

## POTENCIAL DO VÍRUS DA DOENÇA DE NEWCASTLE PARA A LUTA CONTRA O CÂNCER EM ANIMAIS.

Jorge Rocha

jamrrocha@yahoo.com.br

**RESUMO:** Este artigo de revisão descreve o uso do vírus da doença de Newcastle (NDV) como agente oncolítico, características biológicas relevantes de diversas cepas oncolíticas, os mecanismos de oncolise, as suas atividades imunológicas e vários aspectos de segurança são considerados no uso do NDV na viroterapia oncolítica (VTO) contra o câncer em seres humanos e animais. O uso deste vírus em estudos clínicos de VTO em animais domésticos e silvestres é fortemente sugerido, sendo uma opção barata, segura e de alta eficácia para o tratamento das neoplasias.

**Palavras chaves:** NDV, câncer animal, viroterapia oncolítica.

## POTENTIAL OF THE NEWCASTLE DISEASE VIRUS FOR THE FIGHT AGAINST CANCER IN ANIMALS.

**ABSTRACT:** This review article describes the use of Newcastle disease virus (NDV) as an oncolytic agent, relevant biological characteristics of various oncolytic strains, the mechanisms of oncolysis, their immunological activities and various safety aspects are considered in the use of NDV in virotherapy oncolytic (VTO) against cancer in humans and animals. The use of this virus in clinical studies of VTO in domestic and wild animals is strongly suggested, as it is a cheap, safe and highly effective option for the treatment of neoplasms.

**Key words:** NDV, animal cancer, oncolytic virotherapy.

## POTENCIAL DEL VIRUS DE LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE PARA LA LUCHA CONTRA EL CÁNCER EN ANIMALES.

**RESUMEN:** Este artículo de revisión describe el uso del virus de la enfermedad de Newcastle (NDV) como agente oncolítico, se consideran las características biológicas relevantes de varias cepas oncolíticas, los mecanismos de oncolisis, sus actividades inmunológicas y diversos aspectos de seguridad en el uso de NDV en viroterapia oncolítica (VTO) contra el cáncer en humanos y animales. Se recomienda encarecidamente el uso de este virus en estudios clínicos de VTO en animales domésticos y salvajes, ya que es una opción barata, segura y altamente eficaz para el tratamiento de neoplasias.

**Palabras clave:** NDV, cáncer animal, viroterapia oncolítica.

## INTRODUÇÃO

Os animais têm defesas moleculares, como múltiplos pontos de verificação do ciclo celular, vias redundantes do ciclo celular, genes supressores de tumor e resposta a danos no DNA, e apoptose. No entanto, as neoplasias acometem muitos animais, incluindo humanos.<sup>1</sup>

Em um século caracterizado por rápidas mudanças ambientais, as espécies estão cada vez mais enfrentando desafios ecológicos e imunológicos que podem aumentar o risco de câncer.<sup>1,2</sup>

O câncer é uma doença potencialmente fatal, caracterizada pela divisão celular descontrolada, invasão dos tecidos circundantes e metástases<sup>3,4</sup> e é a principal causa de morte relacionada a doenças em animais de companhia, como cães e gatos.<sup>5</sup>

Os métodos tradicionais para o tratamento do câncer em animais de estimação são principalmente cirurgia, quimioterapia e radiação, que frequentemente são acompanhados de efeitos colaterais graves.<sup>3</sup> Os efeitos colaterais da quimioterapia sistêmica usada para tratar o câncer são frequentemente graves.<sup>6,7</sup> Terapias biológicas, incluindo imunoterapia e VTO, são frequentemente mais fisiológicos e bem tolerados.<sup>6</sup> Assim, é importante desenvolver uma terapia contra o câncer que mate as células malignas sem danificar as células normais.<sup>8</sup>

A VTO, utilizando vírus atenuados ou recombinantes, tem atraído a atenção da medicina humana e da medicina veterinária como uma nova modalidade de tratamento para muitos tipos de cânceres.<sup>8</sup>

Muitos estudos clínicos de VTO em humanos estão em andamento, porém estudos com cães e gatos são muito limitados<sup>8,9,10,11</sup> e inexistentes com equinos, bovinos e aves.<sup>11</sup>

Muitos tipos de cânceres observados em cães e gatos são semelhantes aos cânceres humanos em muitos aspectos, como aparência histológica, comportamento biológico, estrutura genética tumoral, fatores de risco, mecanismos patológicos e respostas aos tratamentos.<sup>9,12</sup>

Os tumores mamários caninos (CMT) e os cânceres de mama humanos compartilham aspectos semelhantes, incluindo alta prevalência, subtipos moleculares e perfis de mutação.<sup>4,12</sup>

É importante ressaltar que estas semelhanças entre cães e humanos permitem abordagens comparativas que favorecem uma aplicação clínica mais rápida dos resultados da pesquisa para ambas as espécies.<sup>5,13</sup> Muitas das opções de tratamento usadas na medicina veterinária se assemelham aos protocolos usados para tratar pacientes humanos com cânceres.<sup>8,11</sup>

Os vírus oncolíticos (VOs) têm uma seletividade natural ou adquirida para as células cancerígenas.<sup>3,11,13</sup> O VO ideal deve destruir células tumorais em todo o corpo e induzir imunidade antitumoral sem danificar as células saudáveis.<sup>10</sup> A infecção do tumor pelos VO o torna mais visível para o sistema imunológico possibilitando seu reconhecimento e ataque.<sup>14</sup>

As alterações genéticas que causam cânceres em cães e humanos são altamente análogas<sup>12,15</sup>, e a maioria dos oncogenes tumorais e genes supressores de tumor que foram definidos em cânceres humanos contribuem para cânceres caninos.<sup>16</sup>

Os cânceres espontâneos em animais de companhia representam uma oportunidade única para a investigação de novas terapêuticas para uso humano e veterinário. Assim, os cães afetados apresentam uma oportunidade para testar novas terapêuticas que atualmente não são viáveis na medicina humana.<sup>15</sup>

Muitos vírus de tipos selvagens ou recombinantes foram testados como agentes oncolíticos para tratamento de cânceres caninos ou felinos.<sup>9</sup> A viroterapia oncolítica é uma opção de tratamento promissora que pode ser relativamente barata e eficaz contra vários tipos de cânceres.<sup>10</sup> Os VOs são poderosos agentes anti-canceres.<sup>17</sup>

Uma melhor caracterização dos tumores, a busca de alvos terapêuticos específicos em células caninas<sup>5</sup>, modificações virais para aumentar a especificidade ao tumor, estudos de segurança, estabelecimento de regimes terapêuticos (doses e vias de administração), e a avaliação de terapias combinadas para melhorar as respostas anti-tumorais são necessários para aumentar a eficácia da VTO.<sup>5,13,18</sup>

## VÍRUS DA DOENÇA DE NEWCASTLE (NDV)

O NDV é um vírus da família Paramyxoviridae, possui genoma de RNA de fita simples negativo que codifica seis genes: a proteína do nucleocapsídeo (NP), fosfoproteína (P), proteína da matriz (M), proteína de fusão (F), hemaglutinina-neuraminidase (HN) e RNA polimerase dependente de RNA (L).<sup>19,20,21</sup>

O NDV causa infecção mortal em mais de 250 espécies de aves, domésticas e silvestres, resultando em perdas substanciais para a indústria avícola em todo o mundo, mas não representa ameaça à saúde humana.<sup>3,19,20</sup> Os vertebrados, exceto as aves, não são permissíveis ao NDV.<sup>3,19,20,21</sup> A infecção de martas e camelos tem sido relatada, e os seres humanos são considerados hospedeiros acidentais.<sup>22</sup>

O NDV pode, potencialmente, ser usado com segurança para tratar cânceres em diferentes espécies de mamíferos. Além disso, o perfil de segurança das cepas não virulentas e as suas capacidades imunoestimulantes encorajam o estudo do NDV para cânceres humanos e caninos, com ênfase em seu possível benefício imunoestimulante.<sup>13,23,24</sup>

Há várias vantagens para considerar o NDV como opção terapêutica para caninos: a baixa virulência em cães, várias opções de cepas lentogênicas disponíveis, métodos bem estabelecidos para produzir as partículas virais, produção relativamente barata e a possibilidade de edição de genes.<sup>24</sup>

#### CEPAS DO NDV

As cepas de NDV são divididas em três grupos com base em suas virulências em galinhas: as cepas velogênicas neurotrópicas, que causam doenças respiratórias e neurológicas, com alta mortalidade;<sup>3,22</sup> as cepas mesogênicas, que provocam sintomas respiratórios e nervosos, causando mortalidade moderada; e as cepas lentogênicas, que causam infecções leves nos tratos respiratórios de aves adultas, de baixa virulência mas seu potencial para incitar a imunidade antitumoral é destacado.<sup>3,13,20,21</sup>

Devido à possibilidade de replicação, as cepas mesogênicas e velogênicas exibem capacidades superiores para provocar a lise direta das células tumorígenas.<sup>3,21</sup> São exemplos de cepas oncolíticas de interesse médico: as lentogênicas Ulster, Hitchner B1 e LaSota; as cepas mesogênicas MTH-68/H, Mukteswa e PV701; e as cepas velogênicas Italien e Hert. A cepa LaSota é comumente usada na indústria avícola como vacina viva atenuada, com segurança comprovada.<sup>20,21</sup>

O estudo com a cepa LaSota mostrou uma correlação entre a regulação negativa da via do interferon (IFN) e a oncolise seletiva do NDV, demonstrando ser esse o mecanismo mais proeminente para a oncolise induzida pelo NDV no carcinoma mamário canino.<sup>24</sup>

Várias cepas de NDV diferem amplamente em seus efeitos biológicos, incluindo oncolise e, sem estudos específicos de uma determinada cepa de NDV, generalizações são inválidas e inaceitáveis.<sup>25</sup>

A cepa HK84 selvagem demonstrou um forte efeito oncolítico contra células do carcinoma hepatocelular em camundongo.<sup>26</sup>

A cepa AF2240 induziu a apoptose em células de carcinoma renal (RCC) por meio da sinalização de IFN- $\beta$ , visando células cancerígenas normóxicas e, particularmente, hipóxicas, que são refratárias à maioria dos regimes quimioterapêuticos.<sup>27</sup>

A cepa FMW exibe atividade oncolítica em células anaplásicas de câncer da tireoide de diversas origens, *in vitro* e *in vivo*.<sup>28</sup>

A cepa selvagem Altai/pigeon/770 demonstrou fortes efeitos oncolíticos em linhagens de células tumorais humanas de várias histogêneses.<sup>29</sup>

As diferenças entre os resultados podem ser dependentes da cepa e/ou da linha celular, e pode-se concluir que a apoptose induzida por NDV nessas linhagens celulares pode seguir mecanismos diferentes.<sup>30</sup>

As cepas líticas e não líticas podem atuar como poderosos agentes anticancerígenos. As propriedades oncolíticas podem aumentar pela adaptação das cepas e otimização dos procedimentos de passagens seriadas.<sup>31</sup>

Como um agente biológico, o NDV tem o potencial para quebrar a resistência à terapia, pois pode se replicar em células tumorais não proliferativas que são resistentes à quimioterapia e à radioterapia, e em células cancerígenas hipóxicas.<sup>21,32</sup>

## MECANISMOS DE ONCÓLISE DO NDV

A infecção das células hospedeiras pelo NDV depende de duas glicoproteínas inseridas na membrana lipídica viral, a hemaglutinina-neuraminidase (HN) e a proteína de fusão (F). Inicialmente, a infecção por NDV ocorre por ligação através da proteína HN à receptores contendo ácido siálico nas células-alvo. A natureza onipresente de receptores para NDV permite a utilização do vírus contra uma ampla variedade de cânceres.<sup>19,20,21,23,25,33,34</sup>

O NDV pode infectar células por fusão de membranas, introduzindo seu genoma diretamente no citoplasma da célula. Em células humanas não transformadas, como linfócitos, o NDV induz uma forte resposta de IFN-I que impede a replicação viral e leva à eliminação rápida do vírus. Defeitos no sistema de interferon, encontrados em algumas células tumorais, contribuem para a seletividade oncolítica do NDV.<sup>19, 20, 23,33,34</sup>

Várias proteínas intracelulares das células tumorais, incluindo proteínas antiapoptóticas (Livin) e proteínas oncogênicas (H-Ras), são relevantes para a atividade oncolítica do NDV.<sup>23</sup> Após a replicação e montagem do vírus, as partículas virais brotam através da membrana plasmática da célula infectada com a ajuda da proteína da matriz (M) e da proteína de fusão (F), facilitando a disseminação do vírus em tumores.<sup>19, 20, 21,34</sup>

As cepas de NDV podem replicar seletivamente em células tumorais, mas não em células normais.<sup>35</sup> Numerosos relatos mostram que o NDV não se replica em células não transformadas, como células fibroblásticas e linfócitos T em repouso. O NDV tem o potencial de infectar e de se replicar em células cancerígenas não proliferativas, como

células cancerígenas irradiadas, células-tronco cancerígenas ou células tumorais dormentes.<sup>19,20,21</sup>

Vários mecanismos da atividade oncolítica do NDV foram descritos: primeiro, o efeito citopático direto após infecção viral seletiva em células tumorais e, segundo, um efeito indireto por meio da resposta imune inata e adaptativa do hospedeiro.<sup>19,21</sup> Tanto as células naturais killer (NK) quanto os linfócitos T citotóxicos CD8+ direcionados contra antígenos virais em células tumorais infectadas participam da atividade oncolítica. As células NK são as principais mediadores da lise tumoral. Os antígenos virais são exibidos nas células tumorais infectadas em conjunto com os antígenos tumorais.<sup>19,20,21</sup> Além disso, a infecção por NDV resulta na regulação positiva do complexo de histocompatibilidade maior (MHC) para exibir os antígenos virais e tumorais ao sistema imunológico.<sup>19,33</sup>

A indução de citocinas antitumorais pelo NDV é capaz de recrutar ou ativar células envolvidas na imunovigilância, como células CD4+, células T citotóxicas CD8+ e células NK, inibindo a proliferação das células malignas (36-RIVERA et al, 2023). A infecção por NDV pode ativar células NK, monócitos, macrófagos, células dendríticas e promover o recrutamento de células imunes.<sup>7,18</sup>

O vírus pode desencadear a morte celular imunogênica (ICD), liberando antígenos associados ao tumor (TAAs), iniciando respostas imunes antitumorais, promovendo a infiltração de células imunes, melhorando o reconhecimento e a capacidade das células imunes, revertendo o microambiente imunossupressor.<sup>17,37</sup> O NDV ativa o micro-ambiente tumoral (TME) transformando-o de “frio”, não infiltrado por células imunes, em “quente”, infiltrado por células imunes.<sup>7,18, 38</sup>

A imunidade pré-existente ao NDV potencializa sua eficácia imunoterapêutica, ao invés de inibir. A eficácia da VTO é altamente dependente da indução de respostas imunes antitumorais duradouras.<sup>19,20,21</sup>

O NDV pode induzir apoptose por meio de mecanismos independentes de interferon, como a via intrínseca mitocondrial. Finalmente, a formação de sincícios por algumas cepas de NDV (denominadas “fusogênicas”) acabam se desintegrando por meio de necrose ou apoptose.<sup>20,21, 34</sup>

A aplicação intratumoral de NDV resulta no retardo do crescimento dos tumores injetados e também de tumores distantes, prolongando a sobrevida. A durabilidade dessas

respostas destacam ainda mais que os efeitos terapêuticos não dependem apenas da oncólise direta mas da indução de imunidade durável.<sup>20,21,23,33,34,39</sup>

As células mielóides infectadas atuam como vetores eficazes das partículas virais do NDV, inoculadas por via arterial, e mediam a transferência do vírus para células tumorais, resultando em morte celular.<sup>40</sup>

A administração de vacinas da cepa LaSota pelas vias intravenosa e intratumoral em cães com linfoma cutâneo resultou na diminuição no diâmetro das lesões.<sup>23</sup>

Um cão com melanoma na cavidade oral foi tratado com aplicações combinadas do NDV diretamente no tecido tumoral e intraperitonealmente, resultando na destruição total do melanoma, obtendo uma melhora significativa do período de sobrevivência.<sup>40</sup>

#### SEGURANÇA DO USO DO NDV

Os efeitos colaterais adversos em humanos, associados à infecção por NDV, geralmente são de gravidade leve a moderada. Cepas atenuadas de NDV têm sido aplicadas em milhares de pacientes humanos com câncer há mais de 58 anos, como agente único ou em combinação com outras terapias, sem causar nenhum efeito adverso grave.<sup>19,21,41</sup> O NDV oferece um perfil de segurança muito elevado em comparação com outros vírus oncolíticos.<sup>42</sup>

O uso de cepas mesogênicas e velogênicas (mais líticas) para terapia antitumoral tem sido limitado pelas agências reguladoras devido ao seu potencial patogênico em aves, mas nenhuma infecção foi relatada em mamíferos e nenhuma transmissão de humano para humano foi reportada. As cepas velogênicas deste vírus, de alta virulência, são consideradas zoonóticas, causando principalmente conjuntivite em humanos. As cepas atenuadas de NDV induzem resposta imune antitumoral sem causar reações adversas nos pacientes.<sup>19,20,33</sup>

O NDV é um vírus bastante seguro para o tratamento de humanos, seu genoma de RNA é estável e o vírus se replica no citoplasma das células tumorais, independente do DNA e da replicação da célula hospedeira. A imunidade pré-existente ao vírus em humanos é ausente e não há relato de toxicidade acumulada associada à repetição de vacinações com NDV.<sup>3,19,20,21</sup>

Embora a terapia com NDV cause efeitos colaterais leves, a qualidade de vida dos pacientes vacinados não é afetada de maneira negativa.<sup>3,21</sup>

## COMBINAÇÕES

A eficácia de monoterapias geralmente falha em atingir um resultado antitumoral ideal e a maioria dos estudos pré-clínicos observou melhores eficácias de OV's em abordagens combinadas.<sup>8,17,18, 42,43,44</sup> A natureza heterogênea do câncer realça a necessidade de abordagens combinadas para a erradicação do tumor.<sup>44</sup> OV's são candidatos muito atraentes para imunoterapias combinadas contra o câncer.<sup>18</sup>

O uso combinado de vacina de reovírus com vacina de NDV-Hitchner B1, resultou no aumento significativamente da oncólise em células de glioblastomas *in vivo* de xenoenxerto humano em camundongo, ocorrendo co-infecção quase completa de todas as células, e aumento de morte celular, sugerindo um efeito intracelular sinérgico entre esses vírus.<sup>45</sup>

Tanto o NDV quanto o adenovírus (AdV) têm atividade oncolítica e potencial como vacina vetorial para câncer. O desenvolvimento de uma combinação de viroterapia utilizando a atividade oncolítica do NDV e o vetor de vacina AdV para câncer poderá melhorar a eficácia da terapia contra o câncer.<sup>43</sup>

A combinação de NDV com sulfato de vanadil, inibidor da enzima tirosina fosfatase, potencializa uma resposta imune inata e promove a eliminação rápida dos tumores, com sinalização de INF-I e células NK sendo importantes mecanismos de ação.<sup>46</sup>

As monoterapias de OV's demonstraram eficácia clínica moderada em vários ensaios clínicos e, quando utilizadas com inibidores de checkpoint imunológico (ICI), aumentaram a resposta imunitária antitumoral. O desenvolvimento de terapias com ICI, que visam sinais imunossupressores e restauram a imunidade antitumoral, revolucionou o campo da imunoterapia nos últimos anos.<sup>47,48</sup> Combinações de OV's com ICI têm mostrado eficácia aditiva ou sinérgica em modelos tumorais pré-clínicos.<sup>18,49</sup>

VOs, células T, células dendríticas e anticorpos biespecíficos são produtos biológicos promissores cuja combinação inteligente é muito promissora para a terapia do câncer.<sup>50</sup>

A remoção cirúrgica de tumores muitas vezes não consegue erradicar a doença devido à recorrência do tumor original ou ao desenvolvimento de metástases. Assim, várias imunoterapias foram identificadas como potencialmente eficazes no cenário neoadjuvante. Uma dessas imunoterapias é a VTO.<sup>51</sup>

## VIAS DE APLICAÇÃO E DOSES

A injeção direta de vacina de vírus infecciosos livres ou a injeção de lisados de células tumorais em cultura infectadas por NDV (vacina autóloga) são as modalidades mais usadas na viroterapia oncolítica do NDV.<sup>21,33,34</sup>

Quando os pacientes são dessensibilizados com duas doses iniciais de  $12 \times 10^9$  pfu/m<sup>2</sup>, as doses subsequentes, de concentração dez vezes maiores, têm tolerabilidades e eficácias aumentadas. As principais vias de aplicações são: inalatória, intravenosa e intratumoral. Todas as vacinas do NDV foram bem toleradas em estudos de VTO em seres humanos.<sup>3,52</sup>

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso do NDV para melhorias na terapia do câncer baseado nas ideias de oncólise viral e respostas imunes pós-oncolíticas e no seu alto perfil de segurança o fizeram sobreviver por mais de cinco décadas.<sup>21,41,52</sup>

Apesar do NDV ter sido aplicado em milhares de pacientes humanos com câncer há mais de 58 anos, usando diferentes cepas, modalidades de tratamento e em tipos de cânceres, não houve eventos adversos graves. Pode-se, concluir que o NDV tem um perfil de segurança muito alto para aplicações clínicas.<sup>3,21,34,52</sup>

Devido às suas propriedades oncolíticas pluripotentes, o NDV tornou-se um agente de interesse da pesquisa mundial em VTO.<sup>21</sup>

O uso combinado do NDV com ICI tem obtido bons resultados em estudos clínicos de VTO, sendo muito promissor.<sup>7,18,20,34,48</sup>

O uso combinado do NDV com outros VOs deve ser avaliado em estudos clínicos de VTO em animais domésticos.<sup>45</sup>

Devido à prevalência crescente do câncer em populações humanas e animais em todo o mundo, as pesquisas oncológicas têm tido benefícios dos estudos translacionais aplicadas às oncologia humana e veterinária.<sup>53</sup>

Na medida que mais VOs entram em ensaios clínicos em humanos, mais VOs podem tornam-se disponíveis para uso em animais.<sup>5,10</sup>

Para a profissão veterinária é importante mover as ideias da pesquisa básica para a clínica devido ao enorme valor dos animais de companhia como modelos translacionais.<sup>54</sup>

Há esperanças de que, em breve, os VOs serão uma nova e poderosa opção de tratamento para pacientes veterinários com câncer.<sup>10</sup>

A VTO com NDV é uma opção muito interessante para os animais!

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Boddy AM et al. Comparative oncology: new insights into an ancient disease. *iScience*, 23, 101373, 2020. <https://www.cell.com/action/showPdf?pii=S2589-0042%2820%2930561-7>.
- 2- Hamede R et al. The ecology and evolution of wildlife cancers: applications for management and conservation. *Evolutionary Applications*, 13:1719–1732, 2020. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/eva.12948>.
- 3- Lam HY et al. Safety and clinical usage of Newcastle disease virus in cancer therapy. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, v. 2011. <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2011/718710/>.
- 4- Oh JH et al. Comparative oncology: overcoming human cancer through companion animal studies. *Experimental & Molecular Medicine*, 55:725 – 734, 2023. <https://www.nature.com/articles/s12276-023-00977-3>.
- 5- Cekanova M et al. Animal models and therapeutic molecular targets of cancer: utility and limitations. *Drug Design, Development and Therapy*, 8: 1911–1922, 2014. <https://www.dovepress.com/getfile.php?fileID=22022>.
- 6- Schirmacher V. From chemotherapy to biological therapy: a review of novel concepts to reduce the side effects of systemic cancer treatment (Review). *International Journal of Oncology*, 54: 407-419, 2018. <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/ijo.2018.4661>.
- 7- Meng Q et al. Advances in the study of antitumour immunotherapy for Newcastle Disease Virus. *International Journal of Medical Sciences*, 18(11): 2294-2302, 2021. <https://www.medsci.org/v18p2294.htm>.
- 8- Patil SS et al. Oncolytic virotherapy in veterinary medicine: current status and future prospects for canine patients. *Journal of Translational Medicine*, 10:3,

2012. <https://translational-medicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/1479-5876-10-3>.
- 9- Gentschev I et al. Oncolytic virotherapy of canine and feline cancer. *Viruses*, 6, 2122-2137, 2014. <https://www.mdpi.com/1999-4915/6/5/2122>.
- 10- Macneill AL. On the potential of oncolytic virotherapy for the treatment of canine cancers. *Oncolytic Virotherapy*, 4:95–107, 2015. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4918385/>.
- 11- Bilgiç B et al. Oncolytic virotherapy and the current approaches in veterinary medicine. *German Journal of Veterinary Research*, 2(2):17-27, 2022. <https://gmpe-akademie.de/articles/gjvr/single/68>.
- 12- Kwon JY et al. Canine as a comparative and translational model for human mammary tumor. *Journal Breast Cancer*, 26(1):1-13, 2023. <https://ejbc.kr/DOIx.php?id=10.4048/jbc.2023.26.e4>.
- 13- Sánchez D et al. Oncolytic viruses for canine cancer treatment. *Cancers*, 10, 404, 2018. <https://www.mdpi.com/2072-6694/10/11/404>.
- 14- Melcher A et al. Oncolytic virotherapy as immunotherapy. *Science*, 374, 1325-1326, 2021. <https://www.science.org/doi/10.1126/science.abk3436>.
- 15- Rodrigues L et al. Shared hotspot mutations in oncogenes position dogs as an unparalleled comparative model for precision therapeutics. *Nature Scientific Reports*, 13:10935, 2023. <https://www.nature.com/articles/s41598-023-37505-2>.
- 16- Paoloni M, Khanna C. Translation of new cancer treatments from pet dogs to humans. *Nature Reviews*, 8, 147-156, 2008. <https://www.nature.com/articles/nrc2273>.
- 17- Lin D et al. Oncolytic virotherapy: basic principles, recent advances and future directions. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 8:156, 2023. <https://www.nature.com/articles/s41392-023-01407-6>.
- 18- Russell L et al. Oncolytic viruses: priming time for cancer immunotherapy. *BioDrugs* 33:485–501, 2019. <https://link.springer.com/article/10.1007/s40259-019-00367-0>.
- 19- Zamarin D, Palese P. Oncolytic Newcastle disease virus for cancer therapy: old challenges and new directions. *Future Microbiology*, 7(3): 347–367, 2012. <https://www.futuremedicine.com/doi/10.2217/fmb.12.4>.

- 20- Burman B et al. Newcastle disease virus at the forefront of cancer immunotherapy. *Cancers*, 12, 3552, 2020. <https://www.mdpi.com/2072-6694/12/12/3552>.
- 21- Schirmacher V. Molecular mechanisms of anti-neoplastic and immune stimulatory properties of oncolytic Newcastle disease virus. *Biomedicines*, 10, 562, 2022. <https://www.mdpi.com/2227-9059/10/3/562>.
- 22- Ross CS et al. JMM Profile: Avian paramyxovirus type-1 and Newcastle disease: a highly infectious vaccine-preventable viral disease of poultry with low zoonotic potential. *Journal of Medical Microbiology*, 71:001489, 2022. <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/jmm.0.001489>.
- 23- Sánchez D et al. Newcastle disease virus: potential therapeutic application for human and canine lymphoma. *Viruses*, 8:3 2016. <https://www.mdpi.com/1999-4915/8/1/3>.
- 24- Santos MR et al. Oncolytic effect of Newcastle disease virus is attributed to interferon regulation in canine mammary cancer cell lines. *Veterinary and Comparative Oncology*, 19:593–601, 2021. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/vco.12699>.
- 25- Sinkovics JG, Horvath JC. Newcastle disease virus (NDV): brief history of its oncolytic strains. *Journal of Clinical Virology*, 16, 1–15, 2000. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1386653299000724?via%3Dihub>.
- 26- Chen L et al. Oncolytic activity of wild-type Newcastle disease virus HK84 against hepatocellular carcinoma associated with activation of type I interferon signaling. *Journal of Clinical and Translational Hepatology*, 10(2):284–296, 2022. <https://www.xiahepublishing.com/2310-8819/JCTH-2021-00284>.
- 27- Ch'ng WC et al. The oncolytic activity of Newcastle disease virus in clear cell renal carcinoma cells in normoxic and hypoxic conditions: the interplay between von Hippel-Lindau and interferon- $\beta$  signaling. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, 33(7), 2013. <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/jir.2012.0095>.
- 28- Jiang K et al. Recombinant oncolytic Newcastle disease virus displays antitumor activities in anaplastic thyroid cancer cells. *BMC Cancer*, 18:746, 2018. <https://bmccancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12885-018-4522-3>.

- 29- Yurchenko KS et al. Oncolytic effect of wild-type Newcastle disease virus isolates in cancer cell lines in vitro and in vivo on xenograft model. *PLoS ONE*, 13(4), e0195425, 2018. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0195425>.
- 30- Assayaghi RM et al. Apoptosis induction of Newcastle disease virus strains (AF 2240 & V4-UPM) on HT-29 human colorectal adenocarcinoma cells. *Journal of Cancer Research and Therapeutic Oncology*, 4:101, 2016. [https://www.jscholaronline.org/full-text/JCRTO/5\\_101/Apoptosis-Induction-of-Newcastle-Disease-Virus-Strains.php](https://www.jscholaronline.org/full-text/JCRTO/5_101/Apoptosis-Induction-of-Newcastle-Disease-Virus-Strains.php).
- 31- Yurchenko KS et al. Adaptation of the Newcastle disease virus to cell cultures for enhancing its oncolytic properties. *Acta Naturae*, 11(40), 2019. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6475870/>.
- 32- Khansari N, Bonab SF. Virotherapy with Newcastle disease virus for cancer treatment and its efficacy in clinical trials. *Journal of Immunology Research*, 5(6):119–122, 2017. <https://medcraveonline.com/MOJI/MOJI-05-00176.pdf>.
- 33- Plitt T, Zamarin D. Cancer therapy with Newcastle disease virus: rationale for new immunotherapeutic combinations. *Journal of Clinical Investigation*, 5(1), 75–87, 2015. <https://www.openaccessjournals.com/articles/cancer-therapy-with-newcastle-disease-virus-rationale-for-new-immunotherapeutic-combinations.pdf>.
- 34- Tayeb S et al. Therapeutic potential of oncolytic Newcastle disease virus: a critical review. *Oncolytic Virotherapy*, 4:2015. <https://www.dovepress.com/therapeutic-potential-of-oncolytic-newcastle-disease-virus-a-critical-peer-reviewed-fulltext-article-OV>.
- 35- Fiola C et al. Tumor selective replication of Newcastle disease virus: association with defects of tumor cells in antiviral defence. *International Journal of Cancer*, 119, 328–338, 2006. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ijc.21821>.
- 36- Rivera OAO et al. Inhibition of tumor growth and metastasis by Newcastle disease virus strain P05 in a breast cancer mouse model. *Journal Breast Cancer*, 26(2):186-200, 2023. <https://ejbc.kr/DOIx.php?id=10.4048/jbc.2023.26.e9>.
- 37- Ye T et al. Oncolytic Newcastle disease virus induces autophagy-dependent immunogenic cell death in lung cancer cells. *American Journal Cancer Research*,

- 8(8):1514-1527, 2018.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6129498/>.
- 38- Cuoco JA et al. The oncolytic Newcastle disease virus as an effective immunotherapeutic strategy against glioblastoma. *Neurosurgical Focus*, v. 50, 2021. <https://thejns.org/focus/view/journals/neurosurg-focus/50/2/article-pE8.xml>.
- 39- Burke S et al. Oncolytic Newcastle disease virus activation of the innate immune response and priming of antitumor adaptive responses in vitro. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 69:1015–1027, 2020. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00262-020-02495-x>.
- 40- Ivanković S et al. Oncolytic activity of Newcastle disease virus strain ZG1999HDS on oral malignant melanoma in dog: a case report. *Veterinaria*, 71(2), 243-254, 2022. <https://journal.veterinaria-sarajevo.com/vfs/index.php/journal/article/view/380>.
- 41- Cassel WA, Garrett RE. Newcastle disease virus as an antineoplastic agent. *Cancer* v. 18, 1965. [https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1097-0142\(196507\)18:7%3C863::AID-CNCR2820180714%3E3.0.CO;2-V](https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1097-0142(196507)18:7%3C863::AID-CNCR2820180714%3E3.0.CO;2-V).
- 42- Pathak U et al. The viral knock: ameliorating cancer treatment with oncolytic Newcastle disease virus. *Life*, 13, 1626, 2023. <https://doi.org/10.3390/life13081626>. <https://www.mdpi.com/2075-1729/13/8/1626>.
- 43- Siswanto FM, Arunngam P. Combination of oncolytic Newcastle disease virus (Ndv) and vaccine vector adenovirus (Adv) as a potential virotherapy for cancer: a systematic review. *Anatomy Physiology & Biochemistry International Journal*, 4(5): 555649, 2018. <https://juniperpublishers.com/apbij/pdf/APBIJ.MS.ID.555649.pdf>.
- 44- Achard C et al. Lighting a fire in the tumor microenvironment using oncolytic immunotherapy. *Life*, 13, 1626, 2023. [https://www.thelancet.com/journals/ebiom/article/PIIS2352-3964\(18\)30148-8/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/ebiom/article/PIIS2352-3964(18)30148-8/fulltext).
- 45- Alkassar M et al. The combined effects of oncolytic reovirus plus Newcastle disease virus and reovirus plus parvovirus on U87 and U373 cells *in vitro* and *in*

- vivo. *Journal of Neuro-Oncology*, 104(3):715–727, 2011. <https://link.springer.com/article/10.1007/s11060-011-0606-5>.
- 46- Mcausland TM et al. Combining vanadyl sulfate with Newcastle disease virus potentiates rapid innate immune-mediated regression with curative potential in murine cancer models. *Molecular Therapy: Oncolytics*, 20, 2021.
- 47- Zhang Y et al. Oncolytic virotherapy reverses the immunosuppressive tumor microenvironment and its potential in combination with immunotherapy. *Cancer Cell International*, 21:262, 2021. <https://cancerci.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12935-021-01972-2>.
- 48- Lovatt C, Parker AL. Oncolytic viruses and immune checkpoint inhibitors: the “hot” new power couple. *Cancers*, 15, 4178, 2023. <https://www.mdpi.com/2072-6694/15/16/4178>.
- 49- Vijayakumar G et al. Engineering Newcastle disease virus as an oncolytic vector for intratumoral delivery of immune checkpoint inhibitors and immunocytokines. *Journal of Virology*, 94:e01677-19. <https://journals.asm.org/doi/10.1128/jvi.01677-19>.
- 50- Schirmmacher V, Fournier P. Multimodal cancer therapy involving oncolytic Newcastle disease virus, autologous immune cells, and bi-specific. *Frontiers in Oncology*, 4, 224, 2014. <https://www.frontiersin.org/journals/oncology/articles/10.3389/fonc.2014.00224/full>.
- 51- Thomas RJ, Bartee E. The use of oncolytic virotherapy in the neoadjuvant setting. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, 10:e004462. <https://jitc.bmj.com/content/10/4/e004462>.
- 52- Schirmmacher V. Fifty years of clinical application of Newcastle disease virus: time to celebrate! *Biomedicines*, 4:16, 2016. <https://www.mdpi.com/2227-9059/4/3/16>.
- 53- Queiroga F, Cogliati B. Translational and comparative research on innovative anti-cancer therapies. *Cancers*, 15, 1335, 2023. <https://www.mdpi.com/2072-6694/15/4/1335>.
- 54- Biller BJ. Cancer immunotherapy for the veterinary patient. *Veterinary Clinics Small Animal*, 37:1137–1149, 2007.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0195561607000903?via%3Dihub>.

\*\*\*