

Izmēģinājuma projekta netehnisks kopsavilkums

Dabīgo galētājšūnu aktivitātes izpēte onkolītisko masalu vīrusu terapijā

Vēža imūnterapija pēdējā desmitgadē ir kļuvusi par klīniski nozīmīgu terapijas veidu vēža pacientiem. Onkolītiskā viroterapija ir vēža imūnterapijas veids, kas šobrīd tiek aktīvi pētīts, kā arī ienāk klīniskajā praksē. Onkolītiskajā viroterapijā tiek izmantoti onkolītiskie vīrusi (OV), proti, vīrusi, kas spēj specifiski inficēt un iznīcināt vēža šūnas. OV priekšrocība ir to daudzveidīgie darbības mehānismi, kas ietver gan tiešu audzēja šūnu iznīcināšanu, gan audzēja asinsapgādes iznīcināšanu, gan pretvēža imūnās atbildes stimulāciju. Tieši pretvēža imūnās atbildes stimulācija tiek uzskatīta par vienu no vissvarīgākajiem OV darbības mehānismiem. Vieni no daudzsoļiem OV, kuriem jau ir uzsākti agrīnu fāžu klīniskie pētījumi, ir onkolītiskie masalu vīrusi (oMV). Uz oMV balstītajās terapiju stratēģijās tiek izmantoti novājināti masalu vakcīnu vīrusi, kas nespēj izraisīt saslimšanu ar masalām, toties spēj specifiski inficēt dažādu tipu audzēju šūnas. Gan pirmsklīniskajos, gan klīniskajos pētījumos ir parādīta oMV spēja stimulēt pretvēža imūno atbildi, kas ir nozīmīga oMV terapijas efektivitātē. Pretvēža imūnās atbildes ierosināšanas mehānismi OV un konkrēti arī oMV terapijā ir ļoti sarežģīti un līdz šim nepilnīgi izpētīti. Īpaši maz informācijas oMV terapijas kontekstā ir par iedzimtās imūnatbildes reakcijās iesaistīto dabīgo galētājšūnu (NK šūnu) nozīmi. NK šūnu fizioloģiskā loma ir atpazīt un iznīcināt gan ļaundabīgas, gan vīrusu inficētas šūnas. Nozīmīgs faktors, kas nosaka NK šūnu aktivitāti ir galvenais audu saderības komplekss (MHC-I).

Izmēģinājuma projekta mērķis ir noskaidrot NK šūnu fenotipisko un funkcionālo īpašību izmaiņas oMV terapijas laikā, kā arī NK šūnu aktivitātes lomu oMV terapijas efektivitātē atkarībā no audzēja MHC-I statusa. Izmēģinājuma projektā tiks izmantotas līdz 248 C57BL/6 peļu mātītes (6 - 8 nedēļas vecas). Dzīvniekiem tiks subkutāni implantētas audzēja šūnas, uz kuru virsmas atrodas MHC-I komplekss (MHC-I pozitīvi audzēji), vai audzēja šūnas, uz kuru virsmas MHC-I komplekss nav atrodams (MHC-I negatīvi audzēji). Pēc subkutāno audzēju izveidošanās dzīvnieki saņems intratumorālas injekcijas ar oMV saturošu šķīdumu vai vīrusa nesējšķīdumu. Kopā tiks veikti četri dažādi pamateksperimenti. Divos no šiem eksperimentiem dzīvniekiem vienu dienu pēc pēdējās intratumorālās terapijas devas tiks veikta eitanāzija un izņemti audzēji, liesa un audzējus drenējošie limfmezgli, lai veiktu NK šūnu fenotipisko un funkcionālo analīzi šajos audos. Divos atlikušajos eksperimentos dzīvnieki papildu intratumorālajai terapijai saņems intraperitoneālas injekcijas ar neitrālu buferšķīdumu vai arī antivielas, kas ļaus atbrīvoties no NK šūnām dzīvnieka organismā. Šajos eksperimentos tiks mērīta audzēja augšana, lai salīdzinātu oMV terapijas efektivitāti MHC-I negatīvos vai MHC-I pozitīvos audzējos atkarībā no NK šūnu klātbūtnes organismā.

Veicot sistemātisku zinātniskās literatūras meklēšanu *PubMed* un *Web of Science* datubāzēs, netika atrasti pētījumi, kas līdz šim būtu specifiski koncentrējušies uz dabīgo galētājšūnu nozīmi oMV terapijā. Līdz ar to projekta gaitā veikto eksperimentu rezultāti sniegs jaunu informāciju par NK šūnu funkcionalitāti un nozīmi oMV terapijas efektivitātē. Iegūtie rezultāti tiks izmantoti, lai izstrādātu jaunas kombināciju terapiju stratēģijas NK šūnu aktivitātes modulēšanai oMV terapijas laikā, lai sasniegtu paaugstinātu oMV terapijas efektivitāti, kas ļautu uzlabot vēža pacientu terapijas iespējas. Tāpat projekta ietvaros paredzēts izveidot arī jaunu imūnkompetentu audzēja modeli C57BL/6 pelēs, kas nākotnē varēs tikt izmantots gan oMV terapijas pētījumos, gan citos vēža izpētes projektos. Projekta mērķa sasniegšanai būtiski ir veikt pētījumus audzēja imūnās vides kontekstā un ar funkcionējošu imūno sistēmu. Veicot alternatīvo metožu meklēšanu EURL ECVAM datubāzē, konstatēts, ka šobrīd nav pieejamas alternatīvas metodes, kas ļautu modelēt

imūnās sistēmas darbību un aizstāt dzīvnieku izmantošanu šajā izmēģinājuma projektā, tādēļ ir nepieciešams veikt dzīvnieku eksperimentus. Projekta eksperimenti tiks veikti izmantojot subkutāni transplantējamus audzēju modeļus imūnkompetentajās C57BL/6 pelēs. C57BL/6 pelēs transplantējamie audzēju modeļi līdz šim ir tikuši izmantoti kā standarts oMV imūnterapeitisko īpašību izpētei, kas ļauj izmantot līdz šim pieejamo informāciju eksperimentu plānošanas gaitā, kā arī ļaus salīdzināt projektā iegūtos datus ar līdz šim publicēto informāciju. Projektā iekļautās procedūras ir plānotas tā, lai nodrošinātu minimālu nelabvēlīgo ietekmi uz eksperimenta dzīvniekiem. Izmēģinājuma dzīvnieku veselības stāvokļa kontrole tiks nodrošināta katru dienu un nepieciešamības gadījumā dzīvnieku veselības stāvokļa uzlabošanai un dzīvnieku ciešanu novēršanai tiks piesaistīta sertificēta veterinārārste. Eksperimenta dzīvnieku turēšanas apstākļu uzlabošanai dzīvnieku krātiņos tiks nodrošinātas vidi bagātināšanas skaidas mīgu veidošanai, kā arī kartona tuneļi. Lai nodrošinātu, ka eksperimentos tiek izmantots mazākais iespējamais dzīvnieku skaits, ir veikta statistiskā plānošana, balstoties uz pieejamiem datiem par oMV terapijas efektivitāti peļu audzēju modeļos. Tāpat tiks veikts piloteksperiments, lai iegūtu datus, kas ļaus precizēt eksperimentos nepieciešamo dzīvnieku skaitu. Visbeidzot, iegūtie rezultāti tiks prezentēti zinātniskās konferencēs un atspoguļoti zinātniskajās publikācijās, lai informētu par projekta iznākumu plašu zinātniskās sabiedrības loku un novērstu nepamatotu procedūru atkārtotību nākotnē.