**پژوهش درپزشکی (مجله پژوهشی دانشکده پزشکی)**
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
دوره ۳۶، ویژه نامه ۱، زمستان ۱۳۹۱، صفحات ۹۹ تا ۱۰۳

**مقاله اصلی**
**(Original Article)**

# بررسی تأثیر دود ماشین در میزان سیتوکین‌های TNF-α، IFN-γ و IL-2 در سرم رت‌ها

**افرا خسروی*[۱]، مژگان متولی‌باشی[۲]، ابراهیم بابااحمدی[۳]، عبدالله داودیان[۱]، لیلا جعفرزاده[۱]، مونازمانیان عضدی[۴]**

[۱] گروه ایمنی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام
[۲] گروه بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام
[۳] گروه انگل شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ایلام
[۴] مرکز تحقیقات پروتئومیکس، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

## چکیده

**سابقه و هدف**: *آلاینده‌ها منجر به کاهش سیستم دفاعی بدن در برابر عوامل عفونی می‌شوند. کاهش یاافزایش در سیتوکین‌های TNF-α، Il-2 و IFN-γ در پاسخ‌های ایمنی به آلاینده‌های هوا تاثیر دارند. با توجه به اثرات متناقض آلاینده‌های هوا در سیستم ایمنی، هدف از این مطالعه نقش تاثیر دود ماشین بر میزان فاکتورهای ایمنی همچون TNF-α، Il-2 و IFN-γ در سرم رت‌هااست.*

**روش بررسی**: *تحقیق به روش تجربی صورت گرفت و تعداد ۱۶ رت به طور تصادفی به گروه‌های مورد ( مواجه با دود ماشین) و شاهد (بدون مواجه با دود) تقسیم شدند. دوددهی ۵-۳ بار در روز،هر بار ۵ دقیقه به مدت ۴ هفته روی دو گروه ۸ تایی رت انجام گردید. با استفاده از تکنیک الایزا میزان Il-2، TNF-α و IFN-γ در سرم گروه‌های آزمایش و کنترل باآزمون t- test مورد قضاوت قرار گرفت.*

**یافته‌ها**: *میزان TNF-α در گروه مورد آزمایش، کاهش یافت، اما از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین گروه آزمایش با گروه کنترل یافت نشد (P= ۰/۶۹). در مورد سیتوکین‌های IFN-γ، میزان آن در گروه شاهد ۱۱±۲۱ و در گروه تجربی ۱/۵±۴ بود (P< ۰/۰۴) و در شاخص IL-2 (P=۰/۹۴) نیز از نظر آماری بین گروه آزمایش و کنترل اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید.*

**نتیجه‌گیری**: *به نظر می‌رسد که دود ماشین سبب ایجاد تغییراتی در سیستم ایمنی می‌شود که این تغییرات به ترکیبات متفاوت دود و مدت زمان تماس و نوع و شرایط میزبان بستگی دارد.*

**واژگان کلیدی:** *IL-2، TNF-α، IFN-γ، آلاینده‌های هوا، دود ماشین، رت.*

## مقدمه

سلول‌های بدن انسان در طی فعالیت‌های روزمره فعال هستند، ریه‌ها روزانه ۱۰ هزار لیتر هوا را پمپ و اکسیژن مصرف کرده و CO2 وارد هوا می‌کنند که به این فرایند تنفس می‌گویند. هر ماده موجود در هوا که بتواند به تغییر خواص فیزیکی، شیمیایی و زیستی آن منجر شود، باعث آلودگی هوا می‌شود. این آلاینده‌ها از طریق بینی، پوست، دهان و سیستم گوارشی می‌توانند وارد بدن شده و منجر به تهدید سلامتی انسان شوند (۱). آلاینده‌ها سالانه مسئول مرگ ۳ میلیون نفر در جهان می‌باشند (۱). واکنش افراد مختلف نسبت به نوع مواد آلاینده، غلظت آنها و میزان مواجهه افراد متفاوت است (۱). این آلاینده‌ها منجر به کاهش عملکرد سیستم دفاعی بدن در مقابله با عوامل عفونی می‌شوند (۱). همچنین منجر به تشدید

**آدرس نویسنده مسئول**: تهران، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، دانشکده پزشکی، گروه ایمنی شناسی، افرا خسروی (**e-mail:** afrakhosravi@yahoo.co.uk)

بیماری‌های مزمن راه‌های هوایی، آسم و افزایش حوادث قلبی-عروقی می‌شوند (۱). یکی از آلاینده‌ها دود اتومبیل‌ها است. از جمله ترکیبات موجود در دود اتومبیل‌ها می‌توان مونوکسید کربن(CO )، هیدروکربن‌ها، اکسید نیتروژن(NO2 )، اکسید گوگرد(SO2) و سرب را نام برد (۱). مواجهه با ذرات با قطر کمتر از ۱/۵ میکرومتر که حاصل سوخت‌های فسیلی است منجر به افزایش تعداد نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها در ریه شده و همچنین باعث افزایش غلظت واسطه‌های التهابی مختلف مثل افزایش IL-8 در موکوس برونش‌ها و افزایش بیان IL-10 در افراد آسمی و افزایش سطح TNF-α می‌شود (۴-۲). مواجهه با این ذرات منجر به التهاب سیستمیک و تحریک سلول‌های مغز استخوان جهت افزایش لکوسیت‌ها و پلاکت‌ها می‌شود (۵). مطالعات نشان داد که مواجه حاد با ذراتی با قطر ریز به خصوص کربن‌های ارگانیک و هیدروکربن‌های آروماتیک که در میتوکندری تجمع می‌یابند، منجر به ایجاد استرس اکسیداتیو و پیشبرد روند التهابی ریه می‌گردند (۶). مطالعات مختلف نشان داده‌اند که برخورد مداوم با آلاینده‌های هوا سبب افزایش IL-2، سلول‌های NK CD16+، IFN-γ و C3 کمپلمان می‌شوند. افزایش سیتوکین‌های IFN-γ و IL-2 نشان دهنده پاسخ غالب Th1 در بدن است (۷). مطالعات نشان داده که تماس با دود با منشاء مختلف نیز منجر به پاسخ التهابی و تغییر در بیان ژن‌های ایمنی شده به عنوان مثال، مواجهه با ذرات با قطر کمتر از ۱/۵ میکرومتر که حاصل سوخت‌های فسیلی است منجر به نوتروفیلی و لنفوسیتوز در ریه شده و همچنین باعث افزایش غلظت واسطه‌های التهابی مختلف مثل افزایش Il-8 در موکوس برونش‌ها و افزایش بیان Il-10 در افراد آسمی و افزایش سطح TNF-α می‌گردد (۱۰-۸). با توجه به گزارشات متناقض از تاثیر این دود روی شاخص‌های ایمنی و اهمیت و نقش این تغییرات در ایجاد بیماری‌ها، در این مطالعه اثر دود با منشاء اگزوز ماشین بر میزان فاکتورهای ایمنی TNF-α، Il-2 و IFN-γ در مقایسه با گروه کنترل در سرم رت‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روشها

در این مطالعه تجربی، رت‌ها به عنوان جامعه آماری، به۲ گروه ۸ تایی رت که یک گروه به عنوان کنترل و بقیه به عنوان گروه مورد آزمایش بودند، بررسی شدند.

۸ رت هر گروه به طور تصادفی انتخاب و هر گروه در یک قفس مخصوص طبق اصول حاکم بر نگهداری حیوانات بااستفاده از سیکل تاریکی و روشناسی نگهداری، و پس از ۵ روز تطابق با شرایط آزمایشگاه در معرض اگزوز و گروه کنترل بدون دود قرار گرفتند. قفس به نزدیکی اگزوز ماشین برده شد و دود به داخل قفس هدایت شد. دوددهی ۵-۳ بار در روز هر بار حدوداً ۵ دقیقه انجام گردید.

پس از مدت ۴ هفته حیوانات با فنول کشته شده و خون‌گیری از قلب رت‌ها انجام گردید. نمونه‌های خون گرفته شده جهت اندازه‌گیری سیتوکین در ۲۰- درجه نگهداری و سپس با استفاده از کیت الایزا میزان سیتوکین‌های IL-2، TNF-α و IFN-γ طبق دستورالعمل شرکت بوستر انجام گردید.

اندازه‌گیری مقادیر سرمی IL-2 ,TNF-α، IFN-γ با استفاده از کیت‌های الایزای IFN-γ ( EK0375 ) و IL-2 ( EK0398 ) و TNF-α ( EK0527 ) شرکت بوستر و براساس دستورالعمل کیت انجام گردید.

جهت مقایسه میزان IL-2 ,TNF-α، IFN-γ در دو گروه از آزمون آماری t-test استفاده شد.

## یافته‌ها

تحقیق روی ۱۶ رت و در هر گروه ۸ رت انجام گرفت. میزان شاخص‌های ایمنی سیتوکین‌های سرم رت‌ها برحسب گروه-های مورد مطالعه در جدول ۱ ارائه گردیده و نشان می‌دهد که میزان فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا در گروه تجربی به میزان ۵/۹ واحد و یا حدود ۱۲/۸ درصد کاهش یافت، اما این اختلافات به لحاظ آماری معنی‌دار نبود (P<۰/۵). میزان اینترفرون گاما در گروه مواجهه قرار گرفته با دود به میزان ۱۶/۸ واحد و یا حدود ۷۹/۶ درصد کاهش یافت و اختلاف به لحاظ آمار معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). در مورد شاخص اینترلوکین ۲، در گروه تجربی میزان ۰/۰۶ واحد و یا حدود ۱/۷ درصد کاهش یافت و آزمون نشان داد که این اختلاف به لحاظ آماری معنی‌دار نبود (P<۰/۸).

**جدول ۱-** میزان شاخص‌های ایمنی سایتوکین سرم رت برحسب مواجه با دود ماشین

| | گروه مورد | گروه شاهد | P-value |
|---|---|---|---|
| TNF-α | ۴۰/۱±۹/۱ | ۴۶±۲۴ | <۰/۰۵ |
| IFN-y | ۴/۳±۱/۵ | ۲۱/۱±۱۱/۴ | <۰/۰۱ |
| IL-2 | ۳/۴±۰/۳۴ | ۳/۴۶±۱/۳۸ | <۰/۸ |

TNF-α: فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا؛ IFN-y: اینترفرون گاما؛ IL-2: اینترلوکین ۲

## بحث

در تحقیق حاضر نیز تغییرات سیتوکین‌ها در رت‌های مواجهه یافته با دود اگزوز ماشین در مقایسه با گروه کنترل مورد بررسی قرار گرفت.

تحقیقات نشان دادکه کاهش میانگین این سیتوکین در گروه های مختلف مواجهه یافته با دود در مقایسه با گروه کنترل بوده است. اگرچه مانند همه تحقیقات تجربی حیوانی تعداد نمونه‌ها کم و انحراف معیار بالا بوده است که حاکی از پراکندگی داده‌ها بود، ولی کاهش این سیتوکاین حاکی از سرکوب سیستم ایمنی در اثر دود بوده است، به خصوص که در اثر دود ماشین این کاهش چشمگیر بوده است. نتایج این مطالعه از نظر کاهش میزان TNF-α در گروه مواجهه با دود اگزوز با نتایج مطالعه Yoshinobu Saito همخوانی داشته که در مطالعه آنان با افزایش دوز دود اگزوز TNF-α و IFN-γ هم کاهش معنی‌داری نشان دادند که نشانگر سرکوب شدید سیستم ایمنی است (۱۲)، همانند آنچه که در مطالعه ما نیز مشاهده گردید، اگر چه در مطالعه ما نیز مواجهه با دوز کم دود بوده است.

در مطالعه‌ای که توسط Sundeeps S و همکاران انجام گردید تماس کوتاه مدت با دود اگزوز باعث افزایش در تکثیر لنفوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها شد. این مطالعه تغییرات معنی داری در سطح TNF-α ، IFN-γ نسبت به گروه کنترل نداشته است (۱۱). در مطالعه ما نیز تغییرات معنی داری در سطح TNF-α در مواجهه با دود اگزوز مشاهده نشد، اما با نتایج Suresh Veerapandian Kumar که بیان داشت دود اگزوز منجر به افزایش TNF-α می‌شود همخوانی ندارد (۱۰). البته مدت زمان و میزان دوددهی در مطالعه آنان با مطالعه ما تفاوت داشته است.

تفاوت میانگین غلظت TNF-α مطالعه حاضر و این مطالعه شاید به دلیل تعداد نمونه‌ها باشد، چرا که در مقایسه با گروه کنترل سطح TNF-α اگرچه کاهش داشته است، اما این کاهش معنی دار نبوده است.

از این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که دود اگزوز منجر به کاهش این سیتوکین شده و اثر مهاری دود اگزوز بر روی سیتوکین TNF-α بیشتر از کنترل است.

میزان اینترلوکین-۲، در گروه مواجهه با دود اگزوز دارای کاهش بود، ولی چنین کاهشی کم بوده و تفاوت چشمگیری با گروه کنترل نداشت. نتایج ما با نتایج Hirohisa Takano و همکاران که بر روی اثرات ذرات موجود در دود گازوئیل در ایجاد پاسخ علیه آنتی‌ژن Ovalbumine در موش انجام گردید در مورد Il-2 همخوانی نداشت، ولی در خصوص IFN-γ تا حدودی مشابهت داشت (۱۳). البته اختلاف روش کار به گونه‌ای بود که Il-2 و IFN-γ کلی را اندازه گیری کردیم، ولی این مطالعه در پاسخ علیه آنتی‌ژن خاص، این بررسی را انجام داده بود و مطالعه آنها در موش انجام شده است.

در مطالعه‌ای که توسط Xue Jun که در سال ۲۰۰۲ با هدف بررسی اثرات ذرات دود اگزوز در سیستم ایمنی ریه انجام شد، تأثیر دود بر روی سیستم فاگوسیتوزی و ماکروفاژها حاکی از کاهش و سرکوب ایمنی سلولی بود و کاهش سیتوکین‌ها از جمله TNF-α مانند مطالعه ما وجود داشت (۱۴). در مطالعه Xue jun در سال ۲۰۰۳ بر روی تأثیر ذرات دود اگزوز به تنهایی و ذرات دود + لیستریا، لنفوسیت‌های مواجهه یافته جداشده در محیط کشت مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه لنفوسیت‌های رت‌های مواجهه داشته با دود کاهش IFN-γ همانند مطالعه ما و افزایش IL-2 عکس مطالعه ما را نشان دادند. در مطالعه ما، اما IFN-γ و TNF-α و Il-2 سرمی اندازه گیری شد که اگرچه روند آن با بعضی از یافته‌های فوق همخوانی و با تعدادی عدم تطابق دارد، اما روند کلی این مطالعه نیز حاکی از تغییرات کلی سیستم ایمنی است، اگر چه این تغییرات برای Il-2 وIFN-γ در مورد دود اگزوز کاهش داشته است (۱۵). این نتایج با نتایج مطالعه Gye Young park از نظر افزایش Il-2 همخوانی دارد (۱۶). هر چند این افزایش در مطالعه آنها معنی‌دار نبود، اما با نتایج مطالعه Yanli Ouyang همخوانی ندارد. وی اثرات مهاری دود و ترکیبات آن بر روی Il-2 را بیان می‌کند (۱۷).

میانگین IFN-γ در گروه مواجهه با دود اگزوز به طور چشمگیری کاهش یافته و این کاهش از نظر آماری معنی‌دار بود که با نتایج مطالعه Yashinobu Saito (۱۲) و Xue –jan (۱۵) همخوانی دارد. همچنین نتایج ما با نتایج مطالعه Tomoyuki Ohtani که اثر مهاری دود اگزوز بر روی IFN-γ را بسیار قوی‌تر از سیکلو سپورین و دگزامتازون گزارش کرده است (۱۸)، همخوانی دارد. البته نتایج مطالعاتی مانند مطالعه Hirohisa Takano نیز وجود دارد که بیان می‌کنند دود اگزوز تأثیری بر IFN-γ ندارد، ولی اکثر نتایج مطالعات مختلف سرکوب سیستم ایمنی و در نتیجه کاهش این سیتوکین را بیان می‌کنند (۱۳).

سیتوکین‌های پیش التهابی TNF-α ، IFN-γ و IL-2 نقش مهمی در دفاع علیه عوامل عفونی و سرطان دارند (۲۱-۱۹). همه این سیتوکین‌ها به عنوان عوامل از بین برنده سرطان ریه

نقش دارند (۲۲،۲۳). برخی مطالعات نشان دهنده پیشرفت رشد تومور در افراد با سطح پائین IFN-γ و IL-2 می‌باشد (۲۵،۲۶). کاهش سطح TNF-α و IL-2 در افراد با سرطان ریه مشاهده شده و کاهش IFN-γ با کاهش طول عمر همراه است (۲۷). IL-2 به تنهایی یا همراه با سایر داروهای ضدسرطان منجر به از بین بردن تومورها می‌شود (۲۹، ۲۸). دراین مطالعه، میزان این سیتوکین‌ها در گروه مواجهه با دود اگزوز ماشین بررسی شد که در گروه مواجهه یافته با دود نسبت به گروه کنترل، تغییر در میزان این سیتوکین‌ها مشاهده شد. اگر چه در برخی موارد تغییرات خیلی چشمگیر نبود که با توجه به میزان دوددهی در مطالعه حاضر (Mild exposure) انتظار تغییرات شدید را نیز نداریم. اما آنچه که مهم است تغییر میزان سیتوکین‌ها در گروه‌های مواجهه یافته نسبت به گروه کنترل است. همانند آنچه که در تمام تحقیقات وجود داشته و تغییر در میزان سیتوکین‌های تولید شده در اثر دود با منشا مختلف و در مدت زمان‌های مختلف در مقایسه با گروه کنترل بیان شده است. سلول‌های سیستم ایمنی برای انتقال پیام و تاثیر بر سایر سلول‌ها نیازمند ترشح محصولات و فرآورده‌هایی هستند تا واسطه اعمال این پیام‌ها باشند. مولکول‌های پروتئینی که توسط سلول‌های سیستم ایمنی ذاتی واختصاصی در پاسخ به میکروب‌ها و سایر آنتی ژن‌های موجود، تولید شده و هر یک اثرات متفاوتی را ایجاد می‌کند که به نام کلی ترشح سلولی یا سیتوکین نامیده می‌شوند. به عبارت دیگر، دود اگزوز سیستم ایمنی را دستخوش تغییرات می‌کنند امااین تغییرات به نوع دود به دلیل ترکیبات متفاوت آن و مدت زمان تماس(Exposure) و نوع و شرایط خود میزبان بستگی دارد.

افزایش میزان و زمان دود (دوز و زمان) با افزایش سیتوکین های مربوط به التهاب (inflammation) منجر به افزایش التهاب و خطر آسم و آلرژی می‌شود و در دراز مدت مرگ و میر را افزایش می‌دهد. اما در مواجهه با عفونت به دلیل کاهش سیتوکین‌های موثر در کلیرانس عفونت و نیز به دلیل کاهش فاگوسیتوزیس، افراد مواجهه یافته با دود ناتوان تر از افراد سالم هستند و عفونت در این افراد شدیدتر و سریعتر است.

## *REFERENCES*

1. Nicolopoulou-Stamati P, Hens L, HowardT CV. Enviromental health impact of transport and mobility. New York: Springer; 2005.
2. Archer AJ, Cramton JL, Pfau JC, ColasurdoG, Holian A. Airway responsiveness after acute exposure to urban particulate matter. 1648 in a DO11.10 murine model. AM J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2004;286:337-43.
3. Dick CA, Singh P, Daniels M, Evansky P, Becker S, Gilmour MI. Murine pulmonary inflammatory responses following instillation of size – fractionated ambient particulate matter. J Toxicol Environ Health 2003;66:193-207.
4. Stenfors N, Nordenhall C, Salvi SS, Mudway I, Soderberg M, Blomberg A, et al. Airway inflammatory responses in asthmatic and healthy humans exposed to diesel. Eur Respir J 2004;23:82-86.
5. Domagala-kulawik J. Effects of cigarette smoke on the lung and systemic immunity. J Physiol Pharmacol 2008;59:19-34
6. Li N, Sioutas C, Cho A, Schmitz D, Misra C, Sempf J, et al. Ultrafine Particulate pollutants induce oxidative stress and mitochondrial damage. Environ Health Perspect 2003;111:455-60.
7. Timblin CR, Shukla A, Berlanger I, BeruBe KA, Mossman BT. Ultrafine airborne particles cause increases in protooncogene expression and proliferation in alveolar epithelial cells. Toxicol Appl Pharmacol 2002; 17998-104.
8. Huang YC, Schmitt M, Yang Z, Que LG, Stewart JC, Frampton MW, et al. Gene expression profile in circulating mononuclcar cells after exposure to ultra fine carbon particles. Inhal Toxicol 2010; 22:835-46.
9. Ohtani T, Nakagawa S, Kurosawa M, Mizuashi M, Ozawa M, Aiba S. Cellular basis of the role of diesel exhaust particles in inducing Th2-dominant response. J Immunol 2005;174:2412-19.
10. Sureshkumar V, Paul B, Uthirappan M, Pandey R, Sahu AP, Lal K, et al. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokine balance in gasoline exhaust induced pulmonary injury in mice. Inhal Toxicol 2005;17:161-68.
11. Salvi SS, Nordenhall C, Blomberg A, Rudell B, Pourazar J, Kelly FJ, et al. Acute exposure to diesel exhaust increases IL-8 and GRO-alpha production in healthy human airways. Am J Respir Crit Care Med 2000;161:550-57.
12. Saito Y, Azuma A, Kudo S, Takizawa H, Sugawara I. Long-term inhalation of diesel exhaust affects cytokine expression in murine lung tissues: comparison between low- and high-dose diesel exhaust exposure. Exp Lung Res 2002;28:493-506.
13. Takano H, Yoshikawa T, Ichinose T, Miyabara Y, Imaoka K, Sagai M. Diesel exhaust particles enhance antingen-induced air way inflammation and local cytokine expression in mice. Am J Respir Crit Care Med 1997;156:36-34.

14. Yin XJ, Schafer R, Ma JY, Antonini JM, Weissman DD, Siegel PD, et al. Alteration of pulmonary immunity to Listeria monocytogenes by diesel exhaust particles (DEPs). I. Effects of DEPs on early pulmonary responses. Environ Health Perspect 2002;110:1105-11.

15. Yin XJ, Schafer R, Ma JY, Antonini JM, Roberts JR, Weissman DN, et al. Alteration of pulmonary immunity to Listeria monocytogenes by diesel exhaust particles (DEPs). II. Effects of DEPs on T-cell-mediated immune responses in rats. Environ Health Perspect 2003;111:524-30.

16. Park GY, Park JW, Jeong DH, Jeong SH. Prolonged airway and systemic inflammatory reactions after smoke inhalation. Chest 2003;123:475-80.

17. Ouyang Y, Virasch N, Hao P, Aubrey MT, Mukerjee N, Bierer BE, et al. Suppression of human IL-1beta, IL-2, IFN-gamma, and TNF-alpha production by cigarette smoke extracts. J Allergy Clin Immunol 2000;106:280-87.

18. Ohtani T, Nakagawa S, Kurosawa M, Mizuashi M, Ozawa M, Aiba S. Cellular basis of the role of diesel exhaust particles in inducing Th2-dominant response. J Immunol 2005;174:2412-19.

19. Smith KA. Interleukin-2: inception, impact, and implications. Science 1988;240:1169-76.

20. Young HA, Hardy KJ. Interferon-γ producer cells, activation stimuli, and molecular genetics regulation. Pharmacol Ther 1990;45:137-51.

21. Luster MI, Simeonova PP, Gallucci R, Matheson J. Tumor necrosis factor- α and toxicology. Crit Rev Toxicol 1999;29:491-511.

22. Yoneda K, Osaki T,Yamamoto T, Ueta E. Effects of tumour necrosis factor – α IL-1 β and monocytes on lymphokine-activated killer (LAK) induction from natural killer (NK) cells and T lymphocytes. Clin Exp Immunol 1993;93:229-336.

23. McAdam AJ, Pulaski BA, Harkins SS, Hutter EK, Lord EM, Frelinger JG. Synergistic effects of co-expression of the TH1 cytokines IL-2 and IFN – γ on generation of murine tumor- reactive cytotoxic cells. Int J Cancer 1995;61:628-34.

24. Kobayashi M, Kobayashi H, Pollard RB, Suzuki F. A pathogenic role of Th2 cells and their cytokine products on the pulmonary metastasis of murine B 16 melanoma. J Immunol 1998;160:5869-73.

25. Yamamura M, Modlin RL, Ohmen JD, Moy RL. Local expression of antiinflammatory cytokines in cancer. J Clin Invest 1993;91:1005-10.

26. Bridges RB, Hsieh L. Effects of cigarette smoke fractions on the chemotaxis of polymorphon leukocytes. J Leukoc Biol 1986;40:73-85.

27. Martin F, Santolaria F, Batista N, Milena A, Gonzalez-Reimers E, Brito MJ, et al. Cytokine levels (IL-6 and IFN-γ), acute phase response and nutritional status as prognostic factors in lung cancer. Cytokine 1999;11:80- 86.

28. Rosenberg SA, Mule JJ, Spiess PJ, Reichert CM, Schwarz SL. Regression of established pulmonary metastases and subcutaneous tumor mediated by the systemic administration of high-dose recombinant interleukin 2. J Exp Med 1985;161:1169-88.

29. Shimizu K, Fields RC, Giedlin M, Mule JJ. Systemic administration of interleukin 2 enhances the therapeutic efficacy of dendritic cell-based tumor vaccines. Proc Natl Acad Sci USA 1999;96:2268-73.