Archive of SID

The Journal of Qazvin Univ. of Med. Sci.
No. 23 , Autumn 2002

مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی قزوین
شماره ۲۳ - پاییز ۱۳۸۱

تولید نیتریک‌اکساید متعاقب واکسیناسیون با مایکوباکتریوم توبرکلوزیس کشته شده و ب ث ژ

افسانه آقائی* دکتر احمد زواران حسینی** دکتر سید محمد مؤذنی***

Nitric oxide production following vaccination with killed mycobacterium tuberculosis (H37Rv) and BCG

A. Aghaie *A. Zavaran Hosseni* *S.M. Moazzeni*

Abstract

Background : *Protective immune response induced by viable BCG has been suggested by several investigators. Both killed BCG and Mycobacterium tuberculosis are able to induce response. Nitric oxide (NO) is one of the non- specific responses produced against these agents.*

Objective : *To survey the effect of alive, killed BCG and also killed Mycobacterium tuberculosis (H37Rv strain) on NO Production.*

Methods : *6-8- week-old female BALB/c mice were used. Three groups were vaccinated with viable, killed BCG and killed Mtb, respectively. One group recieved PBS as a control. After 5-8 weeks of vaccination, peritoneal cells of all groups were collected in usual manner and plated out in 96-well plates. Cells were treated with killed H37Rv, killed BCG and viable BCG alone or with rIFNγ and NO inhibitors (aminoguanidine and NGMA). Supernatant of each well was collected after 24h. NO level was estimated by Griess method by ELISA reader at 540nm absorbance.*

Findings: *Results indicated that NO induction level in vaccinated groups were higher than control ($P \leq 0.05$). Among vaccinated groups, those vaccinated with Mtb produced more NO than the others.*

Conclusion : *Killed Mtb was more potent than the others and should be considered in any planning of new vaccine in term of NO release.*

Keywords: *Nitric Oxide, BCG, Mycobacterium Ttuberculosis, Macrophages, BALB/c Mice*

چکیده

زمینه : یکی از پاسخ‌های غیراختصاصی تولید شده بر ضد انواع مایکوباکتریوم، محصولات مسیر وابسته به متابولیسم ال-آرژینین یعنی نیتریک اکساید است که در کنترل عفونت مایکوباکتریال در موش نقش مهمی دارد.

هدف: مطالعه به منظور بررسی تأثیر ب ث ژ زنده وکشته شده و مایکوباکتریوم توبرکلوزیس کشته شده سویه *H37Rv* در تولید نیتریک اکساید و تفاوت آنها در تحریک تولید این ماده به وسیله سلول‌ها انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق از موش ماده *BALB/c* ۶ تا ۸ هفته‌ای استفاده شد که در گروه‌های مختلف ده‌تایی قبل از انجام آزمایش‌ها با *H37Rv* کشته شده، ب ث ژ زنده و ب ث ژ کشته شده به طور جداگانه واکسینه شدند و یک گروه نیز بدون واکسیناسیون به عنوان گروه شاهد مورد مطالعه قرار گرفت. پس از طی مدت زمان لازم برای ایمن‌شدن، سلول‌های زنده صفاقی موش‌ها به صورت *in vitro* با *H37Rv* کشته، ب ث ژ زنده و کشته،به تنهایی و یا همراه با اینترفرون گاما و مهارکننده‌های سنتز نیتریک اکساید (*AG* و *NGMA*) مجاور شدند و میزان تولید نیتریک اکساید در آنها پس از ۲۴ ساعت به روش گریس در طول موج ۵۴۰ نانومتر با الایزا اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: گروه‌های از قبل واکسینه شده نسبت به گروه‌های واکسینه نشده، توانایی بیشتری در تولید نیتریک اکساید داشتند و در بین گروه‌های از قبل واکسینه شده، گروهی که با *H37Rv* کشته شده واکسینه شده بود، نسبت به گروه شاهد میزان نیتریک اکساید بیشتری تولید کرده بود ($P < ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: به کارگیری شاخص‌های آنتی‌ژن برانگیزنده سیستم ایمنی غیراختصاصی در مایکوباکتریوم توبرکلوزیس کشته شده می‌تواند در طراحی واکسن‌های جدید مد نظر قرار گیرد.

کلید واژه‌ها: نیتریک اکساید، ب ث ژ، مایکوباکتریوم توبرکلوزیس، ماکروفاژ، موش *BALB/c*

* دانشجوی دوره دکتری گروه ایمنی‌شناسی دانشگاه تربیت مدرس
** دانشیار گروه ایمنی‌شناسی دانشگاه تربیت مدرس
*** استادیار گروه ایمنی‌شناسی دانشگاه تربیت مدرس

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه:

پدیدار شدن مجدد بیماری سل در بسیاری از کشورهای صنعتی تأکیدی بر محدودیت دانش امروزی درباره مکانیسم‌های مقاومت اکتسابی و پاتوژنز بیماری سل است.[۷] برای شناسایی و درمان بیماران مبتلا به سل تلاش‌های فراوانی انجام شده است، اما درمان کنونی به دوره طولانی چند دارویی نیاز دارد که در بسیاری موارد سویه‌های مقاوم به دارو نیز پیدا شده‌اند.[۴] ب ث ژ یک گونه تخفیف حدت یافته زنده مایکوباکتریوم بوویس است که در واکسیناسیون بر علیه سل بیشترین استفاده را دارد. اثربخشی حفاظتی ب ث ژ به طور تجربی بین صفر تا ۸۰ درصد متفاوت است. واکسیناسیون با ب ث ژ در صورتی بر علیه مایکوباکتریوم توبرکلوزیس ایمنی ایجاد می‌کند که باکتری زنده باشد. به منظور تولید واکسن‌های جدید غیرزنده و ایمن‌تر، شناسایی عوامل اثربخش بر واکسن زنده لازم است.[۴] از طرفی این نظر که ایمنی سلولی در عفونت‌های مایکوباکتریال از طریق ماکروفاژها اعمال می‌گردد مورد قبول است.[۶]

امروزه نقش واسطه‌های فعال نیتروژن مانند نیتریک اکساید در دفاع علیه پاتوژن داخل سلولی ثابت شده است و مطالعات زیادی در مورد نقش نیتریک اکساید در بیماری ناشی از مایکوباکتریا صورت گرفته است .

در مدل موشی، توانایی ماکروفاژها برای تولید نیتریک اکساید حساسیت یا مقاومت میزبان را نسبت به مایکوباکتریوم توبرکلوزیس تعیین می‌کند.[۸] با توجه به نقش و اهمیت ماکروفاژها در ایجاد محیط امن یا محل کشتن مایکوباکتریوم توبرکلوزیس و همچنین تولید نیتریک اکساید به وسیله ماکروفاژها و اهمیت این مولکول در کنترل باکتری یا مرگ آن، در این مطالعه تأثیر مایکوباکتریوم توبرکلوزیس کشته شده سویه H37Rv ، ب ث ژ زنده و کشته شده بر تولید نیتریک اکساید توسط ماکروفاژهای حساس شده موش BALB/c به صورت in vitro یا in vivo مطالعه گردید.

مواد و روش‌ها:

برای انجام آزمایش‌ها، موش‌های ماده ۶ تا ۸ هفته‌ای از انستیتو رازی ایران خریداری و به چهار گروه (هرگروه ده موش) تقسیم شدند. موش‌های گروه اول و دوم و سوم به طور جداگانه تحت واکسیناسیون با ب ث ژ زنده، ب ث ژ کشته شده و مایکوباکتریوم توبرکلوزیس کشته شده سویه H37Rv قرار گرفتند. موش‌های گروه چهارم (کنترل) به واکسیناسیون نیاز نداشتند و به آنها Phosphate Buffer Saline استریل تزریق گردید و در شرایط یکسان با موش‌های واکسینه شده نگه‌داری شدند.

واکسن ب ث ژ زنده اهدایی انستیتو پاستور (BCG Pasteur Strain 1173-P2) ۲۰ دقیقه در فشار ۲۰ پوند بر اینچ مربع در حرارت ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو و به عنوان واکسن کشته شده استفاده شد.

مایکوباکتریوم توبرکلوزیس سویه H37Rv با مشخصات 64.31T از انستیتو پاستور فرانسه به صورت اهدایی تهیه شد. باسیل‌های کشت داده شده در محیط سوتون (Sauton) به مدت ۲۰ دقیقه در فشار ۲۰ پوند بر اینچ مربع در حرارت ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو شدند. سپس باسیل‌ها سانتریفوژ و مایع رویی محیط کشت خالی شد و این باسیل‌ها به عنوان مایکوباکتریوم

www.SID.ir

Archive of SID

توبرکلوزیس کشته شده مورد استفاده قرار گرفتند. واکسن‌های ذکر شده برای واکسیناسیون *in vivo* استفاده شد و از همین واکسن‌ها نیز برای افزودن به کشت سلول‌های صفاقی به صورت *in vitro* استفاده گردید.

موش‌ها طبق زمان‌بندی مشخص کشته شدند و سلول صفاقی آنها استخراج گردید. سلول‌های صفاقی را پس از سه بار شسته شدن در *RPMI 1640* به حجم یک میلی لیتر رسانده و با استفاده از لام نئوبار تعداد سلول‌ها شمارش گردید. سپس در صد زنده بودن آنها تعیین شد و به میزان 2×10^5 سلول در محیط *RPMI 1640* حاوی *FCS* به هر چاهک پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای اضافه شد.

در مرحله بعد طبق جدول شماره ۱ مواد لازم به هر چاهک اضافه و حجم نهایی چاهک‌ها با *RPMI 1640* حاوی *FCS* به ۲۵۰λ رسانده شد. سلول‌های صفاقی نیز طبق همین جدول کشت داده شدند و پس از ۲۴ ساعت مایع رویی کشت سلول (*Supernatant*) برای سنجش نیتریک اکساید جدا گردید. چون نیتریک اکساید بسیار ناپایدار است و نیمه عمری بین ۶ تا ۱۰ ثانیه دارد و به سرعت در حضور اکسیژن به نیتریت تبدیل می‌شود، لذا غلظت نیتریت در مایع رویی کشت سلول به عنوان شاخص تولید نیتریک اکساید در نظر گرفته شد و میزان آن با واکنش رنگ سنجی گریس تعیین گردید.(۵)

از آزمون‌های غیرپارامتریک کروسکال- والیس در سطح معنی‌داری $P<0/05$ به منظور تجزیه و تحلیل نتایج به دست آمده استفاده شد.

جدول ۱:

نحوه کشت سلول‌های صفاقی گروه‌های واکسینه شده و واکسینه نشده

گروه‌ها / مواد اضافه شده	*H37Rv*	ب‌ث‌ژ کشته‌شده*	ب‌ث‌ژ*	*H37Rv*	ب‌ث‌ژ کشته‌شده	ب‌ث‌ژ
سلول به تنهایی	+	+	+	+	+	+
سلول + واکسن	+	+	+	+	+	+
سلول + واکسن + IFN-γ موشی	+	+	+	+	+	+
سلول+واکسن+IFN-γ موشی + NGMA	+	+	+	+	+	+
سلول + واکسن + IFN-γ موشی + AG	+	+	+	+	+	+
LPS+IFN-γ موشی	+	+	+	+	+	+
LPS+IFN-γ موشی + NGMA	+	+	+	+	+	+
LPS+IFN-γ موشی + AG	+	+	+	+	+	+

* گروه‌های واکسینه نشده

- LPS ۲۰ نانوگرم در میلی لیتر
- واکسن 1×10^7 جرم به ازای هر چاهک
- IFN-γ نوترکیب موشی ۲۰ نانوگرم در میلی لیتر [۵]
- NGMA و AG ۱ میلی‌مول به ازای هر چاهک

www.SID.ir

Archive of SID

یافته‌ها :

در گروه واکسینه شده با ب ث ژ زنده، افزودن مواد مختلف (واکسن، AG, NGMA, IFN-γ) میزان تولید نیتریک اکساید را نسبت به سلول به تنهایی افزایش داد ($P<0/00$). کنترل LPS+IFN-γ بیشترین و سلول به تنهایی کمترین میزان تولید نیتریک اکساید را به خود اختصاص داد. استفاده از مهارکننده‌های AG, NGMA فقط در مورد LPS+IFN-γ میزان تولید نیتریک اکساید را تا حد زمینه کاهش داد. در گروه واکسینه شده با ب ث ژ کشته شده، واکسن بدون IFN-γ و با IFN-γ و همچنین کنترل مثبت LPS+IFN-γ ، تولید نیتریک اکساید را نسبت به سایر گروه‌ها افزایش داد ($P<0/00$) و استفاده از مهارکننده‌های AG , NGMA تولید نیتریک اکساید را تا حد پایه کاهش داد (جدول شماره ۲).

در گروه واکسینه شده با H37Rv کشته شده، واکسن بدون IFN-γ و با IFN-γ و نیز کنترل مثبت، تولید نیتریک اکساید را نسبت به سایر گروه‌ها افزایش داد و مهارکننده‌های AG, NGMA باعث کاهش تولید نیتریک اکساید تا حد پایه شد ($P<0/00$) (نمودار شماره ۱).

در گروه‌های واکسینه نشده که به صورت in vitro تحت تأثیر واکسن‌های مختلف قرار گرفتند، فقط گروهی که H37Rv کشته شده را با IFN-γ دریافت کرده بودند قادر به افزایش تولید نیتریک اکساید بودند و این افزایش تولید، تفاوت معنی‌داری را با سلول به تنهایی و مهارکننده‌ها نشان داد. ($P<0/00$)

دو گروه دیگر واکسینه نشده (گروه ب ث ژ زنده و ب ث ژ کشته) با افزودن مواد مختلف تفاوت معنی‌داری در تولید نیتریک اکساید نشان ندادند ($P<0/05$) (جدول شماره ۳).

جدول ۲ :

میانگین غلظت نیتریک اکساید تولید شده برحسب میکرومولار در گروه‌های واکسینه شده

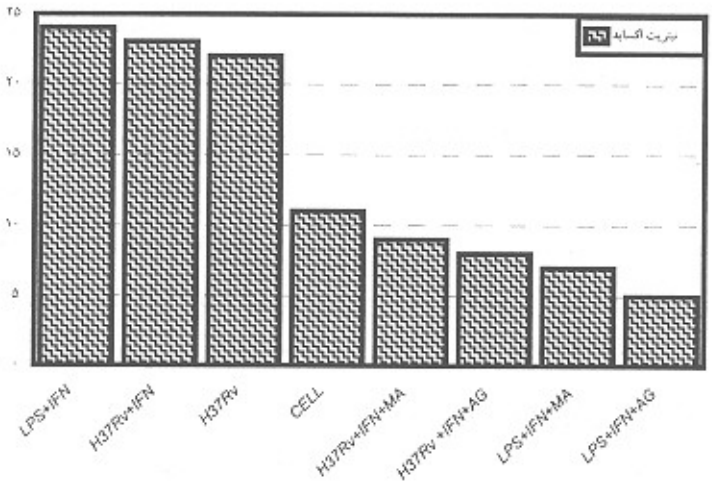
گروه‌ها / مواد اضافه شده	H37Rv کشته شده	ب ث ژ کشته شده	ب ث ژ
سلول به تنهایی	۱۰/۶۸±۲/۱	۷/۴۲±۲/۲۵	۶±۰/۴۶
سلول + واکسن	۲۲/۳۴±۴/۵	۱۵/۲±۳/۵	۹/۵۸±۰/۹۳
سلول + واکسن + IFN-γ موشی	۲۲/۹۳±۴/۳۳	۱۴/۵۹±۲/۶	۹/۵۲±۱/۴۲
سلول +واکسن +IFN-γ موشی+NGMA	۸/۴۶±۲/۱	۷/۵۴±۱/۳۵	۹/۸±۱/۴
سلول +واکسن +IFN-γ موشی+AG	۷/۱۹±۱/۴	۸/۲۹±۰/۸۱	۹/۲۲±۱/۳۵
LPS + IFN-γ موشی	۲۳/۹۵±۲/۱	۱۷/۵۶±۱/۸	۱۶/۵۹±۱/۸۸
LPS + IFN-γ موشی + NGMA	۵/۰۶±۰/۸۴	۳/۵۷±۰/۲۷	۶±۱/۱۲
LPS + IFN-γ موشی + AG	۳/۸۶±۰/۳۸	۴/۵۸±۰/۵۴	۴/۷۱±۰/۴۸

www.SID.ir

Archive of SID

نمودار ۱ :

تولید نیتریک اکساید بر حسب میکرومولار در گروه واکسینه شده با *H37Rv* کشته شده



جدول ۳ :

میانگین غلظت نیتریک اکساید تولید شده برحسب میکرومولار در گروه‌های واکسینه نشده

گروه‌ها / مواد اضافه شده	*H37Rv* کشته شده (۰/۱۳±میانگین)	ب ث ژ کشته شده (۰/۱۳±میانگین)	ب ث ژ (انحراف معیار ±میانگین)
سلول به تنهایی	۷/۷۸±۱/۴۵	۷/۷۸±۱/۴۷	۷/۷۷±۱/۴۷
سلول + واکسن	۱۱/۳۲±۲/۶	۱۲/۴۷±۲/۴	۱۰/۷۴±۰/۵۹
سلول + واکسن + *IFN-γ* موشی	۱۶/۱±۲/۷	۱۳/۳۳±۲/۲	۱۱/۰۵±۰/۶۸
سلول +واکسن +*IFN-γ* موشی+*NGMA*	۶/۳۴±۰/۷۶	۸±۰/۷۶	۱۱/۰۶±۰/۵۵
سلول +واکسن +*IFN-γ* موشی+*AG*	۵/۴۴±۰/۵۹	۸/۶۵±۱/۲	۱۰/۱۳±۰/۵۶
IFN-γ + *LPS* موشی	۱۵/۷۵±۳/۲	۱۵/۷۵±۳/۱	۱۴/۹۸±۲/۶

▣ بحث و نتیجه‌گیری :

در این آزمایش‌ها، سلول به تنهایی بدون دریافت هیچ گونه محرکی به عنوان حد پایه تولید نیتریک اکساید (کنترل منفی) در نظر گرفته شد. در بین آزمایش‌های متفاوت، سلول‌ها به طور متوسط ۱/۸±۶/۵ میکرومولار نیتریک اکساید تولید کردند. البته سلول در شرایط غیرتحریکی قادر به تولید نیتریک اکساید در این مقادیر نیست و در این مورد میزان نیتریت محیط کشت می‌تواند در افزایش میزان واقعی تأثیرگذار باشد. از طرفی قبلاً ثابت شده بود که ماکروفاژهای صفاقی موش پس از تحریک با *LPS*

www.SID.ir

Archive of SID

مقدار معنی‌داری نیتریت ایجاد می‌کنند و IFN-γ یک واسطه اصلی در فعال شدن ماکروفاژها و مقاومت به پاتوژن‌های داخل سلولی است.[۱و۳و۱۰] دوز IFN-γ استفاده شده حد اقل دوز استانداردی است که همراه با آنتی ژن یا LPS قادر است ماکروفاژها را برای تولید نیتریک اکساید فعال کند. در واقع برای تحریک سلول دو سیگنال هم زمان مورد نیاز است. سیگنال اول با رسیدن آنتی ژن یا LPS به سلول هدف تامین می‌شود و از IFN-γ به عنوان سیگنال دوم استفاده می‌شود. در این صورت سلول فعال شده، فعالیت‌های بعدی خود را آغاز می‌کند. از این رو LPS+IFN به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد.

درگروه واکسینه شده با ب ث ژ زنده، واکسن بدون اینترفرون و با اینترفرون باعث افزایش تولید نیتریک اکساید در مقایسه با سلول به تنهایی شد. البته با وجود این که اختلاف تولید نیتریک اکساید معنی‌دار بود، اما افزایش تولید چشمگیر نبود. دو نوع مهار کننده NGMA و AG تأثیری در مهار تولید نیتریک اکساید نداشتند. این یافته با یافته‌های کافمن و هانانو مطابق است که در سال ۱۹۹۵ ماکروفاژهای آلوئولار موش را ابتدا با IFN-γ تحریک و سپس آنها را با مایکوباکتریوم بوویس سویه دیترویت (Detroit) عفونی کردند که باعث مهار رشد مایکوباکتریوم شد و این مهار با تولید نیتریک اکساید در ماکروفاژها همراه بود. اما عفونت مایکوباکتریوم بوویس قبل از تحریک IFN-γ نه تنها باعث تولید نیتریک اکساید در ماکروفاژها نمی‌شد بلکه باعث افزایش رشد مایکوباکتریوم می‌شد.[۷] یانگ و همکاران در سال ۱۹۹۵ گزارش کردند برای آن که ب ث ژ بتواند نیتریک اکساید را در ماکروفاژهای صفاقی موش القا کند غیر از IFN-γ و در جهت همکاری با IFN-γ به عوامل دیگری مانند TNF-α نیاز دارد.[۱۳] در سال ۱۹۹۷ آلدول و همکاران نیاز به تحریک متوالی IFN-γ و LPS را برای مهار رشد مایکوباکتریوم و افزایش تولید نیتریک اکساید ذکر کردند.[۲] برای فعال شدن ژن NOS و تولید نیتریک اکساید به وسیله ماکروفاژها اثر سینرژیسم TNF-α و IFN-γ ثابت شده است و شاید ماکروفاژهای عفونی باب ث ژ نیاز به عامل کمکی TNF-α در القا بیان آنزیم iNOS دارند.[۱۱]

درگروه واکسینه شده با ب ث ژ کشته، افزودن واکسن بدون IFN-γ و با IFN-γ باعث افزایش القا نیتریک اکساید شد که این افزایش تولید، نسبت به سلول به تنهایی و مهارکننده‌ها معنی‌دار بود و مهارکننده‌ها تولید نیتریک اکساید را حتی کمتر از حد زمینه پایین آوردند.

درگروه واکسینه شده با H37Rv نیز افزایش تولید نیتریک اکساید با افزودن واکسن بدون IFN-γ و با IFN-γ دیده شد و دو نوع مهارکننده NGMA و AG سطح تولید نیتریک اکساید را بسیار پایین آوردند. بنابراین باسیل کشته شده H37Rv با شاخص‌های آنتی‌ژنیک قوی خود توانسته است پاسخ نیتریک اکساید را القا کند و این القا به حد کافی بوده است که مهارکننده‌ها بتوانند تأثیر خود را اعمال کنند.

درگروه‌های واکسینه نشده که به صورت in vitro تحت تأثیر واکسن‌ها قرار گرفتند، گروه‌های ب ث ژ زنده و کشته افزایش معنی‌داری در القا تولید نیتریک اکساید نشان ندادند، اما تولید نیتریک اکساید درگروه H37Rv کشته وقتی سلول‌ها تحت تأثیر واکسن و اینترفرون قرار گرفتند نسبت به حد زمینه و دو نوع

www.SID.ir

Archive of SID

مهارکننده معنی‌دار بود.

عدم وجود تفاوت‌های برجسته در تولید نیتریک اکساید درگروه‌های واکسینه نشده، تأثیر واکسیناسیون را مطرح می‌کند و این که مواجهه قبلی سلول‌ها با آنتی‌ژن‌ها می‌تواند بر آماده بودن آنها برای پاسخ تأثیر بگذارد.

باید به این مسأله توجه داشت که انواع مختلف سلول‌های ماکروفاژی برای القا پاسخ به محرک‌های متفاوتی نیاز دارند.[۹] یانگ و همکاران در سال ۱۹۹۵ همکاری TNF-α را با IFN-γ در تولید نیتریک اکساید ضروری دانستند و در سال ۱۹۹۷ آلدول و همکاران تحریک همزمان IFN-γ را با LPS برای تولید نیتریک اکساید و مقاومت بر علیه مایکوباکتریوم بوویس بیماری‌زا موفقیت‌آمیز توصیف کردند.[۸و ۱۳] با توجه به تحقیقاتی که قبلاً صورت گرفته، در آزمایش‌های انجام شده کنونی H37Rv کشته شده به خصوص پس از واکسیناسیون به خوبی قادر به القا نیتریک اکساید بود، اما ب ث ژ کمترین توانایی را در این مورد نشان داد که به علت فقدان کوفاکتورهای لازم برای القا نیتریک اکساید و یا کافی نبودن زمان ۲۴ ساعت برای تحریک مناسب بوده است.در آزمایش‌های انجام شده گروه‌هایی که از واکسن به تنهایی استفاده کردند با گروه‌هایی که از واکسن و اینترفرون گاما هر دو استفاده کردند در تولید نیتریک اکساید تفاوت معنی‌داری نداشتند، یعنی IFN-γ القا بیشتری را در سلول باعث نشده است. برای درک این موضوع سه احتمال در نظرگرفته شد: یکی این که چون IFN-γ دارای آستانه تحریکی است، لنفوسیت‌های T در سلول‌های صفاقی با تولید مقدار کافی از IFN-γ این القا را انجام داده‌اند و دوز اضافی IFN-γ در تحریک بیشتر سلول نقشی نداشته است. دوم این که IFN-γ به اثر تعاملی سایتوکاین‌های دیگر مانند TNF-α و IL-2 نیاز داشته است تا حداکثر تحریک را در تولید نیتریک اکساید اعمال کند و احتمال سوم این که دوز مصرفی IFN-γ برای القا کافی نبوده است. در آزمایش‌های انجام شده H37Rv کشته شده بهترین پاسخ نیتریک اکساید را ایجاد کرد. از آن جا که امروزه تلاش برای تولید واکسن‌های جدید غیرزنده و ایمن‌تر آغاز شده است شناسایی عوامل مؤثر در برانگیختن سیستم ایمنی و استفاده از آنها در واکسن‌های جدید با اهمیت به نظر می‌رسد.

▣ مراجع:

1. Albina JE, William HL. Suppression of lymphocyte proliferation through the nitric oxide synthesizing pathway. J Surg Res 1991; 50: 403-9

2. Aldwell FE, Wedlock DN, Buddle BM. Sequential activation of alveolar macrophages by IFN-γ and LPS is required for enhanced growth inhibition of virulent mycobacterium bovis but not M. Bovis BCG. Immunol Cell Biol 1997; 75: 161-6

3. Amara RR, Satchidanandam V. Differential immunogenicity of novel mycobacterium tuberculosis antigens derived from live and dead bacilli. Infec Immun 1992 Nov; 4880-2

4. Chambers MA, Marshall BG, Wangoo A, Bune A, Cook HT, Shaw RJ, Young DB.

www.SID.ir

Archive of SID

Differential responses to challenge with live and dead mycobacterium Bovis Bacillus Calmette Guerin. J Immunol 1997; 158: 1742-8

5. Feelisch M, Stamler JS. Methods in nitric oxide research. 1st ed, West Sussex, Wiley, 1997, 187-208

6. Furth RV. Mononuclear phagocytes: biology of monocyte and macrophages. 1st ed, Netherland, Kluwer academic Publisher, 1992, 636-60

7. Hanano R, Kaufmann SHE. Nitric oxide production and mycobacterial growth inhibition by murine alveolar macrophages: the sequence of rIFN-γ stimulation and mycobacterium Bovis BCG Infection determines macrophage activation. Immunol Lett 1995; 45: 23-7

8. Kwon OJ. The role of nitric oxide in the immune response of tuberculosis. J Korean Med Sci 1997; 12(6): 481-79

9. Mccall T, Vallance P. Nitric oxide takes center - stage with newly defined roles . Tips 1992; 13: 1-6

10. Park YC, Park SJ, Jun CD, Kim GE et al. Cyclic AMP analogue as a triggering signal for the induction of nitric oxide synthesis in murine peritoneal macrophages. Cellular immunology 1997; 179, 41-7

11. saito S. nakano M. Nitric oxide production by peritoneal macrophages of mycobacterium Bovis BCG-Infected or non-infected mice: regulatory roles of lymphocytes and cytokines. J Leukoc Biol 1996; 59: 908-15

12. Stenger S, Thuring H et al. 1- Iminoethyl-Lysine potently inhibits inducible nitric oxide synthase and is superior to N- monomethyl-arginine in vitro and in vivo. European Journal of Pharmacology 1995; 294:703- 12

13. Yang J, Kawamura I, Zhu H, Mitsuyama M. Involvement of natural killer cells in nitric oxide production by spleen cells after stimulation with mycobacterium Bovis BCG. J Immnol 1995; 155: 5728-35

www.SID.ir