *Int Immunopharmacol.* 2004; 4:1525-30.
30. Sacerdote P, Franchi S, Panerai AE. Non-analgesic effects of opioids: mechanisms and potential clinical relevance of opioid-induced immunodepression. *Curr Pharm Des.* 2012; 18:6034-42.
31. Carrigan KA, Saurer, TB, Ijames SG, Lysle DT. Buprenorphine produces naltrexone reversible alterations of immune status. *Int Immunopharmacol.* 2004; 4:419-28.
32. Azarang A, Mahmoodi M, Rajabalian S, Shekari MA, Nosratabadi J, Rezaei N. T helper 1 and 2 serum cytokine assay in chronic opioid addicts. *Eur Cytokine Netw.* 2007; 18:210-14.
33. Riss GL, Chang DI, Wevers C, Westendorf AM, Buer J, Scherbaum N, *et al.* Opioid maintenance therapy restores CD4+ T cell function by normalizing CD4+CD25(high) regulatory T cell frequencies in heroin user. *Brain Behav Immun.* 2012; 26:972-78.