

USPOSTAVNI ISTRAŽIVAČKI PROJEKT HRVATSKE ZAKLADE ZA ZNANOST

Stana TOKIĆ

● **Voditeljica projekta:**
doc. dr. sc. Stana Tokić
Ukupna vrijednost projekta:
1.999.900,00 kuna

Psorijaza je kronična, recidivirajuća upalna bolest kože koja pogađa 1 - 3 % svjetske populacije. Ovisno o lokalizaciji i morfologiji simptoma, klasificirano je više srodnih oblika psorijaze među kojima vulgarna psorijaza zahvaća 85 - 90 % oboljelih. Većina oboljelih razvija karakteristične eritematozne, ljuskave plakove, poglavito na tjemenu, laktovima, koljenima i lumbosakralnom području. Psorijatični plakovi javljaju se kao rezultat nekontroliranoga umnažanja specijaliziranih epidermalnih stanica (keratinocita) u gornjem, epitelnom sloju kože, a epitelnu hiperplaziju pospješuje širenje krvnih žila u dermi i tkivna infiltracija aktiviranih imunskih stanica. Gubitak obilježja i funkcije epidermalnih keratinocita, međutim, nije primaran uzročni događaj u pojavi psorijaze.

Danas je naime poznato da u razvoju psorijaze sudjeluje nekoliko čimbenika kao što su rizične genetičke varijante, narušena kožna barijera te pojava autoreaktivnih imunskih stanica. Dosadašnji napori u istraživanju imunološkoga odgovora u psorijazi omogućili su otkrivanje ključnih T limfocitnih linija koje trajno naseljavaju kožne lezije oboljelih te uzrokuju kožne promjene otpuštanjem upalnih molekula poput interleukina (IL)-17, interferona (INF)- γ i tumor nekrotizirajućeg čimbenika (TNF), ključnih medijatora upalnih procesa u psorijazi. Među njima $\gamma\delta$ T-limfociti i novootkrivene MAIT (od engl. mucosal-associated invariant T) stanice igraju potencijalno važnu, ali nedovoljno poznatu ulogu u inicijaciji i razvoju psorijaze. Važnost tih stanica u psorijazi potvrđuje i uspješnost bioloških terapijskih pripravaka koji inhibiraju njihove specifične upalne mehanizme. Međutim prestankom terapije upalni se mehanizmi reaktiviraju i uzrokuju povratak kožnih promjena. Rezidualne, za psorijazu specifične T limfocitne, linije stoga predstavljaju izrazito važne terapijske mete čijom bi se inaktivacijom osigurala trajna kontrola bolesti. Ovomu je projektu stoga cilj utvrditi frekvenciju i pojedinačan doprinos perifernih i tkivnih MAIT i $\gamma\delta$ T stanica u razvoju psorijaze i porastu serumske razine upalnih citokina i kemokina u oboljelih (Slika 2.). Također, u planu je istražiti još nerazjašnjene transkripcijske profile koji upravljaju fenotipom i funkcijom MAIT i $\gamma\delta$ T sta-

NGS ANALIZA TRANSKRIPTOMA MAIT I $\gamma\delta$ T LIMFOCITA: FENOTIP, FUNKCIJA I RAZNOLIKOST TCR KLONOVA U PODLOZI RAZVOJA VULGARNE PSORIJAZE



doc. dr. sc. Stana Tokić, voditeljica projekta

nica kako bismo pojasnili odgovor na pitanje kako se patogeni klonovi T stanica razlikuju od nepatogenih vrsta, kako se razvijaju i kako djeluju u perifernoj krvi i koži oboljelih od psorijaze. Primjenom tehnologije sekvenciranja nove generacije (NGS, od engl. next-generation sequencing) provest će se i analiza raznolikosti T staničnih receptora (TCR, od engl. T cell receptor) na uzorcima RNA molekula izoliranih iz sortiranih MAIT i $\gamma\delta$ T stanica.

Temeljem dobivenih rezultata nadamo se osigurati identifikaciju učestalih, javnih TCR klonova i rizičnih varijanti pridruženih genskih lokusa (TRA, TRB, TRG i TRD) koji sudjeluju u njihovu razvoju. Pronalaskom rizičnih TCR sekvencija patogenih MAIT i $\gamma\delta$ T stanica u psorijazi, nadamo se doprinijeti boljem razumijevanju antigena koji se prepoznaju u toj bolesti kao i pojasniti odgovor na pitanje kako patogeni klonovi T stanica mogu biti stabilno potisnuti.

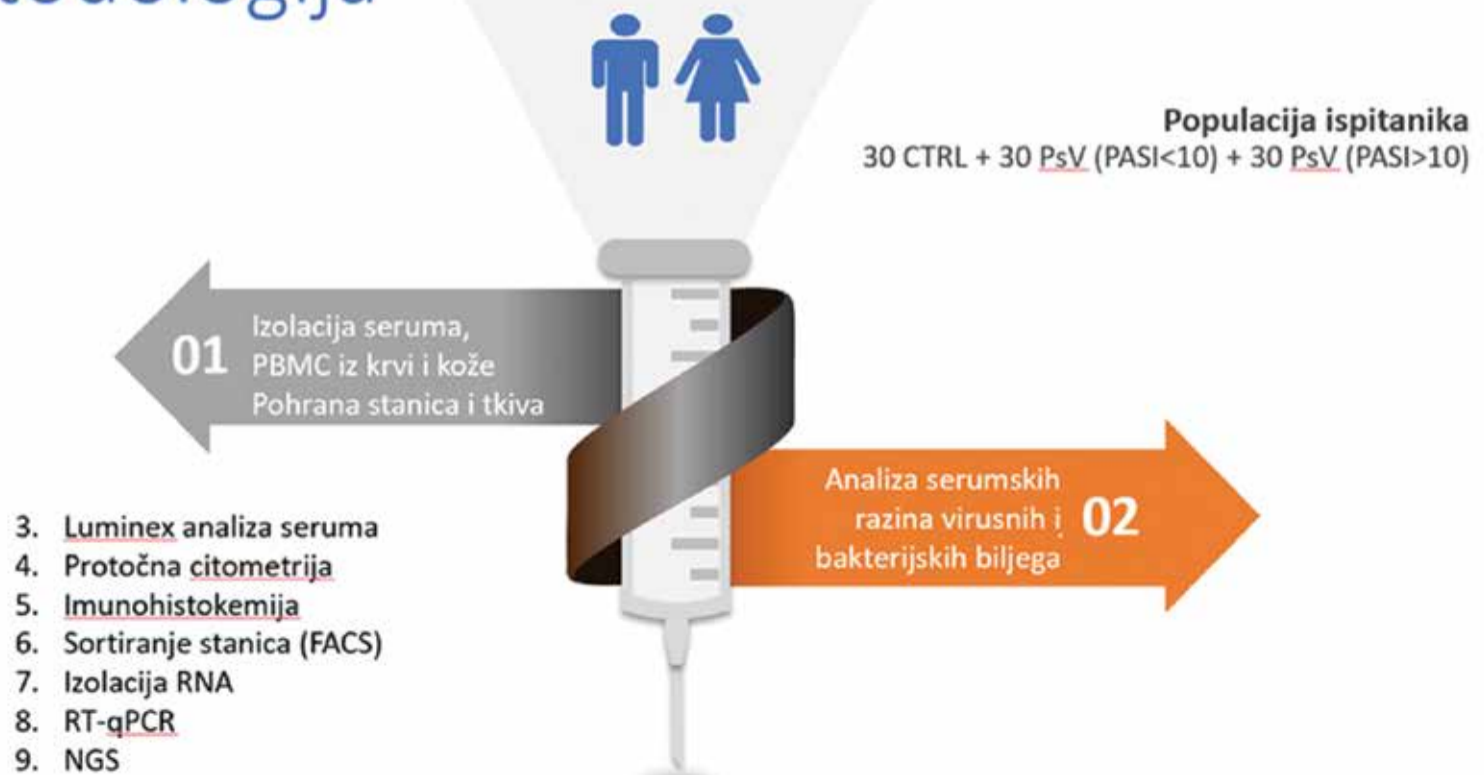
Važno je napomenuti da su u okviru preliminarne analize frekvencije MAIT i $\gamma\delta$ T stanica zabilježeni prvi rezultati koji opisuju različite udjele CD3+ $\gamma\delta$ TCR+ i MAIT limfocita u perifernoj krvi oboljelih od psorijaze u odnosu na zdrave kontrole. Uočena je i ovisnost njihove frekvencije o spolu i izloženosti ispitanika različitim virusnim i bakterijskim infekcijama. Međutim, migracijski obrasci različitih podvrsta $\gamma\delta$ T i MAIT stanica u koži kao i povezanost promjene njihovih frekvencija s težinom i obilježjima vulgarne psorijaze još uvi-

jek su nerazjašnjeni. Također, u potpunosti je nerazjašnjen transkripcijski profil i repertoar TCR klonotipova te njihov doprinos patologiji psorijaze.

U svrhu provedbe projektnih ciljeva okupljen je sesteročlani, interdisciplinarni istraživački tim koji uz voditeljicu (doc. dr. sc. Stana Tokić, Slika 1.) čine izvrsne mlade znanstvenice Medicinskoga fakulteta Osijek (doc. dr. sc. Barbara Viljević, doc. dr. sc. Teuta Opačak Bernardi) i Odjela za dermatologiju i venerologiju KBC-a Osijek (Vera Plužarić, dr. med., spec. dermatol. venerol., Marija Sola, dr. med., spec. dermatol. venerol, dr. sc. Maja Tolušić Levak, dr. med.). Projekt ukupne vrijednosti 1.999,900,00 kuna trajat će pet godina, a do kraja prve godine planirana je nabava novog NGS uređaja te zapošljavanje doktoranda.

U svrhu provedbe projekta prikupljat će se uzorci 30 zdravih i 60 oboljelih ispitanika koji će svoje liječenje moći započeti ili unaprijediti na Zavodu za dermatologiju i venerologiju KBC-a Osijek gdje će im se u okviru redovite medicinske skrbi osigurati opširna dijagnostička obrada, pregled i mišljenje specijalista te ponuditi optimalna terapijska rješenja. U okviru daljnjih projektnih aktivnosti planirano je također proširenje suradnje s istraživačima Medicinskoga fakulteta Sveučilišta u Pečuhu, znanstvenicima s Medicinskoga fakulteta Sveučilišta Palacký u Olomoucu, Češka, te diseminacija rezultata i prijava novih projektnih prijedloga na domaće i međunarodne natječaje.

Metodologija



Pregled metodoloških pristupa u provedbi projekta