



Istraživanje i dijagnostika
malignih, infektivnih i rijetkih
metaboličkih bolesti temeljena na
MALDI TOF TEHNOLOGIJI



INFORMIRANJE O PROJEKTU



Operativni program
**KONKURENTNOST
I KOHEZIJA**



**EUROPSKI STRUKTURNI
I INVESTICIJSKI FONDovi**



Europska unija
Zajedno do fondova EU



"Projekt je sufinancirala Europska unija iz Europskog fonda za regionalni razvoj"

SADRŽAJ

Sažetak projekta	03
Informacije o projektu	04
Voditelj projekta	05
Članovi projektnog tima	05
Suradne ustanove	05
1. MALDI TOF MS tehnologija	06
2. Istraživački ciljevi projekta	07
Istraživanje i razvoj mikrobiološke dijagnostike	08
Istraživanje molekularnih svojstava malignih stanica i detekcija cirkulirajućih tumorskih stanica	09
Istraživanje molekularnih sastavnica nasljednih bolesti nakupljanja i njihova vizualizacija	10
3. Očekivani učinci na znanstvenu i stručnu djelatnost u KBC Osijek	11

SAŽETAK PROJEKTA

Projekt ima za cilj osigurati uvjete za unaprijeđenje znanstveno-istraživačkog rada pri KBC Osijek ulaganjem u materijalnu imovinu, odnosno nabavu masenog spektrometra i MALDI TOF/TOF masenog spektrometra i popratne opreme te pripadajućom prilagodbom prostora za postavljanje kupljene instrumentacije. Na taj će se način istraživački i znanstveni potencijal KBC Osijek lakše realizirati te će se učiniti sljedeći korak u razvoju zdravstvenog sustava temeljenog na znanju.

Ulaganje u ovaj projekt ključno je za dostizanje vrhunske kvalitete istraživačkih djelatnosti u KBC Osijek te direktno pridonosi unaprijeđenju dijagnostike i razumijevanju nastanka te razvoja metastatske bolesti, a koje bi rezultiralo učinkovitijom terapijom malignih bolesti, prvenstveno karcinoma dojke u gradu Osijeku, Osječko-baranjskoj županiji i Republici Hrvatskoj. Nabava navedene opreme doprinijela bi i unaprijeđenju dijagnostike rijetkih nasljednih bolesti iz grupe lipidoza te unaprijeđenju dijagnostike sepse što bi rezultiralo ranijim otkrivanjem te učinkovitijom terapijom oboljelih. Projektom će se svladati problemi s kojima je suočen sustav istraživanja i razvoja u KBC Osijek uzrokovan nedovoljnom kvalitetom istraživačke opreme i pripadajuće infrastrukture, a posljedično i neprimjerenim korištenjem znanstvenih potencijala (ljudskih resursa). Stručnu podršku potrebnu za kvalitetno ostvarenje zadanih ciljeva KBC Osijek će imati od Ministarstva zdravstva koje podržava projekt.

INFORMACIJE O PROJEKTU



NOSITELJ PROJEKTA

Klinički bolnički centar Osijek,
J. Huttlera 4, 31 000 Osijek



NAZIV PROJEKTA

Istraživanje i dijagnostika malignih,
infektivnih i rijetkih metaboličkih bolesti
temeljena na MALDI TOF tehnologiji



IZVOR FINANCIRANJA

Europski fond za regionalni razvoj



OPERATIVNI PROGRAM

„Konkurentnost i kohezija 2014. – 2020.“



VRIJEDNOST PROJEKTA

- Vrijednost projekta: 16.129.024,22 kn
- EU sufinanciranje: 85%
- Vlada Republik Hrvatske / Ministarstvo
znanosti i obrazovanja: 15%
- Ukupni prihvatljivi troškovi: 100%
- Trajanje projekta: 15 mjeseci
(01.07.18. – 01.10.19.)

VODITELJ PROJEKTA

Doc. dr. Željko Debeljak, spec. med. biokemije,
voditelj Odjela za kliničku kemiju, Klinički bolnički centar Osijek



Ul. Josipa Huttlera 4,
31000 Osijek



Telephone:
+385 31 511 660



E-mail:
zeljko.debeljak@gmail.com

ČLANOVI PROJEKTOG TIMA

- Doc. dr. Željko Debeljak, spec. med. biokemije
- Prof. dr. Branko Dmitrović, spec. patološke anatomije
- Prof. dr. Domagoj Drenjančević, spec. med. mikrobiologije s parazitologijom
- Doc. dr. Sanja Mandić, spec. med. biokemije
- Doc. dr. Vatroslav Šerić, spec. med. biokemije
- Prof. dr. Slavica Kvolik, spec. anesteziologije i reanimatologije
- Sanja Pešić, univ.spec. oec.
- Boris Flegar, dipl. oec.

SURADNE USTANOVE:

ZA ZNANSTVENO-ISTRAŽIVAČKU SURADNJU

- Medicinski fakultet Sveučilišta J.J. Strossmayera u Osijeku
- Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu
- Klinički bolnički centar Zagreb
- Klinički bolnički centar Rijeka
- Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada, Zagreb
- Nastavni zavod za javno zdravstvo "Dr. Andrija Štampar", Zagreb

ZA GOSPODARSKU SURADNJU

- GENOS, Zagreb
- IN2, Zagreb



+385 31 511 511

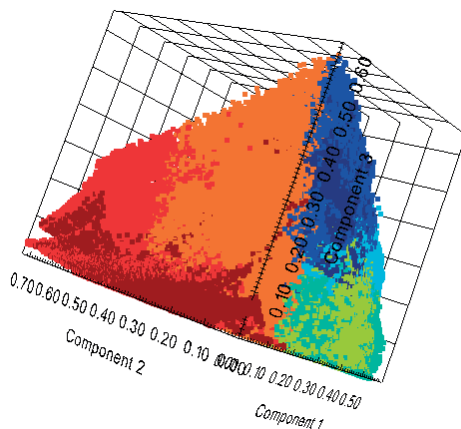


ravnateljstvo@kbco.hr



www.clinical-maldi-tof.eu

1. MALDI TOF MS TEHNOLOGIJA



Tkivni klasteri (u suradnji s Bruker Daltonics, Njemačka)

Engl. Matrix Assisted LASER Desorption/Ionization Time Of Flight Mass Spectrometry tj. MALDI TOF MS tehnologija je analitička tehnologija koja se koristi u različitim područjima kemije i njenih primjena, među ostalim i u kliničkoj kemiji i laboratorijskoj medicini. Ona obuhvaća cijeli niz tehnoloških rješenja prilagođenih različitim namjenama koja se temelje na nekim zajedničkim načelima. Kao i svaki oblik masene spektrometrije, tako se MALDI TOF MS analitička tehnologija temelji na mjerenju signala ovisnog o masi i naboju analiziranih molekula koji omogućava identifikaciju tih molekula. Dva su dodatna načela koja različita tehnološka rješenja trebaju zadovoljavati da bi se mogla svrstati u MALDI TOF MS kategoriju:

primjena kemijske matrice i LASER-a

za desorpciju tj. prevođenje u plinovitu fazu i ionizaciju molekularnih sastavnica analiziranog materijala, primjerice biološkog uzorka

primjena masene spektrometrije

temeljene na vremenu potrebnom da analizirana molekula poput različitih proteina ili lipida prođe put od ulaza u maseni spektrometar do samog detektora.

MALDI TOF MS tehnologija se prvenstveno primjenjuje za identifikaciju molekularnih sastavnica analiziranog uzorka, ali se uz određena ograničenja može, može primjeniti i za mjerenje količine poznate sastavnice prisutne u uzorku. Najnovija primjena MALDI TOF MS tehnologije je vizualizacija raspodjele različitih molekularnih sastavnica u nekom materijalu, npr. u tkivima i stanicama biološkog porijekla. U tom slučaju se koristi izraz engl. Imaging Mass Spectrometry tj MALDI TOF IMS. MALDI TOF IMS rješenja kojima je svojstvena najveća dostupna prostorna rezolucija omogućavaju vizualizaciju pojedinačnih stanica na temelju njima svojstvenih molekularnih sastavnica. Takva rješenja, uz sam MALDI TOF IMS, mogu imati integrirane i svjetlosne mikroskope pa se, u tom slučaju, koristi izraz maseni mikroskop.

2. ISTRAŽIVAČKI CILJEVI PROJEKTA

“Istraživanje i dijagnostika malignih, infektivnih i rijetkih metaboličkih bolesti temeljena na MALDI TOF tehnologiji”

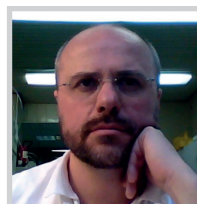
Mehanizmi nastanka, širenja i rezistencije malignih, metaboličkih i infektivnih bolesti predstavljaju vrlo zahtjevan znanstveno-istraživački izazov. Jedan od nedostataka dosadašnjih pristupa tim problemima je nemogućnost vizualizacije molekularnih sastavnica uzročnika i njihove okoline u patološkim procesom zahvaćenom tkivu. Donedavno nije postojalo sveobuhvatno tehnološko rješenje za takvu vizualizaciju, ali napretkom masene spektrometrije, osobito MALDI TOF tehnologije mogućnosti in situ vizualizacije molekularnih sastavnica uzročnika navedenih bolesti se značajno povećavaju. Velika količina informacija dobivena primjenom MALDI TOF tehnologije, osobito masene mikroskopije značajno povećava izgleda za bolje razumijevanje patofizioloških procesa koji su u podlozi navedenih bolesti. Očekivani učinci na znanstvenu izvrsnost institucija koje primjenjuju mikroskopiju temeljenu na masenoj spektrometriji su usporedivi s učincima postignutim uvođenjem svjetlosne mikroskopije u biomedicinska istraživanja. Realizacijom projekta, očekuje se nastavak i intenziviranje suradnje s drugim javnim istraživačkim ustanovama koje se bave implementacijom srodne metodologije. Istraživanja koja se planiraju provoditi primjenom predmetne opreme vodit će se u 3 glavna smjera:



1. Istraživanje i razvoj mikrobiološke dijagnostike:
Prof.dr. Domagoj Drenjančević



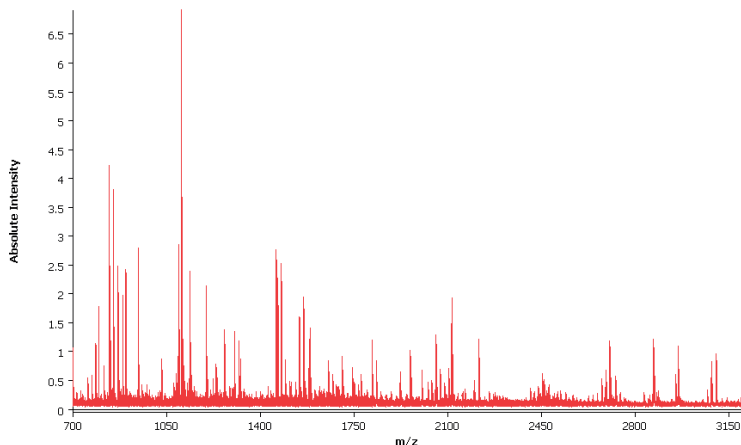
2. Istraživanja molekularnih svojstava malignih stanica i detekcija cirkulirajućih tumorskih stanica:
Prof.dr. Branko Dmitrović



3. Istraživanje molekularnih sastavnica nasljednih bolesti nakupljanja i njihova vizualizacija:
Doc.dr. Željko Debeljak



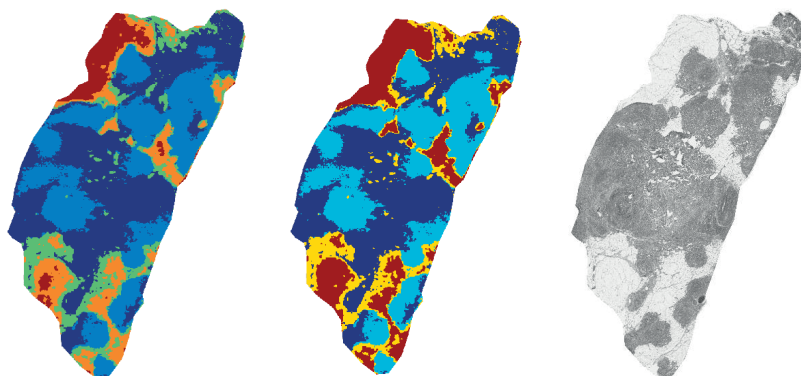
ISTRAŽIVANJE I RAZVOJ MIKROBIOLOŠKE DIJAGNOSTIKE



Spektar masa lipida i peptida u biološkom uzorku (u suradnji s Bruker Daltonics, Njemačka)

Bakterijska sepsa je čest uzrok smrti hospitaliziranih bolesnika. Rano prepoznavanje sepse te brza i pouzdana identifikacija uzročnika znatno povećavaju preživljavanje oboljelih. Identifikacija uzročnika sepse rutinskim postupcima je dugotrajan postupak. Uvođenje MALDI TOF MS analiza ubrzava identifikaciju i povećava njenu pouzdanost. Plan istraživanja u ovom području u prvoj fazi uključuje ispitivanje dijagnostičkih svojstava MALDI TOF MS postupaka u odnosu prema rutinskim postupcima identifikacije mikroorganizama uzročnika sepse. U drugoj fazi istraživanja planira se ispitivanje novih molekularnih markera pojedinih uzročnika koji bi povećali pouzdanost identifikacije te ukazali na susceptibilnost ili rezistenciju uzročnika prema antimikrobnoj terapiji.

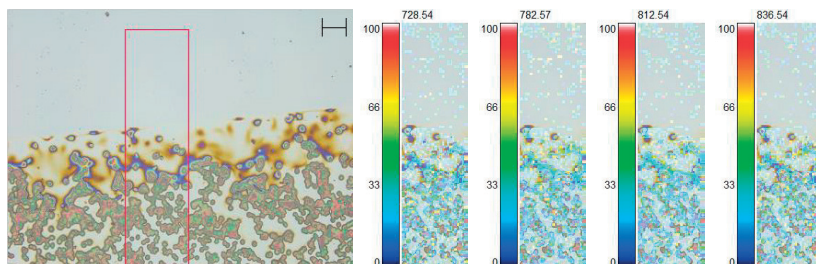
ISTRAŽIVANJE MOLEKULARNIH SVOJSTAVA MALIGNIH STANICA I DETEKCIJA CIRKULIRAJUĆIH TUMORSKIH STANICA



Slikovna spektrometrija masa: tkivni klasteri u bioptatu tumora dojke (u suradnji s Bruker Daltonics, Njemačka)

Metastatski potencijal i proliferacija malignih stanica su određeni njihovim molekularnim svojstvima. Molekularni „make-up“ se znatno razlikuje među pojedinim klonovima koji se prema postojećim postupcima patohistološke identifikacije tumora ne mogu razlikovati. To za posljedicu ima jednak tretman bolesnika, čije se bolesti na molekularnoj razini razlikuju što u konačnici dovodi do smanjenog preživljenja. Rješenje navedenog problema leži u identifikaciji klinički relevantnih biomarkera specifičnih za pojedine bolesnike. Visoka specifičnost odabranih biomarkera omogućava identifikaciju cirkulirajućih tumorskih stanica, a poznavanje uloge tih biomarkera u patofiziološkim procesima omogućava optimalan izbor terapije i posljedično vodi do zaustavljanja tumorske proliferacije. Kao modelni sustav za opisane postupke koristit će se karcinom dojke. U prvoj fazi istraživanja iz ove grupe planira se ispitati uvjete snimanja MALDI TOF MS mikroskopskih prikaza koji bi omogućili optimalno razlikovanje tumorskih klonova od zdravih stanica iz okolnog tkiva. U drugoj fazi istraživanja se planira razvoj primjene masenog mikroskopa u analizi krvi i drugih tjelesnih tekućina s ciljem pronalazanja cirkulirajućih tumorskih stanica koje na sebi ispoljavaju prethodno identificirane tumorske markere specifične za svakog bolesnika individualno. U trećoj fazi istraživanja se planiraju provesti populacijska klinička ispitivanja koja bi integracijom rezultata primjene masene mikroskopije dovela do identifikacije novih klinički relevantnih biomarkera zajedničkih pojedinim podskupinama bolesnika. Tako dobiven skup biomarkera će sadržavati i nove molekularne mete nužne za razvoj novih antitumorskih lijekova. Ovisno o rezultatima postignutim u prve tri faze istraživanja moguć je nastavak istraživanja pri čemu bi se u četvrtoj fazi provela in vitro ispitivanja patofiziološke uloge odabranih meta u malignoj transformaciji i proliferaciji.

ISTRAŽIVANJE MOLEKULARNIH SASTAVNICA NASLJEDNIH BOLESTI NAKUPLJANJA I NJIHOVA VIZUALIZACIJA



Slikovna spektrometrija masa: crvene krvne stanice odraslog zdravog donora (u suradnji s Shimadzu, Njemačka).

Nasljedne bolesti nakupljanja spadaju u skupinu rijetkih bolesti. Od pojave prvih simptoma do postavljanja dijagnoze takvih bolesti često prođe i više godina. Jedan od razloga za to je i nepouzdana i slabo dostupna dijagnostika, što je posljedica nedostupnosti metoda za jednoznačnu identifikaciju metabolita koji se nakupljaju u stanicama i tkivima. MALDI TOF MS mikroskopija omogućava snimanje slikovnih prikaza distribucije pojedinih molekularnih sastavnica u stanicama i tkivima s visokom prostornom rezolucijom i s visokom rezolucijom molarnih masa. Kao modelni sustav za razvoj i ispitivanje dijagnostičke primjene masene mikroskopije koristit će se uzorci krvi i/ili tkiva oboljelih od lipidoza poput Gaucher-ove, Niemann – Pickove ili Fabry-jeve bolesti. U prvoj fazi istraživanja iz ove grupe planira se ispitati uvjete snimanja MALDI TOF MS mikroskopskih prikaza koji bi omogućili optimalnu identifikaciju stanica u kojima se nakuplja pojedina lipidna molekula svojstvena za određenu lipidozu. U drugoj fazi istraživanja se planira ispitivanje dijagnostičkih svojstava MALDI TOF MS postupaka u odnosu prema rutinskim postupcima identifikacije stanica u kojima se nakuplja pojedina lipidna molekula svojstvena za određenu lipidozu.

3. OČEKIVANI UČINCI NA ZNANSTVENU I STRUČNU DJELATNOST U KBC OSIJEK



Intenzivna
znanstveno-istraživačka
aktivnost KBC-a



Postignuta znanstvena izvrsnost
istraživača temeljem povećanja
opsega, kvalitete i relevantnosti
znanstveno-istraživačke aktivnosti



Promovirani novi doktori
znanosti koji se obrazuju na
poslijediplomskom studiju
na visokim učilištima čija je
Bolnica nastavna baza



Unaprijeđena
suradnja s
gospodarstvom



Postignuta suradnja sa
srodnim istraživačkim
ustanovama u Republici
Hrvatskoj i inozemstvu



Omogućena provedba novih
znanstveno-istraživačkih projekata,
čime se osigurava financijska i
institucionalna održivost projekta.



