

# Kombinirano zdravljenje solidnih tumorjev z intratumoralnim genskim elektrotransnosom plazmidne DNA z zapisom za protitelesa anti-CTLA4 in obsevanjem

Simona Kranjc Brezar<sup>1,2</sup>, Boštjan Markelc<sup>1,3</sup>, Tanja Jesenko<sup>1,3</sup>, Tim Božič<sup>1,3</sup>, Maja Čemažar<sup>1,4</sup>, Liesl Jacobs<sup>5</sup>, Kevin Hollevoet<sup>5</sup>, Gregor Serša<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Oddelek za eksperimentalno onkologijo, Onkološki inštitut Ljubljana, Slovenija, <sup>2</sup>Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Slovenija, <sup>3</sup>Zdravstvena fakulteta, Univerza v Ljubljani, Slovenija, <sup>4</sup>Fakulteta za vede o zdravju, Univerza na Primorskem, Slovenija, <sup>5</sup>Laboratorij za terapevtska in diagnostična protitelesa, KU Leuven – Univerza v Leuvnu, Belgija  
[skranjc@onko-i.si](mailto:skranjc@onko-i.si); Financiranje: ARRS P3-0003, CELSA

## ZAKLJUČKI

V raziskavi smo potrdili, da po GET pDNA-aCTLA4 pride do izražanja mAbs proti CTLA-4, pri čemer je njihova koncentracija v krvnem obtoku nizka. Pokazali smo tudi, da je intratumorski GET pDNA-aCTLA4 bolj učinkovit v kombinaciji s frakcioniranim obsevanjem (3 x 5 Gy) kot v kombinaciji z enkratno dozo 10 Gy. Raziskava je pokazala potencial kombinacije intratumorskega GET pDNA-aCTLA4 ter radioterapije.

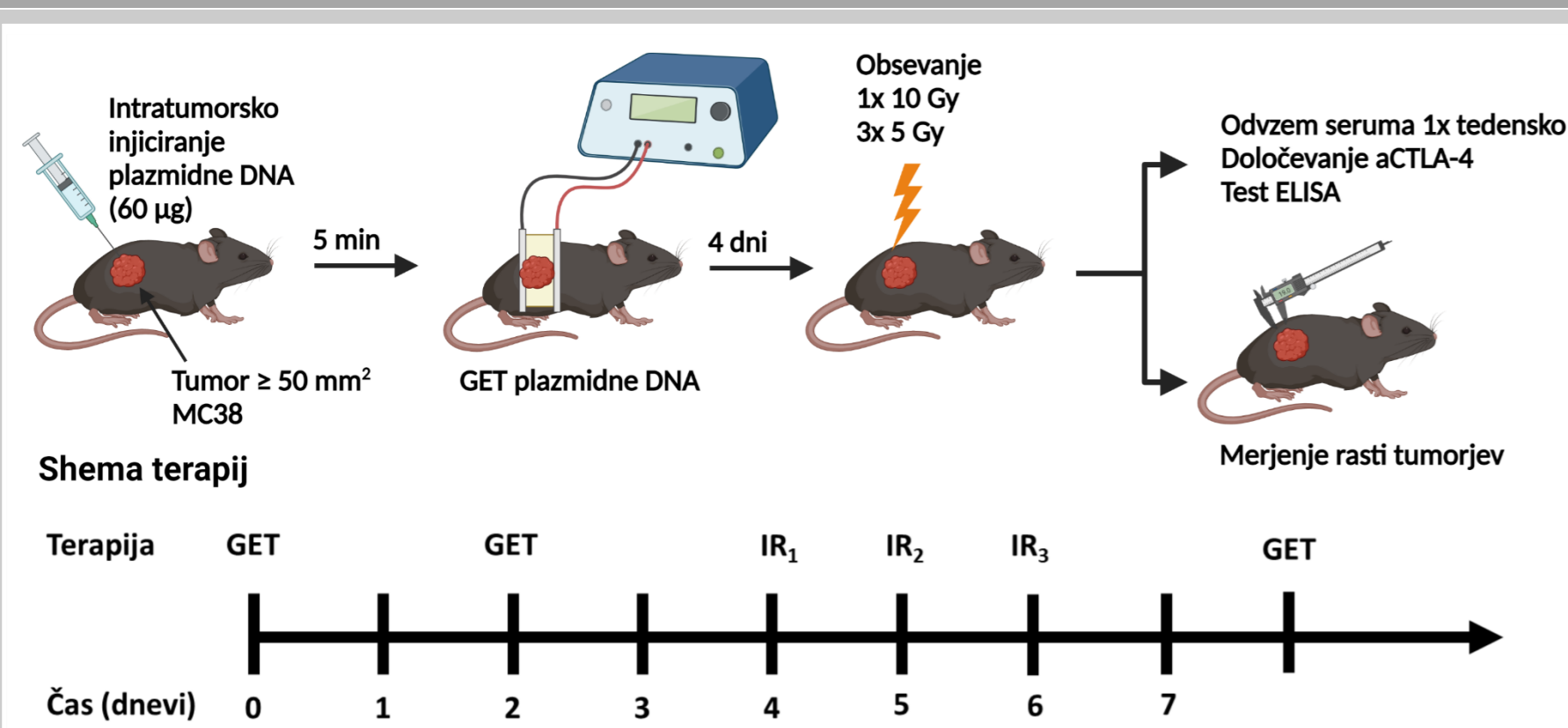
## UVOD

Rekombinantna monoklonska protitelesa (mAbs), ki ciljajo imunske kontrolne točke (IKT) so med najbolj obetavnimi pristopi zdravljenja raka. Leta 2011 je bila odobrena uporaba sistemske infuzije protitelesa ipilimumab proti citotoksičnemu T-limfocitnemu antigenu-4 (CTLA-4) za zdravljenje melanoma, čemur je sledila odobritev več drugih mAbs, ki ciljajo tudi druge IKT. Prenos genov, ki kodirajo za mAbs predstavlja stroškovno učinkovito alternativo konvencionalni proizvodnji, čiščenju in sistemski infuziji le teh. Ta inovativni pristop uporablja DNA, ki kodira za mAbs, namesto infuzije samih protiteles, kar omogoča, da se le ta proizvajajo v pacientovem telesu tekom daljšega časovnega obdobja. Pokazalo se je tudi, da se z intratumorskim injiciranjem imunomodulatornih mAbs lahko izognemo visokim koncentracijam le teh v krvi in s tem povezano sistemske toksičnostjo. Hkrati pa se lahko dosežejo višje intratumorske koncentracije v primerjavi s sistemsko infuzijo. Vendar so bile tudi pri tem pristopu potrebne pogoste aplikacije mAbs.

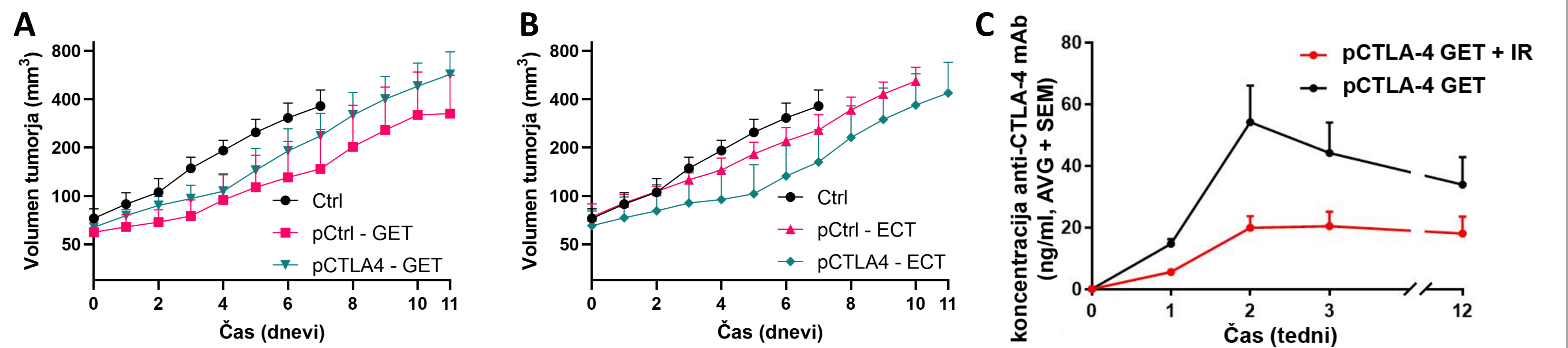
## NAMEN

Namen raziskave je bil raziskati protitumorski učinek genskega elektrotransnosa plazmidne DNA, ki kodira za rekombinantno protiteleso proti CTLA-4 (pCTLA4), v kombinaciji z obsevanjem na mišje tumorje raka debelega črevesja MC38.

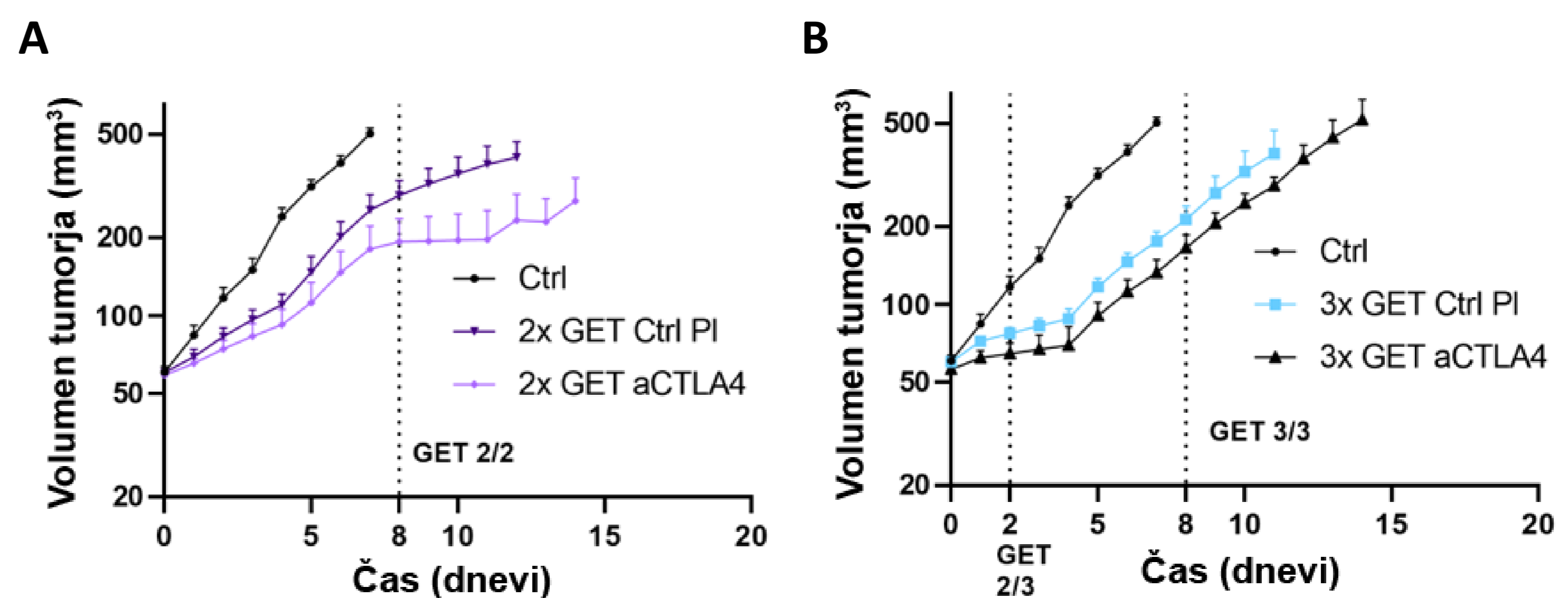
## METODE



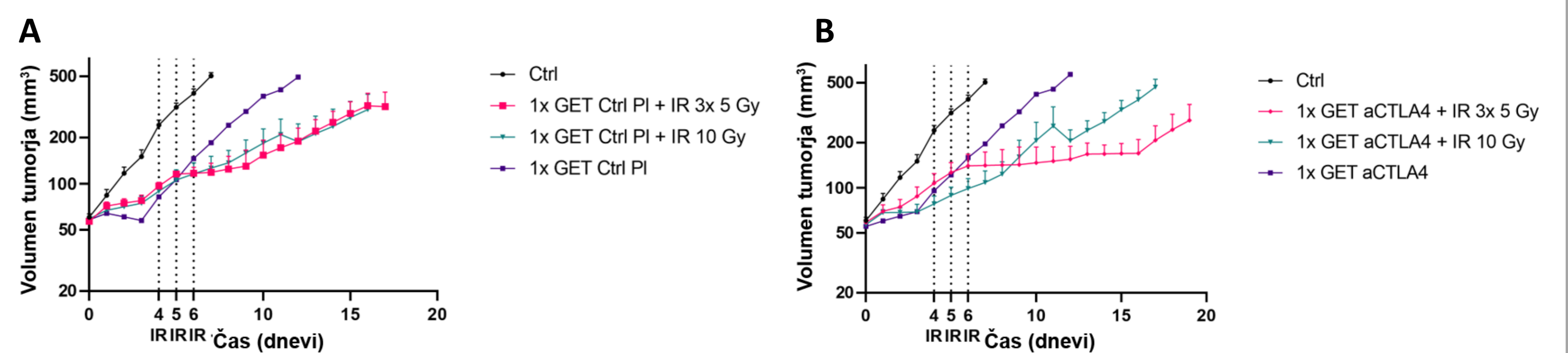
## REZULTATI



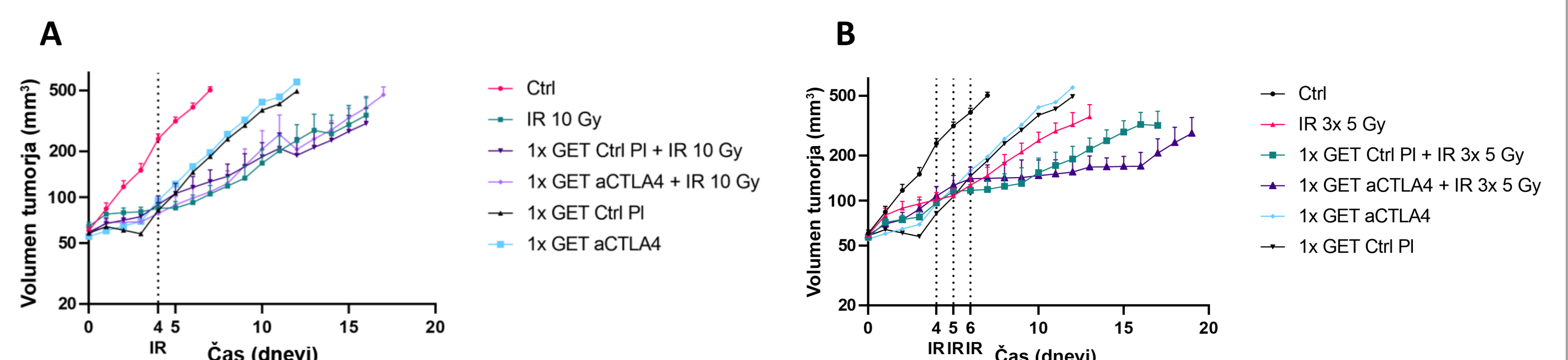
**Protitumorski učinek in serumska koncentracija anti-CTLA-4 po genskem elektrotransnosu pCTLA4.** A) Protitumorski učinek genskega elektrotransnosa kontrolne plazmidne DNA (pCtrl) ter plazmidne DNA pCTLA4 z uporabo pulzov za genski elektrotransnos (GET: 8 pulzov, 600 V/cm, 5 ms, 1 Hz), B) Protitumorski učinek genskega elektrotransnosa kontrolne plazmidne DNA (pCtrl) ter plazmidne DNA pCTLA4 z uporabo pulzov za elektrokemoterapijo (ECT: 8 pulzov, 1300 V/cm, 100 µs, 1 Hz), C) Koncentracija anti-CTLA-4 protiteles serumu miši po genskem elektrotransnosu pCTLA4 z uporabo pulzov za elektrokemoterapijo (ECT: 8 pulzov, 1300 V/cm, 100 µs, 1 Hz) v tumorje in obsevanju tumorjev. Vrednosti predstavljajo povprečje +SEM.



**Protitumorski učinek večkratnega genskega elektrotransnosa pCTLA4.** A) Protitumorski učinek dvakratnega genskega elektrotransnosa kontrolne plazmidne DNA (Ctrl PI) ter plazmidne DNA pCTLA4 z uporabo pulzov za elektrokemoterapijo (ECT: 8 pulzov, 1300 V/cm, 100 µs, 1 Hz). B) Protitumorski učinek trikratnega genskega elektrotransnosa kontrolne plazmidne DNA (Ctrl PI) ter plazmidne DNA pCTLA4 z uporabo pulzov za elektrokemoterapijo (ECT: 8 pulzov, 1300 V/cm, 100 µs, 1 Hz). Vrednosti predstavljajo povprečje +SEM. GET 1 je bil izveden na dan 0. Vrednosti predstavljajo povprečje +SEM.



**Protitumorski učinek genskega elektrotransnosa pCtrl ali pCTLA4 v kombinaciji z obsevanjem.** A) Protitumorski učinek enkratnega genskega elektrotransnosa kontrolne plazmidne DNA (Ctrl PI) z uporabo pulzov za elektrokemoterapijo (ECT: 8 pulzov, 1300 V/cm, 100 µs, 1 Hz) v kombinaciji z obsevanjem z enkratno dozo 10 Gy, ali frakcionirano dozo 3x 5 Gy. B) Protitumorski učinek enkratnega genskega elektrotransnosa plazmidne DNA pCTLA4 z uporabo pulzov za elektrokemoterapijo (ECT: 8 pulzov, 1300 V/cm, 100 µs, 1 Hz) v kombinaciji z obsevanjem z enkratno dozo 10 Gy, ali frakcionirano dozo 3x 5 Gy. Vrednosti predstavljajo povprečje +SEM. GET je bil izveden na dan 0.



**Protitumorski učinek genskega elektrotransnosa pCtrl ali pCTLA4 v kombinaciji z obsevanjem.** A) Protitumorski učinek enkratnega genskega elektrotransnosa kontrolne plazmidne DNA (Ctrl PI) ali pCTLA4 z uporabo pulzov za elektrokemoterapijo (ECT: 8 pulzov, 1300 V/cm, 100 µs, 1 Hz) v kombinaciji z obsevanjem z enkratno dozo 10 Gy B) Protitumorski učinek enkratnega genskega elektrotransnosa kontrolne plazmidne DNA (Ctrl PI) ali pCTLA4 z uporabo pulzov za elektrokemoterapijo (ECT: 8 pulzov, 1300 V/cm, 100 µs, 1 Hz) v kombinaciji z obsevanjem s frakcionirano dozo 3x 5 Gy. Vrednosti predstavljajo povprečje +SEM. GET je bil izveden na dan 0.