جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقاله پژوهشی

ایمن‌سازی موش‌ها با آنتی‌ژن سونیکه هلیکوباکتر فلیس و مقایسه پاسخ‌های ایمنی آن با موش‌های غیرایمن آلوده با هلیکوباکتر زنده

دکتر احمد مرشدی[۱]، دکتر مرجان محمدی[۲]، دکتر حمیدرضا احمدی آشتیانی[۳]

تاریخ دریافت ۸۳/۱۲/۱۲، تاریخ پذیرش۸۴ /۰۷/۲۷

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: این پژوهش در مورد نقش ایمن‌سازی موش‌ها با آنتی‌ژن سونیکه در حفاظت از گاستریت ناشی از هلیکوباکتر و بررسی پاسخ لنفوسیتی موش‌های ایمن/چالنج و مقایسه آن با موش‌های آلوده انجام گرفته است.

مواد و روش‌ها: دو دسته از موش‌ها با ۳ میلی گرم آنتی ژن محلول هـ فلیس ایمن‌سازی و سپس با $۵×۱۰^{۷}$ باکتری زنده چالنج شدند. دو دسته موش دیگر فقط با $۵×۱۰^{۷}$ باکتری زنده آلوده گردیدند. یک و ۸ هفته پس از چالنج ضریب تکثیر اتیولنفوسیتی، شدت و نوع پاسخ سلولی التهابی شرکت کننده در گاستریت و نیز میزان Ab ضد هـ فلیس و تولید *IFN-γ* در موش‌های ایمن/چالنج و موش‌های آلوده به روش الایزا اندازه‌گیری گردید و مورد مقایسه قرار گرفت.

یافته‌ها: ضریب تحریک لنفوسیتی ۸ هفته پس از چالنج، در موش‌های ایمن برابر ۲۵ و در موش‌های آلوده برابر ٤۸ به دست آمد. هشت هفته پس از چالنج، معده موش‌های ایمن چالنج التهاب ملایم و حال آن که موش‌های آلوده التهاب معده شدید منتشر از نوع مونوکلئر نشان دادند. میزان تولید *IFN-γ* از لنفوسیت موش‌های ایمن/ چالنج ۳۰۰ پیکوگرم و در موش‌های آلوده ۱۷۰ پیکوگرم در میلی لیتر بود. عیار آنتی بادی یک هفته پس از چالنج، در موش‌های ایمن ۸۰۰۰:۱ و در موش‌های آلوده ۵۰۰ :۱ به دست آمد.

بحث و نتیجه‌گیری: یافته‌ها نشان داد که پاسخ سلولی موش‌های ایمن/ چالنج که در ابتدا به طور چشمگیری ($p<۰/۰۵$) بالاتر از موش‌های آلوده بود، با گذشت زمان کاهش پیدا کرد، و حال آنکه در موش‌های آلوده افزایش نشان داد. از سوی دیگر تولید بیشتر *IFN-γ* و آنتی بادی ضد هـ فلیس در موش‌های ایمن / چالنج نسبت به موش‌های آلوده نیز بیانگر آن است که پاسخ‌های ایمنی سلولی اختصاصی از نوع Th_1 با تولید *IFN-γ* و Th_2 (کمک به آنتی بادی‌سازی) برضد گاستریت ناشی از از هلیکو باکتر نقش دارند.

کلید واژه‌ها : هلیکوباکتر فلیس، التهاب معده، ایمن سازی، موش

مجله پزشکی ارومیه، سال شانزدهم، شماره چهارم، ص۲٤۰-۲۳۵، زمستان ۱۳۸٤

آدرس مکاتبه: ارومیه- صندوق پستی ۱۱۷۷-۵۷۱۵۳، E-mail: Ahmad_Morshedi@yahoo.com، فاکس :۲۷۷۱۹۲٦-۰٤٤۱

مقدمه

هلیکوباکتر پیلوری عامل التهاب معده مزمن فعال در نیمی از جمعیت بزرگسال سراسر جهان می‌باشد. این عفونت با اکثر زخم های معده و دوازدهه نیز ارتباط دارد(۱). بین سرطان معده و لنفومای بافت لنفوئید مخاط معده با عفونت هـ پیلوری نیز ارتباط نزدیکی وجود دارد (۳،۲).

برخلاف حضور تیتر بالای آنتی بادی اختصاصی بر ضد هـ .پیلوری در سرم و مخاط معده بیماران، عفونت به شکل مزمن باقی مانده و سیتم ایمنی قادر به پاکسازی عفونت نمی‌باشد (٤) تا به حال بررسی‌های فراوانی روی پاسخ ایمنی سلولی در برابر هـ پیلوری در انسان انجام یافته است، ولی ماهیت پاسخ‌های با واسطه لنفوسیت T

[۱] دانشیار بخش ایمونولوژی، گروه آموزشی پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه
[۲] دانش آموخته دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
[۳] دانشجوی سال آخر دکترای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

اختصاصی آنتی ژن به خوبی روشن نیست. برخی از پژوهشگران شواهدی برای نشان دادن یک پاسخ ایمنی سلولی اختصاصی در افراد هلیکوباکتر–مثبت نسبت به شاهدهای هلیکوباکتر–منفی به دست آورده‌اند (٦،٥)، در بررسی‌های اخیر تولید *IFN-γ* از لنفوسیت افراد هلیکوباکتر– مثبت گزارش شده است(٧). در سال‌های اخیر ایمن‌سازی فعال موش‌ها با آنتی‌ژن اوره آز هلیکوباکتر پیلوری از راه دهان توسط پژوهشگران انجام یافته است و توانسته‌اند موش‌ها را در برابر چالنج با هـ . فلیس محافظت نمایند(٨،٩،١٠). هدف این پژوهش، بررسی ایمن سازی موش‌ها با آنتی ژن محلول سونیکه هـ .فلیس و بررسی Invitro پاسخ‌های لنفوسیت موش‌های ایمن در مقایسه با موش‌های غیر ایمن آلوده و غیرآلوده به تحریک با آنتی ژن محلول می‌باشد.

مواد و روش‌ها

حیوان : ١٥ موش سوری از نژاد NIH (موسسه پاستور ایران)، ٦ تا ٨ هفته سن در ٥ دسته ٣ تایی به کار برده شد.

باکتری : سویه هـ . فلیس از موسسه پاستور ایران تهیه و در آگاربروسلا حاوی ٥٪ خون اسب در شرایط میکروآئروفیلیک به مدت یک هفته در ٣٧ درجه کشت شد. پرگنه‌ها در PBS حل و یک تراکم $۲×۱۰^{۹}$ باکتری در میلی لیتر تهیه گردید.

تهیه آنتی ژن محلول سونیکه: تعلیق $۲×۱۰^{۹}$ باکتری در میلی لیتر به مدت ١٥ دقیقه متناوب، در ظرف یخ، تحت امواج اولتراسون قرار گرفت . محلول سونیکه، جهت رسوب مواد غیر محلول به مدت ١٠ دقیقه در ٢٠٠٠ دور سانتریفیوژ و از مایع روئی، بعد از گذراندن از فیلتر ٠/٤٥ میکرون به عنوان آنتی ژن محلول استفاده شد. میزان پروتئین این محلول به روش لوری[1] (١١) اندازه‌گیری شد و حاوی ٤/١٥ میلی‌گرم پروتئین در میلی لیتر بود.

ایمن‌سازی موش‌ها: به دو دسته از موش‌ها، سه بار و یک هفته در میان، هر بار ٣ میلی گرم آنتی ژن محلول همراه با ١٠ میکرو گرم توکسین کمپیلوباکتر (به عنوان ادجوانت) در یک میلی لیتر بافر بی کربنات سدیم ٠/٢ مولار خورانده شد(١٢). موش‌های ایمن سازی شده، یک هفته بعد از آخرین تجویز آنتی ژن محلول با $۵×۱۰^{۷}$ باکتری زنده از راه دهان چالنج شدند که به نام موش‌های ایمن/چالنج نامیده شدند.

آلوده سازی موش‌ها با هـ فلیس: دو دسته دیگر از موش‌ها با یک دوز $۵×۱۰^{۷}$ باکتری زنده با استفاده از سوزن تغذیه نمره٢٣، از راه دهان آلوده شدند. جهت پی‌بردن به عفونی شدن موش‌ها، از تست اوره آز استفاده شد، و در صورت مثبت شدن، آلوده در نظر گرفته می‌شدند.

اندازه‌گیری میزان IgG ضد هـ . فلیس در سرم: یک و ٨ هفته پس از آلوده‌سازی موش‌های غیر ایمن و نیز پس از چالنج موش‌های ایمن، خونگیری از قلب انجام و سرم تهیه گردید. عیار آنتی بادی اختصاصی هـ . فلیس با آزمون الایزا به روش سزین[2] (١٣) تعیین شد . به طور خلاصه، میکروپلیت با آنتی ژن محلول هـ فلیس و یک شب انکوبه در ٤ درجه، پوشانده شد. جهت پرکردن فضاهای خالی به هر حفره ١٠٠ میکرو لیتر PBS حاوی ١٪ آلبومین گاوی اضافه و یک ساعت در حرارت اتاق انکوبه شد. رقت ١:١٠٠ از هر سرم تهیه و به صورت Duplicate به حفرات ریخته شد و ٩٠ دقیقه در حرارت اتاق گذاشته شد. پس از شستن، آنتی IgG موش کنژوگه پراکسید از ١:٥٠ به حفرات اضافه و ٩٠ دقیقه دیگر انکوبه شد. پس از افزودن سوبسترا، OD حفرات در ٤٠٥ نانومتر خوانده شد و میانگین OD هر سرم که بزرگتر از ٠/١٢٥، یعنی ٢/٥ برابر OD سرم شاهد منفی، بود مثبت در نظر گرفته شد.

تست تکثیر لنفوسیت : یک و ٨ هفته پس از آلودگی موش‌های غیر ایمن و نیز چالنج موش‌های ایمن شده خونگیری از قلب با ماده ضد انعقاد EDTA انجام و با استفاده از فایکول–هایپک لایه لنفوسیتی جدا و یک تراکم $۲×۱۰^{٦}$ سلول در میلی لیتر تهیه و به میزان $۲×۱۰^{۳}$ سلول در حفره به صورت Triplicate از هر نمونه در محیط RPMI حاوی ٢ میلی مولار L-glutamine و به همراه ٣ میکرو لیتر آنتی ژن محلول هـ . فلیس در حفره به مدت ٩٦ ساعت انکوبه شد. دو حفره شاهد بدون آنتی ژن نیز جهت مقایسه به کار رفت، تعداد لنفوسیت مربوط به هر حفره توسط لام توما در واحد حجم شمارش گردید. ضریب تحریک از تقسیم تعداد لنفوسیت تحریک شده با آنتی ژن به تعداد لنفوسیت حفره شاهد بدون آنتی ژن به دست آمد (١٤).

اندازه گیری *IFN-γ*: به این منظور لنفوسیت با تراکم $۵×۱۰^{٦}$ سلول در میلی لیتر در پلیت‌های ٢٤ خانه به همراه ٥ میکرولیتر Ag محلول در حفره به مدت ٧٢ ساعت کشت شد. میزان *IFN-γ* درمایع رویی به وسیله الایزای ساندویچی تعیین گردید (١٤). به

[1] Lowry

[2] Czinn

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

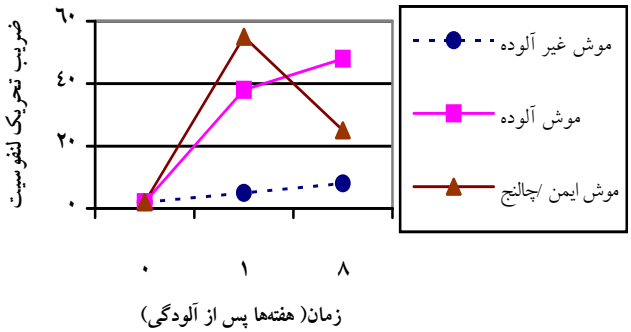
طور خلاصه، حفرات پلیت با آنتی بادی منوکلونال (mAb1) ضد IFN-γ موش (۲میلی‌گرم/میلی لیتر) پوشانده شد. فضاهای خالی با PBS حاوی ۱٪ ژلاتین مسدود گردید. از مایع رویی کشت لنفوسیت هر موش و به صورت Duplicate به میزان ۱۰۰ میکرولیتر به حفرات اضافه و ۳ حفره نیز به IFN-γ تجارتی (ساخت Sigma) با ۳ غلظت اختصاص یافت (جهت رسم منحنی استاندارد) و یک شب در ٤ درجه انکوبه شد. آنتی بادی منوکلونال ضد IFN-γ موش حاوی بیوتین (mAb2) ساخت Pharmingen به میزان ۱۰۰ میکرولیتر به حفرات ریخته و ٤ ساعت در حرارت اتاق قرار گرفت. پس از افزودن استرپتاویدین آلکالین فسفاتاز، به عنوان کنژوگه و نیتروفنل فسفات به عنوان کنژوگه و نیتروفنل فسفات به عنوان سوبسترا، OD حفرات در ٤٠٥ نانومتر خوانده شد. سپس با در دست داشتن میانگین OD هر نمونه میزان IFN-γ در میلی لیتر با استفاده از منحنی استاندارد تعیین شد.

بررسی شدت التهاب معده: مقاطع میکروسکوپی از بخش غده‌ای معده هر موش تهیه و با هماتوکسیلین-ائوزین (H&E) رنگ آمیزی و با بزرگنمایی ٤٠× شدت التهاب برحسب فراوانی سلول‌های التهابی، به ملایم، متوسط و شدید درجه بندی گردید(۱۵).

نتایج

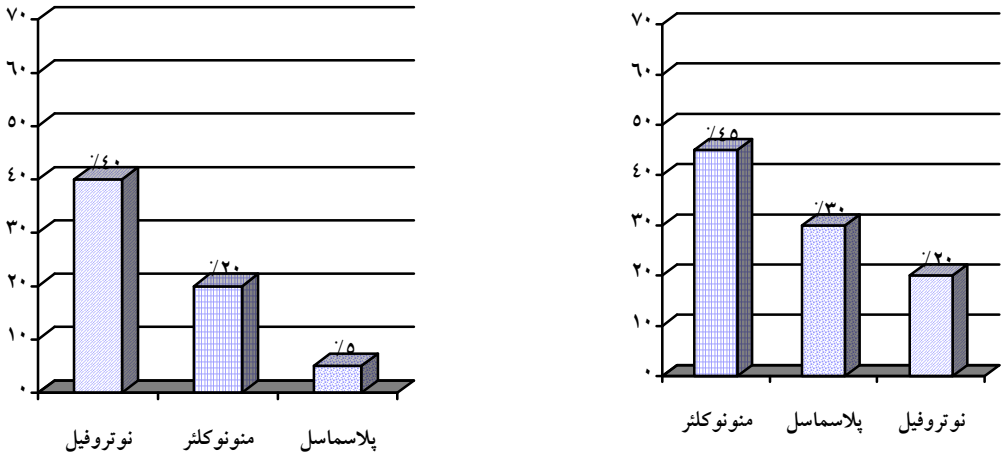
ضریب تحریک لنفوسیت در موش‌های ایمن/چالنج و آلوده یک هفته پس از چالنج به ترتیب برابر ۵۵ و ۳۸ بود. و حال آن که پس از ۸ هفته به ترتیب برابر ۲۵ و ٤۸ به دست آمد. در مقابل، ضریب تحریک در موش‌های غیر آلوده برابر ۷ بود (شکل۱). در امتحان ریز بینی مقاطع معده موش‌های ایمن/چالنج یک هفته بعد از چالنج التهاب شدید نوتروفیلی (نوتروفیل ٦٥٪، منونوکلئر ۳۰٪ و پلاسماسل۵٪)، و ۸ هفته پس از عفونت التهاب ملایم با سلول‌های التهابی کم مشاهده گردید، به طوری که نوتروفیل به ۱۵٪ و منونوکلئر به ۲۵٪ کاهش یافت. در مقابل معده موش‌های آلوده یک هفته بعد از عفونت التهاب ملایم کانونی با سیمای نوتروفیلی نشان دادند به طوری که تراکم نوتروفیل حدود ۲ برابر منونوکلئر بود. و حال آن که ۸ هفته بعد از عفونت التهاب شدید منتشر مشاهده شد و تراکم منونوکلئر و پلاسماسل بیش از پلی مرف بود، به طوری که منونوکلئر ٤٥٪، پلاسما سل ۳۵٪ و نوتروفیل به ۲۰٪ رسید (شکل۲). مقاطع معده موش‌های شاهد غیر آلوده و موش‌های ایمن چالنج نشده هیچ گونه شواهدی از التهاب معده نشان ندادند.

میانگین *IFN-γ* در مایع روئی کشت ۷۲ ساعته لنفوسیت موش‌های ایمنی/چالنج یک و ۸ هفته پس از چالنج به ترتیب ۷۰۰ و ۳۰۰ پیکوگرم، و حال آن که در موش‌های آلوده،یک و ۸ هفته پس از آلودگی به ترتیب برابر ۵۰۰ و ۱۷۰ پیکوگرم/میلی‌لیتر به دست آمد. در مقابل لنفوسیت موش‌های غیرآلوده در تحریک با آنتی ژن محلول، انترفرون گامای قابل اندازه گیری نشان ندادند. عیار آنتی بادی IgG ضد هـ‌فلیس در سرم موش‌های آلوده یک هفته پس از آلودگی ۱:۵۰۰ و ۸ هفته پس از آلودگی به ۱: ٤٠٠٠٠ رسید، و حال آنکه در موش‌های چالنج یک هفته پس از چالنج ۱:۸۰۰۰ و ۸ هفته پس از چالنج به حد موش‌های آلوده، یعنی ۱:٤٠٠٠٠ رسید. عیار آنتی بادی در موش‌های ایمن شده قبل از چالنج ۱:٤٠٠٠ بود .



شکل شماره۱: نمودار ضریب تحریک لنفوسیتی با آنتی ژن محلول هـ. فلیس در موش‌های ایمن/چالنج، آلوده و غیر آلوده یک و ۸ هفته پس از چالنج با $۵×۱۰^{۷}$ باکتری زنده هـ. فلیس.

موش ایمن/چالنج



یک هفته پس از چالنج

۸ هفته پس از چالنج

موش آلوده

شکل شماره۲: نمودار درصد فراوانی سلول‌های التهابی در معده موش‌های ایمن /چالنج و غیر ایمن آلوده، یک و ۸ هفته پس از چالنج با ۵×۱۰^{۷} باکتری زنده هـ فلیس.

بحث

در مطالعه حاضر سعی بر این شد که پاسخ‌های ایمنی سلولی، تولید آنتی بادی و میزان التهاب معده در موش‌های ایمن/چالنج و موش‌های آلوده با هلیکوباکتر مورد بررسی و مقایسه قرار گیرند.

داده‌ها نشان داد که پاسخ پرولیفراتیو لنفوسیتی با تحریک آنتی ژن محلول فقط در موش‌هایی که قبلاً در معرض عفونت و یا ایمن سازی با هلیکوباکتر بودند، وجود دارد و در موش‌های غیر آلوده و یا غیرایمن شاهد دیده نمی شود. همچنین از سوی دیگر ضریب تحریک لنفوسیت که در ابتدا در موش‌های ایمن/چالنج شدیدتر از موش‌های آلوده بود (۵۵ در برابر ۳۸)، پس از گذشت زمان در موش‌های ایمن/چالنج به طور معناداری کاهش و در موش‌های آلوده افزایش یافت ($p<۰/۰۵$)، که نشان می‌دهد در موش ایمن بر خلاف موش آلوده لانه گزینی هلیکوباکتر در معده کاهش یافته و اثر تحریکی آن به تدریج از روی لنفوسیت‌ها برداشته می‌شود، به طوری که یک هفته بعد از چالنج با آن که شدت گاستریت در موش ایمن بیش از موش آلوده بود، ولی با گذشت زمان رو به

بهبودی رفت، به طوری که بعد از ۸ هفته به نوع ملایم با سلول‌های التهابی کم، تبدیل شد. در مقابل در موش آلوده که در ابتدا با گاستریت ملایم شروع شد، با گذشت زمان به گاستریت شدید با التهاب از نوع منونوکلئر تبدیل گشت.

مچتی[1] در بررسی‌های خود نشان داد که موش‌های ایمن پس از چالنج دچار یک عفونت زودگذر شده که به مرور زمان حذف می‌گردد (۱۶). در پژوهش دیگری نشان داده شد که ایمن‌سازی از راه دهان بر ضد هـ فلیس، موش‌ها را در برابر عفونت فعال محافظت می‌کند. به طوری که پس از چالنج تست اوره آز منفی و آزمایش‌های کشت و بافت شناسی نیز منفی شدند (۱۳،۱۰). با این وجود موش‌های ایمن پس از چالنج درجات پائینی از التهاب معده را نشان می‌دهند (۱۰). فررو[2] در یک بررسی نشان داد که ایمن سازی موش‌ها با هلیکوباکترپیلوری می‌تواند ایمنی حفاظتی بر ضد عفونت مخاطی در موش‌ها ایجاد کند (۱۵). در پژوهش حاضر، لنفوسیت موش‌های ایمن/چالنج که در invitro با آنتی ژن محلول تحریک شدند، میزان بالاتری از انترفرون گاما نسبت به لنفوسیت موش‌های آلوده تولید کردند، لکن اختلاف بین آن‌ها از نظر آماری معنا دار نبود. تولید مقادیر قابل توجهی از IFN-γ از لنفوسیت موش‌های ایمن/چالنج و موش‌های آلوده نشان دهنده آن است که لنفوسیت غالب شرکت کننده در پاسخ ایمنی سلولی وابسته به هلیکوباکتر از نوع Th_1 پیش التهابی بوده که با شدت التهاب معده ارتباط داشت. از سوی دیگر با اندازه گیری میـزان آنتی بادی ضـد هـ فلیس در سرم موش‌های ایمن چالنج وموش‌های آلوده، داده‌ها نشان داد که میزانAb در سرم موش‌های ایمن قبل و بعد از چالنج با عیار قابل توجهی، وجود دارند، و حال آن که در موش‌های آلوده درهمان زمان عیار آنتی بادی بسیار پایین بود و موش‌های غیر آلوده نیز فاقد آنتی‌بادی بودند. لکن با گذشت زمان (بعد از ۸ هفته)، هر دو دسته، آلوده و ایمن/ چالنج مقادیر چشمگیر و یکسانی از آنتی بادی بر ضد هـ . فلیس در سرم داشتند. این امر نشان می‌دهد که ایمن سازی هر دو پاسخ Th_1 و Th_2 و را موجب می‌گردد، اما پاسخ Th_1 غالب‌تر است. سلول‌های Th_2 با کمک به لنفوسیت B و تولید Ab در هفته اول بعد از ایمن‌سازی، توانستند در حفاظت موش‌های ایمن نقش داشته باشند.

در چند پژوهش نشان داده شد که ایمن سازی موش‌ها از راه دهانی، با ترشح IgA مخاطی موجب جلوگیری از ایجاد کلنی هلیکوباکتر در مخاط معده می‌گردد، اما از التهاب معده جلوگیری نمی‌کند (۱۷). هم چنین تجارب مچتی، روی موش‌های BALB/C، که به علت کمبود پاسخ‌های ایمنی سلولی، حداقل التهاب را ایجاد می‌کنند و به دنبال عفونت انترفرون گامای قابل جستجویی تولید نمی‌کنند، نشان داد که به راحتی با ایمن سازی از راه دهان در برابر عفونت هـ فلیس محافظت می‌شدند (۱۷و۱۲). در خاتمه با توجه به یافته‌های موجود، می‌توان نتیجه گرفت که ایمن سازی موش‌ها از راه دهان با ایجاد آنتی بادی از نوع IgG و IgA سبب محافظت موش‌ها در برابر عفونت مخاط معده می‌شود و گرچه در ابتدا پس از چالنج التهاب شدید معده به وجود می‌آید. لکن پس از گذشت زمان به تدریج التهاب کاهش یافته و رو به بهبودی می‌رود، و نظیر آلودگی در موش‌های غیر ایمن به گاستریت فعال مزمن تبدیل نمی‌شود.

References:

1. Tytgat G N J: Campylobacter pylori and its role in peptic ulcer disease. Gastroenterol Clin N Am, 1990, 19: 183-185.
2. O'Conner H J: Helicobacter pylori and gastric cancer: a review and hypothesis. Eur J Gastroentrol Hepatol, 1992, 4: 103-107.
3. Parsonett J, Hanson S, Rodrigez L, Gelb A B, warnke E A, Jellum E: Helicobacter pylori infection and gastric lymphoma. N Eng1 J Med, 1994, 330: 1267-1270.
4. Rathbone B J, Wyatt J I, Worsley B W, Shires S E, Heatley R V, Losowsky M S: Systemic and Local antibody responses to gastric Campylobacter pyloridis in non-ulcer dyspepsia. Gut, 1986, 27: 642-646.
5. Kluge A, Mielke M, Volkheimer G 1, Niedobitek F, Hahn H: Role of the Systemic Cellular immune resporse in the pathogenesis of Helicobacter pylori-associated duodenal ulcer. Zentralbl Bacteriol, 1993, 280: 177-180.

[1] Mechetti
[2] Ferrero

6. Tosi M F, Sorensen R U, Czinn S J: Cell-mediated immune responsiveness to Helicobacter pylori in healthy seropositive and Seronegative adults. Immunol Infect Dis, 1992, 2: 133-138.
7. Karttunen R, Karttunen T, Ekre H P T, Mc Donald T T: Interferon gamma and interleukin 4 secreting cells in the gastric in Helicobacter Pylori positive and negative gastrics. Gut, 1995, 35: 341-345.
8. Lee C K, weltzin R, Thomas W D J, Ermark T H: Oral immunization with recombinant H.pylori urease induces secretory IgA and protects mice from challenge with H.felis. J infect. Dis, 1995, 172: 161-165.
9. Ferrero R L, Thiberge, J M, Huerre M, Labigne A: Recombinant Ags prepared from the urease subunits of Helicobacter SPP: evidence of protection in a mouse model of gastric infection. Infect Immune 1994, 62: 4981-4987.
10. Pappo J, Thomas W D J, Kabok Z, Tylor N S, Fox G: Effect of oral immunization with recombinant urease on murine H. felis gastritis. Infect Immune, 1995, 63: 1246-1250.
11. Lowry O H, Rosebrough N J, Farr A L, Randall R J: Protein measurment with the folin phenol reagent. J Biol Chem, 1951, 193: 265-269.
12. Chen M, Lee A, Hazell S, Li Y: Immunization against gastric infection with Helicobacter SPP.: first in the prophylaxis of gastric cancer. Zentralbl Bacteriol, 1993, 280: 155-160.
13. Czinn S J, Cai A, Nedrud J G: Protection of germ-free mice from infection by Helicobacter files after active oral or passive IgA immunization. Vaccine, 1993, 11: 637-641.
14. Mohammadi M, Czinn S, Redline R, Nedrud J: Helicobacter, Specific cell-Mediate Immune responses display a predominant Th1 phenotype and promote a DTH response in the stomach of Mice. J Immunol, 1996, 156(12) 4729-4734.
15. Ferrero R L, Thiberge J M, Kansau I, Wuscher N, Labigne A: The Helicobacter pylori; confers protective immunity against mucosal infection in mice. Proc Natl Acad sci, 1995, 92: 6499-6505.
16. Michetti p, Darvin c, Hass R, Heitz M, Bille J, Blum A L: Immunization of BALB/C mice against Helicobacter felis infection with H. pylori urease. Gastroenterol, 1994, 107: 1002-1007.
17. Mohammadi M, Czinn s, Nadrud J: Oral immunization prevents Helicobacter felis colonization of conventional mice, but does not prevent inflammation. Am J Gastroenterol, 1994, 89: A232-237.