**Izmēģinājumu projekta „Ogļskābes anhidrāzes IX izslēgšanas ietekme uz imūnšūnu infiltrāciju audzējā un krūts vēža progresiju ar un bez interleikīna-12 stimulācijas” netehnisks kopsavilkums**

Efektīvāku un mazāk toksisku pret-vēža terapijas līdzekļu radīšana ir galvenais veids, kā ilgtermiņā samazināt mirstību un uzlabot vēža pacientu ārstēšanas efektivitāti un dzīves kvalitāti. Līdz ar tādu zāļu kā *ipilimumab*, *pembrolizumab* un *nivolumab* ienākšanu ikdienas klīniskajā praksē, imunoterapija ir kļuvusi par vienu no pamata ārstēšanas metodēm un ir būtiski uzlabojusi tādu agresīvu audzēju kā metastātiska melanoma, plaušu un nieru vēža ārstēšanas efektivitāti. Imunoterapija ir ievērojami mazāk toksiska kā ķīmijterapija vai radioterapija, turklāt tā spēj inducēt imūnās atmiņas veidošanos, kas novērš audzēju recidīvu rašanos. Pašlaik visā pasaulē tiek pētītas dažādas imūnterapijas pieejas un līdzšinējie rezultāti liecina, ka stratēģijas, kas vērstas uz imūnsupresijas mazināšanu individuāli vai kombinācijā ar imūnšūnu stimulēšanu ar dažādu vakcīnu palīdzību, uzrāda visaugstāko efektivitāti.

Ogļskābes anhidrāze IX (CAIX) ir šūnas membrānā integrēts enzīms, kas katalizē oglekļa dioksīda hidratācijas reakciju. Tas palīdz uzturēt neitrālu intracelulāro pH, taču pazemina pH ārpusšūnas vidē. Tas ir ekspresēts tikai dažos normālos cilvēka audos, bet ievērojami pārproducēts dažādos audzējos, ieskaitot krūts vēzi. Tā ekspresiju inducē hipoksija un ir virkne pierādījumu, ka tas palīdz vēža šūnām adaptēties hipoksiskiem apstākļiem, kā arī veicina vēža šūnu migrāciju, invazivitāti un metastāžu veidošanos. Mūsu iepriekš veiktais *in silico* pētījums parādīja, ka visaugstākā CAIX ekspresija un visspēcīgākā asociācija augstai CAIX ekspresijai ar pacientu dzīvildzi ir tieši trīskārt negatīvā krūts vēža (TNBC) gadījumos, savukārt *ex vivo* pētījumā uz cilvēka audzēja griezumiem esam parādījuši, ka TNBC audzēju audu rajonos ar augstu CAIX ekspresiju iespējams ir imūnsupresīva vide, kas kavē pretvēža imūno atbildi. Mēs izvirzījām hipotēzi, ka augsta CAIX ekspresija audzējā, kas saistīta ar ekstracelulāro acidozi, ietekmē imūnšūnu infiltrāciju un/vai funkcionālo aktivitāti audzējā. Tādējādi, CAIX inhibīcija varētu mazināt imunosupresiju audzēja mikrovidē, un kombinējot ar imuno-stimulējošu terapiju, paaugstināt terapijas efektivitāti. Šī projekta mērķis ir noskaidrot kā CAIX ģenētiska izslēgšana ietekmē dažādu imūnšūnu infiltrāciju audzējā un audzēja progresiju, atsevišķi vai kombinācijā ar interleikīna 12 (IL-12) stimulāciju.

Izmēģinājuma projekta ietvaros paredzēts izveidot ortotopisku krūts vēža modeli BALB/c pelēs, izmantojot peļu 4T1 krūts vēža šūnas, kurās ar ģenētiskas modifikācijas palīdzību ir izslēgta viena vai abas *Car9* (cilvēka *CA9* ortologais gēns) alēles. Tiks izveidotas 9 eksperimentālo dzīvnieku grupas ar 7 dzīvniekiem katrā grupā. Pirmo trīs grupu dzīvniekiem piena dziedzera taukaudu slānī tiks injicētas 4T1-Car9+/-, 4T1-Car9-/- vai 4T1-scramble (kontroles) šūnas un eksperimenta laikā tiks mērīta audzēja augšana. Pēc eitanāzijas, tiks noteikts plaušu metastāžu skaits un analizēta imūnšūnu infiltrācija audzējā un funkcionālais fenotips. Savukārt 4.-9. grupas dzīvnieki kalpos, lai iegūtu jaunas zināšanas par to, vai principā CAIX inhibīcija var uzlabot imunostimulējošas terapijas efektivitāti – trīs dzīvnieku grupās tiks ierosināti ortotopiski 4T1-Car9-/- audzēji, bet trim citām dzīvnieku grupām – 4T1-scr audzēji. Kad audzēji būs sasnieguši palpējamus izmērus, tiks veiktas intratumorālas peļu IL-12 producējoša SFV-IL-12 alfavīrusa daļiņu injekcijas, un kā kontrole SFV-IL-12 efekta novērtēšanai kalpos dzīvnieki, kam intratumorāli tiks injicētas SFV alfavīrusa daļiņas, kurās IL-12 aizstāts ar luciferāzi, vai arī dzīvnieki, kas saņems neitrāla buferšķīduma injekcijas audzējos.

Visas izmēģinājuma projektā veiktās procedūras tiks veiktas, ievērojot ES noteiktos eksperimentālo dzīvnieku labturības noteikumus un atļautās metodes un sekojot 3Rs principiem. Īpaša vērība tiks pievērsta dzīvnieka potenciālo ciešanu atpazīšanai un mazināšanai, nepieļaujot ilglaicīgas ciešanas. Eksperimenta gaitā dzīvnieki tiks ik dienu vērtēti pēc noteiktas iepriekš izstrādātas pazīmju skalas, un sasniedzot punktu skaitu, kas liecina par mērenām ciešanām, dzīvnieki tiks humāni nogalināti.

Eksperimentā izmantotais dzīvnieku skaits ir plānots minimālais iespējamais, lai varētu iegūt pietiekams objektīvus un statistiski ticamus pētījuma rezultātus un sasniegt eksperimenta mērķi. Eksperimentā izvirzītos mērķus nav iespējams sasniegt, analizējot no operāciju materiāla iegūtus cilvēka audus vai veicot *in vitro* pētījumus, jo pētījumā adresētie jautājumi skar vairākas organisma orgānu sistēmas – imūnsistēmas funkcionālo aktivitāti un plaušu metastāžu veidošanos. Lai izvairītos no datu dublēšanas, pirms projekta izstrādes ir veikta rūpīga zinātniskās literatūras analīze, apzinot literatūras datu bāzes Scopus, PubMed, Sciencedirect, GoogleScholar, Web of Science un apzināti maksimāli iespējamie *in vivo* un *in vitro* attiecīgo pētījumu rezultāti, lai nodrošinātu, ka šāda veida eksperimenti vēl nav veikti, taču ir nozīmīgi un varētu nest pienesumu jaunu pret-vēža imunoterapijas stratēģiju izstrādē. Šī pētījuma rezultāti būs īpaši nozīmīgi jaunu ārstēšanas pieeju izstrādē tieši trīskārši negatīvā krūts vēža pacientēm. Pašlaik šim vēža veidam nav pieejamas molekulāri mērķētas zāles un tā ārstēšana balstās uz agresīvu ķīmijterapiju. Šī pētījuma rezultāti pavērs iespēju izstrādāt jaunu imunoterapijas stratēģiju, kas balstīta uz imunoterapijas zāļu kombināciju ar CAIX inhibīciju.

Veikto eksperimentu rezultāti tiks publicēti starptautiskos zinātniskos recenzējamos žurnālos, ziņoti zinātniskās konferencēs, lai informētu iespējami plašāku zinātnieku loku, tādējādi samazinot kopējo eksperimentos izmantojamo dzīvnieku skaitu un procedūru dublēšanu.