العلاج الجهازي لسرطانة الغدة اللبنية المغروس تحت الجلد في الفئران بفايروس مرض نيوكاسل

عبد الامير عوده اسماعيل* طا لب عبد الامير مكاوي ** ناهي يوسف يا سين*** انطوان صبري البنا **

* فرع الأمراض وأمراض الدواجن والأسماك، كلية الطب البيطري، جامعة كربلاء، العراق
** فرع الأمراض و الدواجن، فرع الأحياء المجهرية، كلية الطب البيطري، جامعة بغداد، العراق
*** المركز العراقي لبحوث السرطان و الوراثة الطبية، الجامعة المستنصرية، العراق

الخلاصة:

تضمنت هذه الدراسة استخدام ستة مجاميع لإناث الفئران حقنت بالخلايا السرطانية لسرطانه الغده اللبنيه تحت الجلد، ثلاثة منها علاجية والأخرى سيطرة. بينت المجموعة العلاجية الأولى والمعالجة با ل BCGوالحقن المتعدد بفايروس نيوكاسل الضاري داخل تجويف البريتون تثبيطآ واضحآ في نمو الورمGrowth inhibition و بشكل مهم إحصائي وبنسبة(53%) مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة وبنسبة (46%) مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة.بينما أظهرت المجاميع المعالجة بفايروس نيوكاسل زيادة في حجم الورم النسبي Relative tumor volume مقارنة مع حجم الورم عند بدء العلاج الفايروسي وبشكل مهم احصائي وكانت الزيادة في هذه المجاميع اقل من الزيادة الحاصلة في المجاميع الاخرى. تميزت الافات العيانية في مجموعة الفئران المعالجة بصغر وصلابة حجم الورم المغروس تحت الجلد بشكل واضح مقارنة مع حجم الورم في الفئران غير المعالجة. أوضحت المقاطع النسيجية المؤخوذه من كتلة الورم وجود مناطق تنخر واسعة Massive necrosis مع وجود خلايا سرطانية غير متنخرة مع ارتشاح الخلايا الالتهابية اللمفاوية Lymphocytes والبلازمية plasma cells و البلاعم الكبيرة macrophages .

Systemic Treatment Of Murine Mammary Adenocarcinoma Transplanted Subcutaneously In Mice By Virulance Newcastle Disease Viruse

AbdulAmeer O. Ismail * T.A. Makkawi** Nahi Y. Yaseen*** Anton S. Albana**

*Pathology &Poultry disease Depart. ,College of Vet. Med., Kerbala University, Iraq
**Depart. Of Pathology and Poultry disease. Depart.of Microbiology, College of Vet. Medicine. Baghdad University, Iraq
***Iraqi Center of Cancer and Medical Cytogenetic, Mustencerria Univ.

Abstract:

The present study included of six groups of femals mouse injecting with cells from murine mammary adenocarcinoma subcutaneously, three groups as treated and the others as control groups. The first group, Which was treated

with BCG and injection of virulence Newcastle disease virus(NDV) intraperitonealy (I.P),showed prominent suppression of tumor statistically significant with (53 %) compared with group of negative control and (46%) compared with group of positive control . The groups treated with (NDV),shown increase of relative tumor volume(RTV) compared with tumor size at the start of treatment but these increased lower than increased will be occurs in untreated groups. Grossly,The treated tumor characterized by small in size,firm compared with tumor size in untreated groups.Histopathological examination of the treated tumor showed wide areas of necrosis associated with lymphocytic ,plasmic and macrophagic infiltration.

المقدمة:

تعد الأمراض السرطانية أحدى الأسباب الرئيسية للوفاة في الدول المتطورة والنامية على حد سواء (1) . حيث تم تسجيل (1.3) مليون حالة اصابة بالسرطان عام (1996) في الولايات المتحدة توفى منهم (554) ألف (2). كذلك يعتبر سرطان الثدي في النساء ثاني مسبب للموت في العالم (3). ولهذا أحدثت هذه الأمراض تطورا واسعا في برامج البحوث العلمية. وفي العراق يعد السرطان من الأمراض الشائعة والخطيرة وقد أزدادت نسبة الأصابة في السنوات الأخيرة بالأورام السرطانية بشكل ملحوظ خصوصا سرطانة الغدة اللبنية(Mammary denocarcinoma) وسرطانات أخرى للكبد والقولون مما أدى الى وفاة أعداد كبيرة منهم (4).

ونظرا لاهمية الجهاز المناعي في مقاومة العديد من الامراض وخاصة السرطانية فقد عكف العلماء على ايجاد طرق علاجية تؤدي الى تقوية الجهاز المناعي بدون اثار جانبية على المريض ومن هذه الطرق استخدام البكتريا ومنتجاتهاومنها لقاح (BCG) لتقوية الجهاز المناعي عن طريق تحفيزه عند استعمالها موضعيا (5).كذلك استعملت الفايروسات في علاج السرطان حيث تتميز آلية قتل الخلايا السرطانية من قبل الفايروسات بأنها تتكاثر في الخلايا المصابة بعد تثبيطها للعمليات الحيوية داخل الخلية (6). حيث تتميز الخلايا السرطانية عن الخلايا الطبيعية بأظهارها لعدة أختلافات كيميائية حيوية ووظيفية من ناحية أظهار المورثات (genes)وعرض البروتينات على سطحها، لذلك أستغلت هذه الظاهرة لأنتاج فايروسات تتكاثر بخصوصية وأنتقائية داخل الأورام (7),حيث تتضمن آليات التكاثر الأنتقائي للفايروسات في الأورام استعمال الفايروسات ذات الأنتقائية المورثة طبيعيا تجاه الأورام مثل فايروس نيوكاسل (8). أو أستعمال الفايروسات المهندسة وراثيا لزيادة أنتقائيتها بأتجاه الأورام كحذف مورثات وظيفية والضرورية للتكاثر والسمية في الخلايا الطبيعية مثل فايروس الشلل (Polio) virus (9).

المواد وطرائق العمل:

عزل وتنمية فايروس نيوكاسل الضاري

تم الحصول على عينة الفايروس من فرع الامراض والدواجن- كلية الطب البيطري - جامعة بغداد وتم عزله وتنقيته حسب طريقة Alexander(1998)(10) تم حقن (0.1) مل من عينة الفايروس في كيس الألنتوي لأجنة دجاج بعمر (9)أيام تم وضع البيض المحقون في الحاضنة عند درجة (37.8)ْم وتمت متابعة البيض بأستمرار وبعد هلاك جميع الأجنة خلال فترة 48 ساعة يوضع البيض بالثلاجة عند درجة (4)ْم .يسحب السائل الألنتوي الحاوي على الفايروس الضاري ويوضع في قناني معقمة. وتم حساب نصف الجرعه القاتلة للفايروس Embryo lethal dose(ELD 50%) حسب طريقة كيربر(11). كذلك تم استعمال الاوساط الزرعيه اكار الدم blood agar، thioglucolated broth ووسط Soy

tryptic broth لفحص نقاوة الفايروس حسب طريقة*etal* Collee (1996)(12).

غرس الخلايا السرطانية

تم الحصول على خط الخلايا السرطانية(AM3) لسرطانة الغده اللبنية الفآري من المركزالعراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية- الجامعة المستنصرية وتم حقن الفئران بالخلايا السرطانية تحت الجلد حسب طريقة Al-Shamaery(13).

قياس معدل نمو الورم

يقاس حجم الورم Tumor volume بآستعمال آلة قياس Vernier caliber حيث يؤخذ قياسان طول الورم وعرضه(14) ويتم حساب النسبه المئويه لتثبيط حجم الورم وحجم الورم النسبي حسب طريقة Phuangsab *etal* (2001) (15).

لقاح Bacillus Calmett Gurein (BCG)

جهز من قبل معهد المصول واللقاح التابع لوزارة الصحه بعبوات ذات تركيز (5.) 0ملغم/ مل حيث ان 1 مل يحتوي على (20) جرعه تعطى للاطفال بعمر اقل من سنة واحده.

الحيوانات المختبرية

استخدمت في هذه الدراسة (36) من إناث الفئران البيضاء جنسc \Balb وبأعمار- 12) (8 آسبوع ،حقنت بالخلايا السرطانية تحت الجلد وبعد نمو الكتلة السرطانية بحدود(9-12) ملم. بعد ذلك قسمت الى ستة مجاميع تضم كل منها(6) فأر وكما يلي.

المجموعة الأولى- تحقن بلقاحBCG وبجرعة (1. 0) مل تحت الجلد لكل فأر وبعد مرور أسبوعين تحقن بـ (0.1) مل من فايروس نيوكاسل الضاري (LD_{50} 10^{10}) لكل فأر داخل تجويف البريتون(I.P)Intraperitoneal وبست جرع وبفارق ثلاثة أيام بين جرعة وأخرى.

المجموعة الثانية- بعد مرور أسبوعين من نمو الورم السرطاني تحقن فقط بفايروس نيوكاسل الضاري(0.1) مل ($LD_{50}10^{10}$) لكل فأر داخل تجويف البريتون Intraperitoneal(I.P) وبست جرع وبفارق ثلاثة ايام بين جرعة وأخرى.

المجموعة الثالثة- تحقن بلقاح BCG فقط وبجرعة (0.1) مل لكل فأرتحت الجلد وتترك إلى نهاية التجربة.

المجموعة الرابعة- تحقن بلقاح BCG **وبعد مرور** أسبوعين تحقن بسائل الالنتوي Fluid Allantoic (سائل طبيعي غير حاوي للفايروس) داخل تجويف البريتون(I.P)Intraperitoneal وبست جرع وبفارق ثلاثة أيام بين جرعة وأخرى. احتسبت سيطرة موجبة للمجموعة الأولى.

المجموعة الخامسة- بعد مرور أسبوعين تحقن فقط بسائل الالنتوي الطبيعي داخل تجويف البريتون (I.P) Intraperitoneal وبست جرع وبفارق ثلاثة أيام بين جرعة وأخرى. سيطرة موجبة للمجموعة الثانية.

المجموعة السادسة- تحقن فقط با لخلايا السرطانية تحت الجلد وتترك بدون علاج وتعتبر سيطرة سالبة لبقية المجاميع.

الدراسةالمرضيةHistopathology study

تم اخذ العينات المرضية بعد قتل الفئران من الكتلة السرطانية ووضعت في محلول الفورمالين (10%) ثم تؤخذ منها قطع في كحولات مختلفة ثم تصب في قوالب شمعية وتقطع باستخدام جهاز المايكروتوم بسمك خمسة مايكرون وتصبغ بصبغة الآيوزين والهيماتوكسلين(16) لدراسة التغيرات المرضية النسيجية.

التحليل الإحصائي

تم تحليل نتائج الدراسة احصائياً حسب البرنامج الجاهز(2001) SAS حيث قورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باختبار الفرق المعنوي الأصغر(17) . Least Significant Differences (LSD).

النتائج:

حجم الورم Tumor volume

أظهرت فئران المجموعة الأولى والمعالجة بال BCG والحقن المتعدد داخل تجويف البريتون (I.P)لفايروس نيوكاسل الضاري تثبيطاً واضحاً في نمو الورم Growth inhibition وذلك بعد ثلاثة أيام من حقن الجرعة الأولى للفايروس مقارنة مع المجموعة

غير المعالجة. حيث استمر التثبيط بعد حقن الجرع الستة للفايروس حتى وصلت نسبتة بعد حقن الجرعة السادسة بعد(18) يوم من العلاج إلى(53%) مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة وبشكل مهم احصائي (P <0.0001) (الجدول رقم 1) وبنسبة(46%) مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة و بشكل مهم إحصائي(P<0.0001) . الجدول رقم (2) .

كما أظهرت المجاميع الثانية والثالثة تثبيط في حجم الورم بنسب متفاوته لكن اقل شدة من نسبة التثبيط الحاصلة في المجموعة الأولى الجدول رقم (1) .حيث ان حجم الورم في فئران المجموعة الأولى عند نهاية التجربة اقل بشكل مهم إحصائي (P<0. 01)مقارنة مع المجموعة الثانية وبشكل مهم إحصائي(P<0.0001) مقارنة مع المجموعة الثالثة.

حجم الورم النسبي % Relative tumor volume

بينت فئران المجموعة الأولى والثانية والمعالجة بالحقن المتعدد داخل تجويف البريتون لفايروس نيوكاسل الضاري زيادة في حجم الورم النسبي وذلك بعد ثلاثة ايام من حقن الجرعة الأولى للفايروس واستمرت الزيادة الى نهاية التجربة بعد حقن الجرعة السادسة للفايروس بعد (18) يوم من بدء العلاج الفايروسي حتى بلغت الزيادة (35%,23%) على التوالي وبشكل مهم إحصائي (P<0.0001) مقارنة مع حجم الورم عند بدء العلاج. الشكل رقم (1).الجدول رقم(3).

أما المجاميع الثالثة والرابعة والخامسة والسادسة فقد أظهرت زيادة واضحة في حجم الورم النسبي حتى نهاية التجربة حيث بلغت (123%,122%,100%,108%) على التوالي وبشكل مهم إحصائي (P<0.0001) مقارنة مع حجم الورم عند بدء العلاج. الجدول رقم (3).وان الزيادة الحاصلة في المجاميع المعا لجة بفايروس نيوكاسل اقل من الزيادة الحاصلة في بقية المجاميع.

التغيرات المرضية Pathological changes

تميزت التغيرات المرضية العيانية Gross lesions في مجموعة الفئران المعالجة داخل تجويف البريتون بكبر حجم الكتلة السرطانية تحت الجلد وصلابتها ولكنها اصغر حجما من الكتلة السرطانية في المجموعة غير المعالجة (الصوره رقم1).

أوضح الفحص النسيجي للكتلة السرطانية في الفئران المعالجة بفايروس نيوكاسل الضاري بعد 18يوم من بدء العلاج من وجود مناطق تنخر واسعة massive necrosis مع ملاحظة النزف واحتقان الأوعية الدموية للورم السرطاني مع وجود خلايا سرطانية غير متنخره مع ارتشاح شديد للخلايا الالتهابية العدلات واللمفاوية والبلازمية وخلايا البلاعم الكبيرة (الصورة رقم 2) .أما المجاميع الأخرى فأظهرت تغيرات مرضية اقل شدة من المجموعتين الأولى والثانية. الجدول رقم(4) . كما أظهرت الصورة النسيجية لطحال هذه الفئران زيادة في الخلايا اللمفا وية و حالة تكاثر خلايا Megakaryocytes دلالة على تكون الدم خارج النخاع Extramedullary hemopoisis (الصورة رقم 3). أما المجموعة الثانوية الخامسة والمعالجة فقط بالـ BCG فأظهرت مناطق تنخر على حواف الورم مع ارتشاح الخلايا الالتهابية اللمفاوية (الصورة رقم 4).

Days after treatment

	Groups	D3	D6	D9	D12	D15	D18	Significance
1-	BCG + NDV (I.P)	31%	44%	47%	48%	49%	53%	P<0.0001
2-	NDV (I.P)	27%	38%	39%	40%	41%	43%	P<0.0001
3-	BCG only	6%	23%	20%	18%	5%	12%	P<0.05

الجدول رقم (1) يبين النسبة المئوية لتثبيط حجم الورم Growth inhibition% مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة

Days after treatment

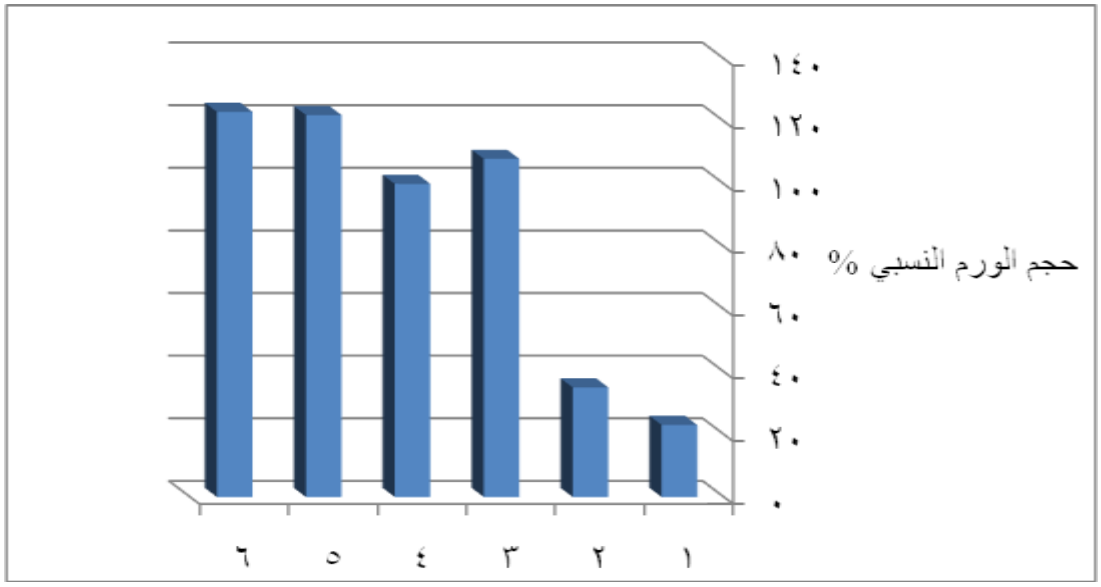
	Groups	D3	D6	D9	D12	D15	D18	Significance
1-	BCG + NDV (I.P)	27%	31%	33%	34%	45%	46%	P< 0.0001
2-	NDV (I.P)	25%	33%	37%	38%	40%	43%	P< 0.0001

الجدول رقم (2) يبين النسبة المئوية لتثبيط حجم الورم Growth inhibition% مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة.

Days after Treatment

	Groups	D0	D3	D6	D9	D12	D15	D18	Significance
1-	BCG + NDV (I.P)	00%	9%	11%	13%	19%	22%	23%	P< 0.0001
2-	NDV (I.P)	00%	6%	12%	19%	23%	26%	35%	P< 0.0001
3-	BCG only	00%	33%	38%	52%	65%	100%	108%	P< 0.0001
4-	BCG + Allantoic fluid (I.P)	00%	31%	41%	49%	59%	96%	100%	P< 0.0001
5-	All. Fluid (I.P)	00%	33%	58%	78%	88%	99%	122%	P<0.0001
6-	Tumor only (C-VE)	00%	35%	70%	80%	92%	99%	123%	P< 0.0001

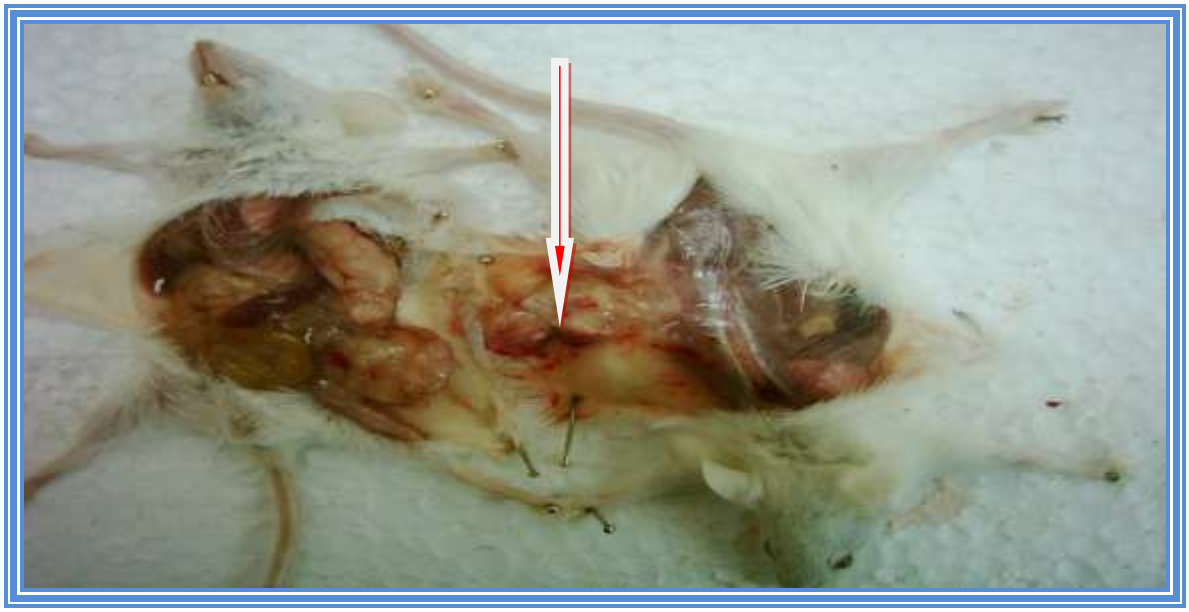
الجدول رقم (3) يبين تأثير العلاج المناعي والفايروسي على حجم الورم النسبي (%) طيلة فترة التجربة مقارنة مع حجم الورم عند بدء العلاج.



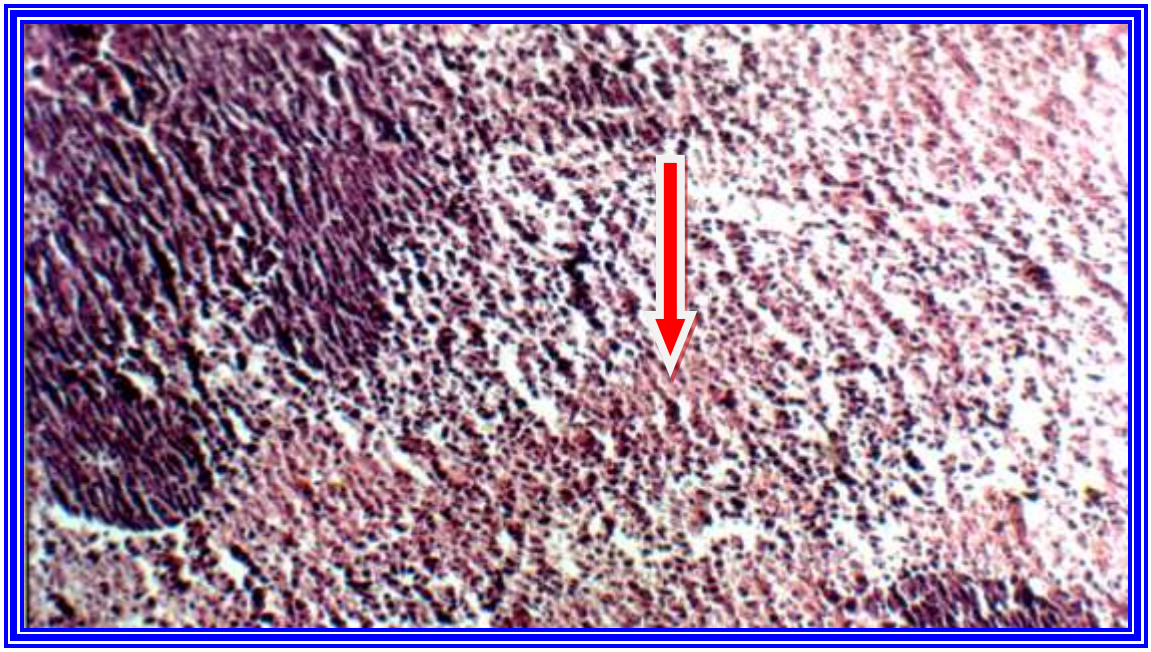
شكل رقم(1)يبين الأثر التثبيطي للعلاج بفايروس نيوكاسل على حجم الورم النسبي.

	Groups	Necrosis	Inflammatory	Fibrous connective tissue	Vaccultion apoptosis like lesion	Haemorrhage
1-	BCG + NDV_1 (I.P)	+ + +	+ + +	+ +	+ +	+ +
4-	NDV_1 (I.P)	+ +	+ +	+	+	+ +
5-	BCG only	+	+	-	-	-
8-	BCG + All. (I.P)	+	+	-	-	-
9-	All.fluid (I.P)	-	+	-	-	-
10-	Tumor only (C-VE)	-	-	-	-	-

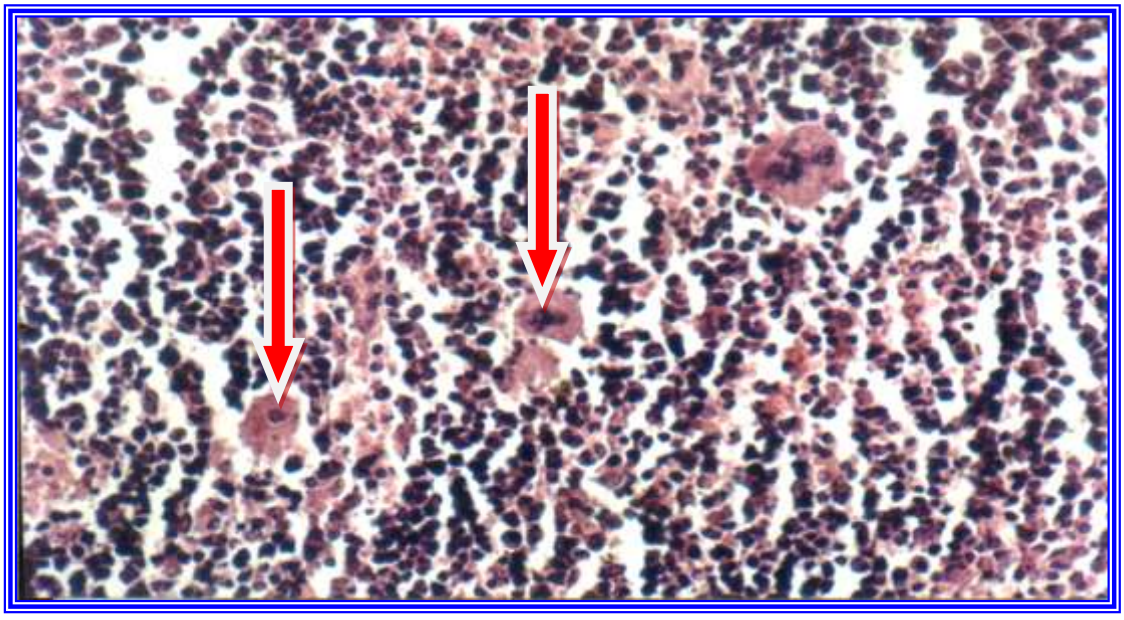
جدول رقم (4) يبين شدة التغيرات المرضية النسيجية للورم السرطاني المعالج في المجاميع المختلفة.



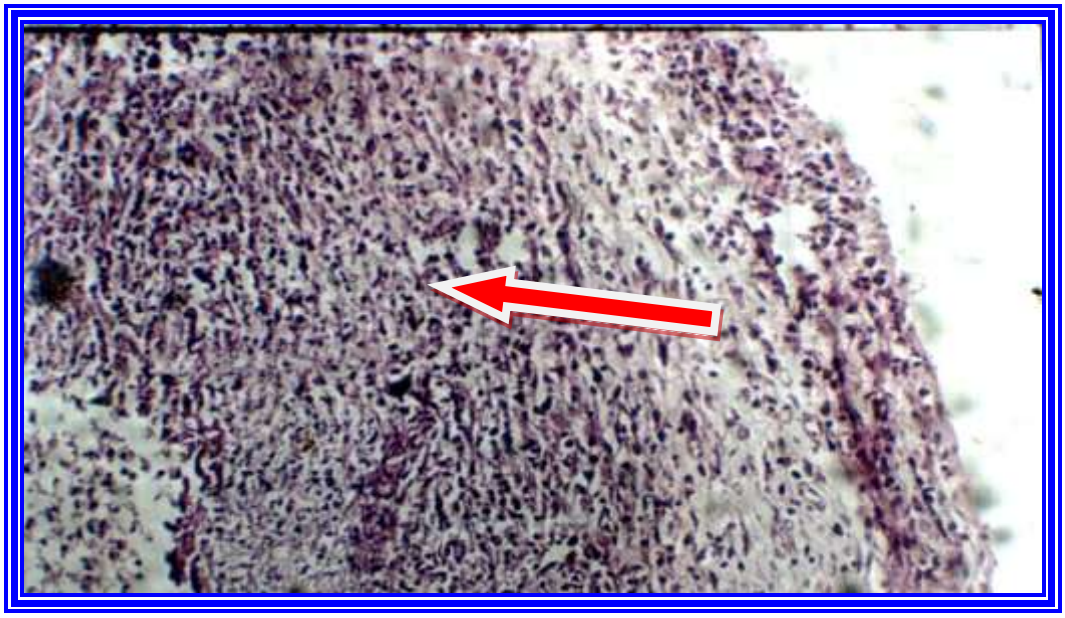
صورة رقم (1). ملاحظة كبر حجم الكتلة الورمية في الفأر على الجهة اليسرى (مجموعة غير معالجة)مقارنة مع المجموعة المعالجة بالBCG وفايروس نيوكاسل الضاري مع وجود بعض المناطق النزفية على السطح الخارجي للورم.



صورة رقم (2). ملاحظة التنخر في كتلة الورم مع ارتشاح الخلايا الألتهابية مع وجود إعداد من النسيج الورمي الغير مصاب بالفايروس (H&E) (100x).



صورة رقم (3). الطحال ملاحظة حالة تكثر الخلايا الإلتهابية (تكون الدم النخاعي). (Extramedullary Hemopoiesis) (H&E .200x) .



صورة رقم (4) ملاحظة مناطق تنخر على حواف الورم مع إرتشاح الخلايا الإلتهابية اللمفاوية (H&E) (200x).

المناقشة:

أظهرت مجموعتي الحقن داخل تجويف الخلب، المجموعة العلاجية الأولى والمعالجة بالـ BCG والحقن المتعدد لفايروس نيوكاسل الضاري، والمجموعة العلاجية الثانية والمعالجة بالحقن المتعدد بفايروس نيوكاسل الضاري فقط فعالية في تثبيط نمو الورم حيث بلغت نسبته (53%) وبشكل مهم إحصائي ($P<0.0001$) للمجموعة الأولى وبنسبة (43%) وبشكل مهم إحصائي ($P<0.0001$) للمجموعة الثانية.

إن الإصابة بفايروس نيوكاسل الضاري تستحدث إفراز العديد من الوسائط الكيميائية والمدورات الخلوية والتي تؤدي الى تحفيز الجانب المناعي، فقد اشار Ito *et al.*, (1982)(18) ان فايروس نيوكاسل مستحدث جيد للأنترفيرون وان الأنترفيرون يسبب تقوية انتقائية لفعالية الخلايا اللمفاوية التائية المتخصصة للورم. كذلك ذكر Washburn and Schirrmacher, (2002)) (19) ان فايروس نيوكاسل يستحدث إنتاج مادة Rantes الذي له دور مهم كعامل جذب للخلايا وحيدة النواة كالخلايا اللمفاوية التائية والبلاعم الكبيرة حيث ان للعامل Rantes قوة جذب انتقائية للخلايا وحيدة النواة Monocytes والخلايا اللمفاوية التائية الذاكره Memorry -T- lymphocytes. كذلك ان فايروس نيوكاسل يستحدث انتاج عامل نخر الورم – الفا - TNF x والذي يؤدي دوراً مهماً في تقوية فعالية الخلايا القاتلة الطبيعية Natural Killer cells والبلاعم الكبيرة Macrophages في الفعالية المضادة للورم. وأضاف نفس الباحثان ان الأنترفيرون المستحدث نتيجة الإصابة بفايروس نيوكاسل يؤدي الى رفع مستوى تنظيم جزئية MHC-1 التي تؤدي بالنتيجة لتحسين التميز والإستجابة الحاصلة من الخلايا اللمفاوية التائية المضادة للورم. كذلك وجد ان فايروس نيوكاسل لديه القوة على التحفيز المناعي غير المتخصص وانه يستحدث تصنيع Nitric oxide عن طريق الأنترفيرون المستحدث من قبل العلاج بالفايروس وان اوكسيد النتريك المستحدث هو عامل سام خلوياً مضاد للورم. (20).

اظهرت فئران المجموعة الاولى تثبيطاً في نمو الورم اكثر من المجموعة الثانية والمعالجة فقط بفايروس نيوكاسل الضاري داخل تجويف الخلب. وذلك بالإضافة الى ماذكر اعلاه من التحفيز المناعي لفايروس نيوكاسل الضاري فإن المزج بين العلاج الفايروسي والعلاج المناعي

المتمثل بلقاح BCG يزيد من الفعالية التثبيطية لنمو الورم حيث اشار الباحث Schirrmacher *et al.*, (2000)(21) ان مزج لقاح BCG مع العلاج بفايروس نيوكاسل يزيد من الفعالية التحفيزية لخلايا البلاعم الكبيرة في الفعالية المضادة للأورام سواء في الزجاج *invitro* او داخل جسم الكائن الحي *invivo*. كذلك اشار الباحثون Kaasinen *et al.*, (2000) (22) ان لقاح BCG يزيد الفعالية السمية الخلوية في تدمير الخلايا السرطانية. كذلك اشار Elsasser *et al.*, (2000) (23) ان اعطاء اللقاح يؤدي الى زيادة الأنترلوكينات والعامل الناخر للورم والأنترفيرون كاما في امصال المصابين. كما انه يؤدي الى تحفيز الوسائط المناعية المهمة في تنشيط الخلايا اللمفاوية التائية المساعدة CD_4 T-helper cells والخلايا اللمفية التائية السامة (24) وهذا ما اكده الفحص النسيجي المرضي الذي أظهر هجرة الخلايا اللمفاوية لموقع الورم المتنخر والتي يمكن ملاحظتها داخل الوعاء الدموي، كما أظهرت وجود مناطق التنخر الواسعة Massive necrosis لنسيج الورم وارتشاح الخلايا اللمفاوية والبلازمية والبلاعم الكبيرة التي تؤدي دوراً مهماً في تحطيم الورم وتنخره وهذا مطابق لما ذكره (25) كذلك تمت ملاحظة تفجي Vacculation هيولي بعض الخلايا السرطانية الشبيهة بالموت المبرمج Apoptosis like حيث تحصل إزالة سريعة لتلك الخلايا، إذ ذكر الباحث Ronchitti *et al.*, (1999) (26)ان الموت المبرمج يجعل الخلية اكثر تمنيعاً حيث تميزها البلاعم الكبيرة وتلتهمها ومن ثم يؤدي دوراً في التخلص من الخلايا السرطانية وإزالتها في الوقت نفسه وهذا يصب في مجرى الآليات المضادة للورم والمستحدثة بفعل الإصابة بفايروس نيوكاسل. كذلك ملاحظة التحفيز المناعي للـ BCG في طحال الفئران المعالجة حيث تمت ملاحظة حالة تكثير الخلايا الإلتهابية(تكوين الدم النخاعي) extra medullary hemopoisis وملاحظة خلايا Megakaryocytes داخل نسيج الطحال مما يدل على إستجابة الفئران لحالة التحفيز المناعي وهذا مطابق لما ذكره (27). ولأن الدراسة اظهرت فعالية الحقن داخل تجويف الخلب حيث ذكر Pecora *et al.*, (2002) (27) ان الحقن الجهازي عن طريق الوريد لعترة PV-701 ولجرعات متعددة ولمدة طويلة للمرضى المصابين بالسرطان في اعضاء داخلية ان الفايروس ثبت وصوله للورم وتكاثره فيه من صور المجهر الألكتروني على الرغم من وجود مستوى عالي من الأجسام المضادة المعادلة في المصل. وقام بعض الباحثين بمحاولة تثبيط بعض الإستجابة المناعية التي قد تحصل ضد الفايروس المستعمل في العلاج كما شار الباحثون Ikeda *et al.*, (2000) (28) حيث قاموا بتثبيط المتمم لتسهيل عمل الفايروس المستعمل في العلاج الجهازي ضد السرطان. كذلك اكد AlShameary,*et al*(2003) (13) فعالية استعمال العلاج داخل تجويف الخلب في الفئران المخفضة مناعياً حيث سبب تثبيط نمو الورم بشكل مهم إحصائي ($P<0.0001$) وسبب ايضاً تقهقر كلي Complete regression لـ (40%) من الفئران المعالجة وهذا يشير الى ان كمية الفايروس الواصل الى موقع الورم كان بشكل كافي ليضمن فاعلية افضل، إذ قد يرتبط الفايروس على بعض الخلايا التي تظهر مستقبلات مشابهة. كذلك اكد نفس الباحثون ان النتائج العلاجية لمجموعة الحقن داخل تجويف الخلب ذات أثر مشابهة تقريباً لمجموعة الحقن داخل كتلة الورم في الفئران المخفضة مناعياً وذلك لأن المعوقات في وصول الفايروس لموقع الورم من وجود اجسام مضادة غير موجودة نتيجة التثبيط المناعي للمناعة الخلطية التي قد تعادل الفايروس.

References:

1-Jemal , A. ; Thomas ,A. ; Murray , T. and Thun , M.(2002) . Cancer statistics .Cancer .J. Clin . ,52:23-47.

2-Weir ,H.K. ; Thun , M.J.; Hankey ,B.F .; Ries, L.A.; Howe,H.L.;Wingo ,P.A.;Jemal,A.;Ward,E.;Anderson,R. N.and Edward, B.K.(2003). Annual report to the nation on the status of

cancer ,1995-2000,Featuring the use of surveillance data for cancer .Prevention and control .JNCI,95: 1276-1299.

3-Greenlee, R. T. ; Murray , T. and Bolden ,S. (2000) . Cancer statistics. Cancer .J.Clin.50:7.

4- Ministry of Health. (1999) . Results of Iraqi cancer registry 1995 – 1997,Iraqi cancer boarder.

5- Gaynor , E. R. and Fisher , R. I. (1994). Biologic Therapy. In: Abeloff , M.D. ; Armitage ,J.D. ; Lichter , A. S . and Niederhuber ,J.E (ed.).Clinical Oncology .Churchill Livingstone, Pp .275-294.

6- Lamb , R.A. and Kolakofsky,D . (1996) .Paramyvoviridae : The Viruses and their replication .In: Fields , B. N. ; Knipe , D. M. and Hoeley ,P.M.(eds.) .Fundamental Virology , (3rd ed.). Lippincott. Reven Publishers ,Philadelphia. Pp.,577-604.

7- Kirn,D.H. (2000) . Replication – Selective microbiological agents : Fighting cancer with targeted germ warfare .The Journal of clinical Investigation ,105(7):837-839.

8- Bergsland, E. and Venook , A. (2002) .Shedding old paradigms devel- oping viruses to treat cancer . Journal of Clinical Oncology,20(9):2220-2222.

9- Gromeier , M.;Lachmann ,S .; Rosenfeld ,M.R.; Gutin, P.H. and Wimmer,E.(2000).Intergeneric Polio virus recombinant for the treatment of malignant glioma . PNAs, 97(12): 6803 – 6808 .

10- Alexander,D.J.(1998).Newcastle disease virus and other paramyxo virus In :Isolation and identification of avian pathogens, (4th ed) .Edited by Swayane, D. E. ; Glissan , J. R. ; Jackwood, M. W. ; Pearson , J.E.and Reid,W.M. American Association of Avian Pathologists .U.S.A.Pp.156-163.

11- Allan ,W. H.; Lancaster,J. E. and Toth,B. (1978) .Newcastle disease vaccines .Their Production and Use.FAO.Italy,Pp.1-9.

12- Collee , J. G. ; Miles, R. S. and Watt, B.(1996). Test of identification of bacterial. In: Mackie and macCartney Practical medical Microbiology By. collee,J.G.;Fraser, A.G.;Marmion,B.P Simmons,A.; (4th ed.).Churchill living stone.

13- Al-Shamaery, A. M (2003) .Study the effect of immune stimulation. On the transplanted tumor cells in white mice . Athesis of Master .Vet. College . University Baghdad.

14- Grote, D. ; Russell, S. J. ; Cornu, T. I.; Cattaneo, R. ;Vile,R.;Poland,G. A. and Fielding,A.K . (2001) . Live attenuated measles virus induce regression of human lymphoma

antioxident vitamin to prevent second primary cancer in head and neck cancer patients. J. Natl. Cancer.Inst . 97 (7):481 -488.

21- Schirrmacher,V.Bai,L.;Umansky ,V. ;Yu , L. ; Xing ,Y. and Qian ,Z. (2000).Newcastle disease virus activates macrophage for anti – tumor activating . international Journal of Oncology,16:363-373.

22- Kaasinen , E.S.; Harju ,L.M. ;Alfthan ,O.S. and Timonen , T.T. (2000) . Non specific , rapidly generated cytotoxicity in lymphocytes induced by BCG in vitro : no evidence of enhancing effect from preceding interaction between BCG and transitional cell line cells . J . Urol.163(1):317-322.

23- Elsasser-Beile. V. ; Gutezeit ,O.; Bauer,S. ;Katzenwadel, A. ; Schultze Seemann,W. and Wetteraner,V. (2000) . Systemic and local immunomodulatory effects of intravesical BCG therapy in patients with superficial urinary bladder carcinomas.J.Urol.163(1):296-299.

24- Turner, J. ; Corrah , T. ; Sabbally ,S.; Whittle , H. and Dockrell , H. M (2000) . A longitudinal study of invitro INF– Gama production and cytolytic T – cell responses of tuberculosis patient in the Gambia .Tubercle and lung disease.80(3): 161-169 .

xenograffs in Immuno-deficient mice. Blood, 97(12) :3746-3754.

15- Phuangsab , A ; Lorence , R.M ; Reichard, K. W; Peoples, M. Eand Waltser, R. J. (2001) . Newcastle disease virus therapy of human tumor Xenografts : anti tumor effects of local or systemic administration Cancer Letters,172:27-36.

16- Luna , G. L .(1968) . Manual Histologic staining methods of armed Forces institute of pathology (3rd ed) . Mc Graw – Hill Book Company, New York , U.S.A.

17-SAS,(2001).Statistic analysis system program.Users Guide:SAS Personal of computers .Inst.Inc.Cary, NC.USA.

18- Ito , Y.;Naga , Y . and Maeno,K. (1982) . Interferon production in mouse spleen cells and mouse fibroblast (L cell) stimulated by various strain of Newcastle disease virus. J.Gen.Virol.,62:249-352.

19-Washburn,B. and Schirrmacher , V. (2002) . Human tumor cell infection by Newcastle disease virus lead to up regulation of HLA and cell adhesion molecules and to induction of interferon's , chemokines and finally apoptosis .International Journal of Oncology ,21:85-93.

20- Bairati.;Meyer,F.;Nabid,A. and Jean,R. (2005) . Randomized trial of

25-Quade,G.(2004).Complementary and alternative medicine statement for Health professional Newcastle disease virus national cancer Institute .Pp:1-55.

26- Ronchetti,A.;Rovere,P.;Lezzi,G. ;Galati , G. ; Haltai , S. ; Protti , M.P. Garanicini , M. P .; Manferdi , A .A.;rugarti,C.and Bellone,M. (1999) . Immunogencity of apoptosis cells invivo : Role of Antigene load , antigene presenting cells , and cytokines . The Journal of Immunology,163: 130-136.

27-Pecora,A.L.;Rizvi,N.;Cohen,G.I.; Meropol , N. J. ; Starman , D. ; Mar Shall, J.L.; Goldberg,S.;Gross,P.

;O'neil , J.D. ;Groene, W.S.; Roberts , M.S.; Rabin , H .; Batma t, M.K. and Lorence , R.M. (2002) . Phase 1trail of intravenous Administra-tion of PV701 an oncolytic virus ,In patient with advanced solid cancer . Journal of clinical Oncology ,20(9):2251 – 2266 .

28-Ikeda , K. ; Wakimoto , H. ; Jchikawa , T. ; Jhung , S. ; Hochberg ,F.H.; Louis , D . N. and Chiocca , A . (2000) . Complement depletion facilitates the infection of multiple brain tumors by an intra vascular replication – conditional herpes simplex virus mutant .Journal of Virology,74(10) :4765 - 4775.