

PIKTYBINIŲ NAVIKŲ INDIVIDUALIZUOTO GYDYMO TECHNOLOGIJŲ PLĖTRA

1. Programos vykdytojas – Nacionalinis vėžio institutas

Norminiai etatai skirti programai – 6,22

2. Programos tikslas – priešvėžinės terapijos individualizavimo strategijų kūrimas, diegiant naujos kartos predikcinius žymenis ir kuriant inovatyvias gydymo technologijas. Šios programos kontekste bus kuriami ir tiriama nauji imunoterapiniai vaistiniai preparatai individualizuotam pacientų gydymui. Individualizuoto gydymo efektyvumui vertinti ir gydomų pacientų būklės monitoringui bus kuriami molekuliniai predikcinių ir prognozės žymenų algoritmai.

3. Programos uždavinys:

Pažangių terapijos metodų bei atsako monitoravimo metodų kūrimas ir panaudojimas onkologinių pacientų gydymo individualizavimui.

4. Metodologinis tyrimų pagrindimas:

Imuninė sistema aktyviai dalyvauja navikų vystymosi ir progresavimo mechanizmuose, todėl imuninio atsako monitoravimas ir prognostinių imuninių žymenų nustatymas atveria didesnes galimybes šalia standartinio gydymo taikyti pacientams inovatyvias imunoterapines bei bioterapijos technologijas. Uždavinio įgyvendinimui eksperimentiniuose pelių modeliuose imunoterapinių preparatų efektyvumas vertinamas pagal implantuoto naviko dinamiką, metastazavimo apimtį ir greitį, gyvūnų bendrą išgyvenimą. Priešvėžinio imuninio atsako pobūdis ir intensyvumas tiek eksperimentiniuose modeliuose, tiek klinikiuose pavyzdžiuose vertinami pagal kraujo limfocitų populiacijų profilių Th1/Th2/Treg pokyčius, išskiriamų citokinų profilių ir kiekių, naviko imuninės infiltracijos pobūdį. Šie tyrimai atliekami tėkmės citometru LSR II (ląstelių imunotipavimo ir CBA metodai). Specifinio priešnavikinio atsako (citotoksinių limfocitų išskiriamo IFN γ intensyvumas) vertinamas ELISPOT arba ELISA metodais. Naviką infiltruojančių imuninių ląstelių fenotipas bus vertinami imunohistochemijos metodais, o limfocitų imuninio atsako patikros žymenų raiška - PGR metodu.

Ligos eigos stebėjimui po chirurginio naviko pašalinimo ir neoadjuvantinės chemoterapijos/spindulinės terapijos pasaulyje vis plačiau diegiami neinvaziniai monitoravimo metodai – pažangios vaizdinimo sistemos bei molekuliniai žymenų rinkiniai. Naujos kartos genetiniai tyrimų metodai leidžia aptikti minimalios liekamosios ligos (MLL) požymius (cirkuliuojančias vėžio ląsteles, pakitusią vėžio DNR, RNR ar miRNR) organizmo skysčiuose, atliekant vadinamąją skystąją biopsiją (Kim 2014). Mažosios nekoduojančios RNR (miRNR) reguliuoja genų raišką, dalyvauja onkogenozės procese (Iorio, Croce 2012). Tyrimų rezultatai rodo, kad didelė miR-200c raiška kraujyje yra susijusi su trumpesniu pacienčių, sergančių krūties vėžiu, laikotarpiu iki ligos atsinaujinimo (Antolín ir kt. 2015). Kitų tyrimų rezultatai rodo, kad didelė onkogeninės miR-27a raiška yra susijusi su trumpesniu sergančiųjų krūties vėžiu bendru išgyvenamumu (Tang et al., 2012). Įgyvendindami šio uždavinio priemones vertinsime onkologinių pacientų kraujyje cirkuliuojančių miRNR, dalyvaujančių naviko angiogenezės, imuninės sistemos ląstelių migracijos į naviką bei vėžinių ir stromos ląstelių sąveikų reguliavime (Nicoloso ir kt. 2009, Li ir kt. 2013, Zhang ir kt. 2014), sąsajas su ligos atsinaujinimu, metastazių formavimusi, kad būtų galima sukurti MLL statuso vertinimo sistemas ir individualizuoti gydymą, naudojant šias sistemas.

Priešvėžinės terapijos individualizavimui taip pat svarbi ir dažniausiai priešvėžinėje terapijoje naudojamų gydymo technologijų (chemoterapijos, spindulinės terapijos), kurios taikomos tiek nustačius ligos atsinaujinimą po MLL etapo, tiek diagnozavus ligą jau vėlesnėse stadijose, plėtra. Vykdam šios krypties tyrimus bus kuriamos, tobulinamos ir diegiamos naujos onkologinių pacientų gydymo technologijos (taikinių terapija, imunoterapija, hipofrakcionuota spindulinė terapija, brachiterapija), planuojama nustatyti standartinių gydymo metodų (chemoterapijos, spindulinės

terapijos) veiksmingumo didinimui svarbių vėžinių ląstelių, organizmo apsauginių sistemų reakcijos žymenų bei vaizdinimo algoritmus. Tyrimuose planuojama naudoti visuminius tyrimų metodus – visuminę transkriptomine analizę DNR mikrogardelėmis, miRNR raiškos tyrimus visumine naujos kartos sekoskaita – analizuojant molekulinis procesus tiek tyrimų modeliuose tiek biologiniuose pacientų ėminiuose.

Dauguma naujos kartos vakcinų ir vaistų įvairių lokalizacijų navikams gydyti buvo atrasta naudojant onkologinių pacientų surinktus ir biobankuose saugomus biologinius ėminius. Todėl pastaraisiais metais ypatingas dėmesys skiriamas biobankų plėtrai, kuriuose būtų sukaupti dideliai kiekiai biologinių ėminių ir susijusios medicininės informacijos apie ligos diagnozę, gydymą, eigą ir išeitį. Naudojant NVI Biobanke sukauptus biologinius pacientų ėminius bei ligos stebėsenos rezultatus bus ieškoma naujų terapinių taikinių vėžio gydymui, kuriamos priešvėžinės vakcinos bei rengiamos ląstelių ir audinių regeneracinių technologijų diegimo į kliniką rekomendacijos.

5. Tyrimų etapai ir jų charakteristikos:

Uždavinio įgyvendinimui bus taikomos šios priemonės:

1 priemonė: Naujų imunologinių priešvėžinių preparatų ir atsako į juos monitoravimo sistemų kūrimas ir ikiklinikiniai tyrimai.

Naudojant generatyvinius žinduolių (avies) audinius ir eksperimentinį pelės modelį bus kuriamos priešvėžinės vakcinos melanomai ir plaučių karcinomai gydyti. Šios priemonės įgyvendinimui bus naudojami pelės C57 black ir B16 melanomos bei LLC plaučių karcinomos ląstelių linijų navikų modeliai. Bus tiriama vakcinos priešmetastatinis aktyvumas, poveikis išgyvenimui bei imuninio atsako moduliavimui (bus vertinami imuninio atsako Th1/ Th2/ Treg profilių skirtumai limfocitų populiacijų bei išskiriamų citokinų lygmenyje). Kuriant prognostinių žymenų sistemas imunoterapijos efektyvumo vertinimui, bus vertinami imuninių žymenų skirtumai kiaušidžių vėžiu sergančių pacientų navikuose ir kraujyje. Bus palyginti limfocitų populiacijų, išskiriamų citokinų ir infiltratų į navikinį audinių profiliai autologinėmis dendritinių ląstelių vakcinomis gydytoms pacientėms, kurioms šis gydymas bus skirtas šalia standartinės chemoterapijos (lyginant su pacientėmis, gydytomis tik standartinė chemoterapija). Krūties vėžiu sergančių pacientų navikuose bus vertinama naviką infiltruojančių citotoksinių limfocitų imuninio atsako patikros žymenų (PD1, PDL1, TIM3) raiška, tiriami imuninio atsako rodikliai (TNF- α , IL-10, VEGF, MMP...) sergančiųjų kraujyje. Taip pat bus atlikta nesmulkiąstelinio plaučių vėžio imuninės mikroaplinkos analizė bei įvertinta jos prognostinė ir predikcinė vertė.

2 priemonė: Priešvėžinės terapijos veiksmingumo ir šalutinio poveikio vertinimas.

Įgyvendinant šią priemonę, bus vertinama molekulinų žymenų (genų CDK1, RAD51, THBS1, PCNA, IL29, IFITM1, IFIT1, OAS2), kurių raiška kito žmogaus gaubtinės žarnos karcinomos DLD1 ir HT29 linijų ląstelėse dėl poveikio frakcionuotos dozės jonizuojančiąja spinduliuote, raiška tiesiosios žarnos pacientų navikuose iki ir po spindulinės terapijos 5x5 Gy kurso, bus vertinama molekulinų žymenų sąsaja su ligos klinikinės eigos rodikliais. Bus palygintas vidutinės rizikos prostatos vėžiu sergančių pacientų aukštos galios brachiterapijos ir suderinto spindulinio gydymo efektyvumas ir saugumas. Gydymo efektyvumas bus monitoruojamas pasitelkus prostatos vėžiui specifinį PSMA žymenį. Taip pat bus vertinami esamų kastracijai atsparaus prostatos vėžio (KAPV) gydymo priemonių (taksanai, taikininiai AR-blokatoriai, Ra-223) veiksmingumas, kuriamos klinikinių ir molekulinų žymenų (miRNR, metilintos DNR, mutacijų tyrimai) sistemos individualiam tinkamiausių gydymo schemų parinkimui. Gaubtinės žarnos karcinomos DLD1 ir HT29 linijų monosluoksnio ar erdvinėje ląstelių kultūrose atliksime visuminę miRNR raiškos analizę. Atrinktas miRNR tirsime storosios žarnos karcinomos pacientų kraujyje iki ir po naviko chirurginio pašalinimo bei paciento stebėjimo laikotarpiu. Bus įvertinta miRNR svarba metastazavimo procesui, tiriant pelės Lewis plaučių karcinomos LLC1 linijos ląsteles, auginamas monosluoksnio ar erdvinėje ląstelių kultūroje. Šiame tyrime bus naudojami CRISPR/Cas genomo redagavimo įrankiai bei vėžinių ląstelių metastazavimo gebėjimo vertinimas singeniniame eksperimentinio gyvūno modelyje *in vivo*. Nustatytų metastazavimui svarbių miRNR analogų žmogaus genome parinkimui bus panaudoti bioinformatinės analizės metodai ir tokiu būdu bus

Kitos lėšos planuojamos programai	24,1	24,1	24,1	24,1	24,1	120,5
Iš viso:	83,8	83,8	83,8	83,8	83,8	419,0

6. Numatomi rezultatai:

Įgyvendinant šią programą per 5 metus bus parengta bent 10 publikacijų ISI WOS sąrašo leidiniuose ir kituose periodiniuose recenzuojamuose mokslo leidiniuose. Taip pat planuojama parengti bent 2 rekomendacijas priešvėžinės terapijos individualizavimo plėtrai. Planuojama pateikti bent 3 paraiškas mokslo projektų finansavimui, apginti bent 3 daktaro disertacijas, parengti 5 baigiamuosius studentų darbus. Taip pat, bus vykdomos bent 2 rezidentūros studijos, bent 3 medicinos studijų studentų vasaros praktikos, 3 studentų integruotos internatūros praktikos.

7. Rezultatų sklaidos priemonės:

Įgyvendinant programą per 5 metus bus parengta bent 5 pranešimai nacionalinėse ir tarptautinėse mokslo konferencijose, 5 mokslo populiarinimo straipsniai, informacinių pranešimai Nacionalinio vėžio instituto interneto svetainėje. Bus organizuojamos bent 2 tarptautinės mokslinės-praktinės konferencijos ar mokslinių-praktinių seminarų ciklai sveikatos priežiūros specialistų ir mokslo darbuotojų kvalifikacijos tobulinimui. Rezultatai kasmet bus skelbiami tarptautinėse onkologų, molekulinės biologijos, biobankų veiklos ir kitose susijusiose mokslinėse praktinėse konferencijose.

8. Preliminarus programos lėšų paskirstymas (tūkst. Eur.):

Eil. Nr.	Išlaidų pavadinimas	2017 m.	2018 m.	2019 m.	2020 m.	2021 m.	Visai programai (suma)
1.	Programai skirti norminiai etatai, lėšos	6,22/59,7	6,22/59,7	6,22/59,7	6,22/59,7	6,22/59,7	298,5
2.	Kitos lėšos planuojamos programai vykdyti (iš kitų, Institutui skirtų Valstybės biudžeto bazinio finansavimo lėšų)	24,1	24,1	24,1	24,1	24,1	120,5
	Iš viso:	83,8	83,8	83,8	83,8	83,8	419,0

9. Programos trukmė: 2017-2021 metai**10. Programos vadovai:**

Prof. dr. (HP) Kęstutis Sužiedėlis, Molekulinės onkologijos laboratorijos vedėjas, vyriausias mokslo darbuotojas, tel.: (8 5) 2190904, el.p.: kestutis.suziedelis@nvi.lt

Prof. dr. (HP) Saulius Cicėnas, Krūtinės chirurgijos ir onkologijos skyriaus vedėjas, vyresnysis mokslo darbuotojas, tel.: (8 5) 2786748, el.p.: saulius.cicenas@nvi.lt

Dr. Ernestas Janulionis, Instituto administracijos mokslinis sekretorius, Brachiterapijos grupės vadovas, tel.: (8 5) 2786781, el.p. ernestas.janulionis@nvi.lt