



**Financira
Europska unija**
NextGenerationEU



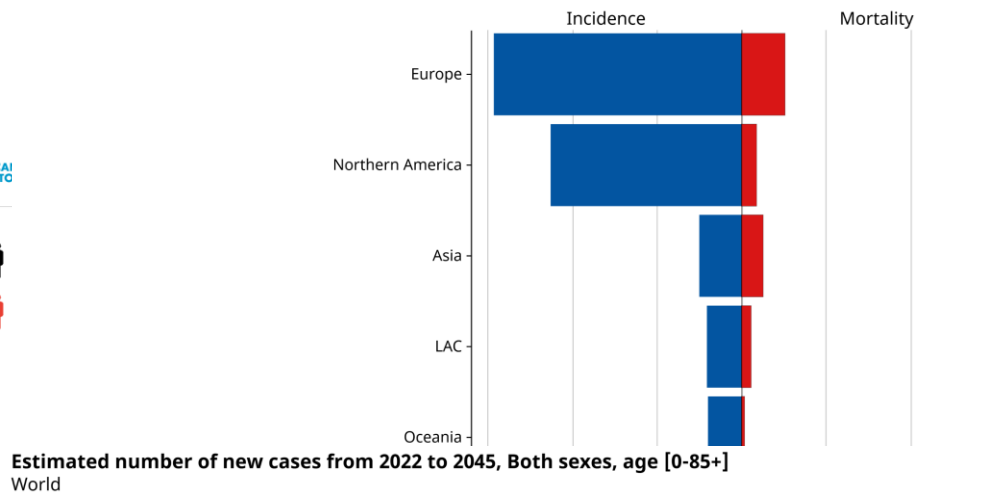
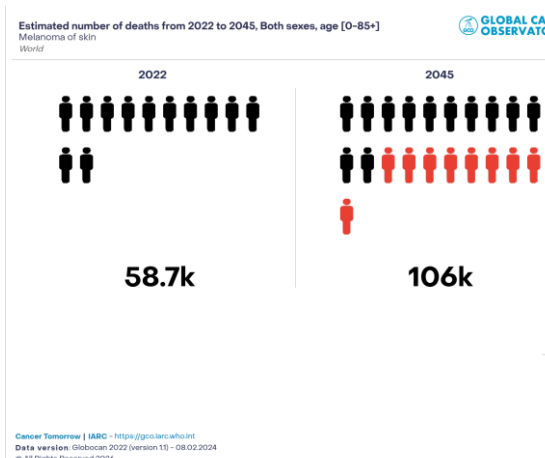
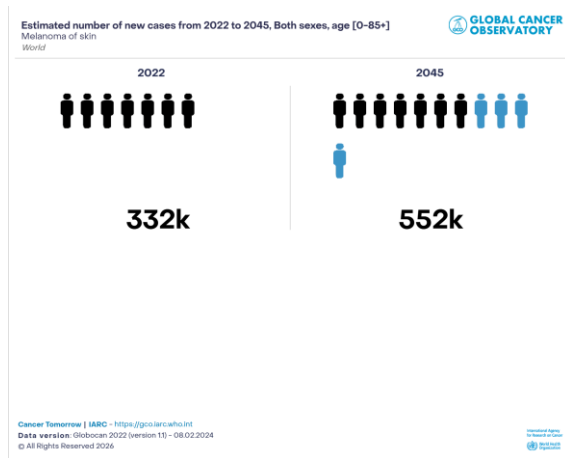
Integrirana analiza mutacijskog opterećenja transkriptoma i TCR repertoara u evoluciji melanoma 581-UNIOS-83 (MEL-TREC)

Voditeljica projekta izv. Prof. dr. sc. Stana Tokić

Planirano trajanje projekta: 48 mjeseci

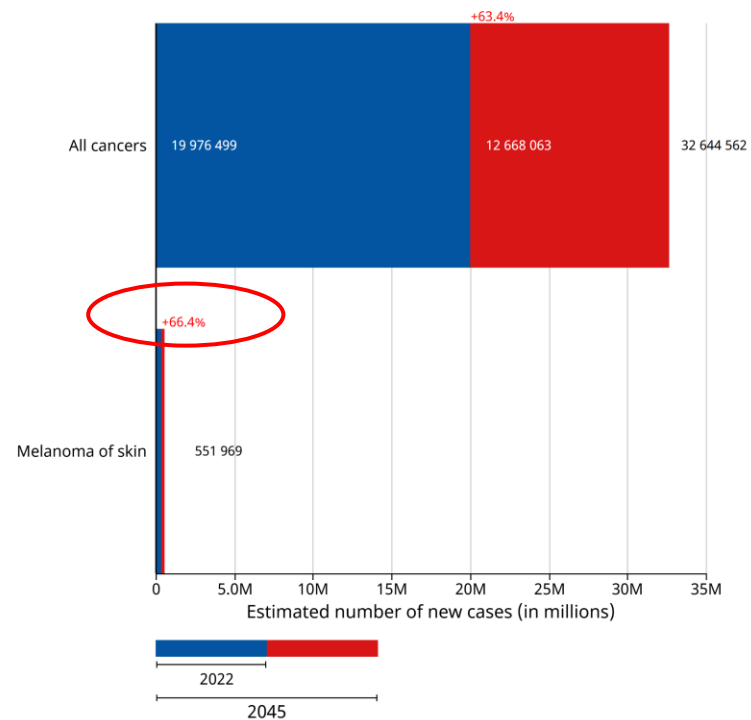
Ukupni proračun: 118.950 EUR

Melanom



• **Globalno opterećenje (2022)** - prema podacima International Agency for Research on Cancer (GLOBOCAN 2022):

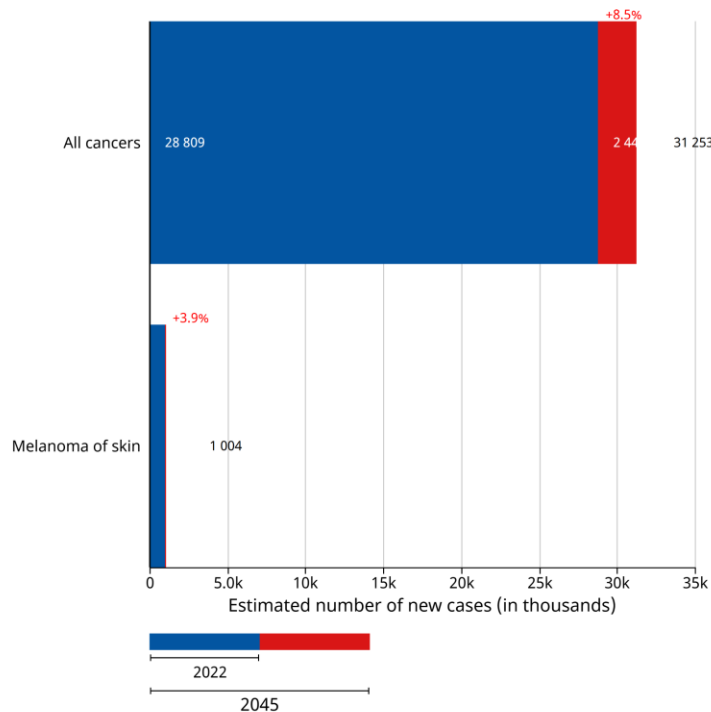
- ≈ **332.000** novooboljelih
- ≈ **59.000** smrtnih ishoda
- Melanom čini <1 % svih kožnih tumora, ali uzrokuje gotovo 90 % smrti od raka kože.



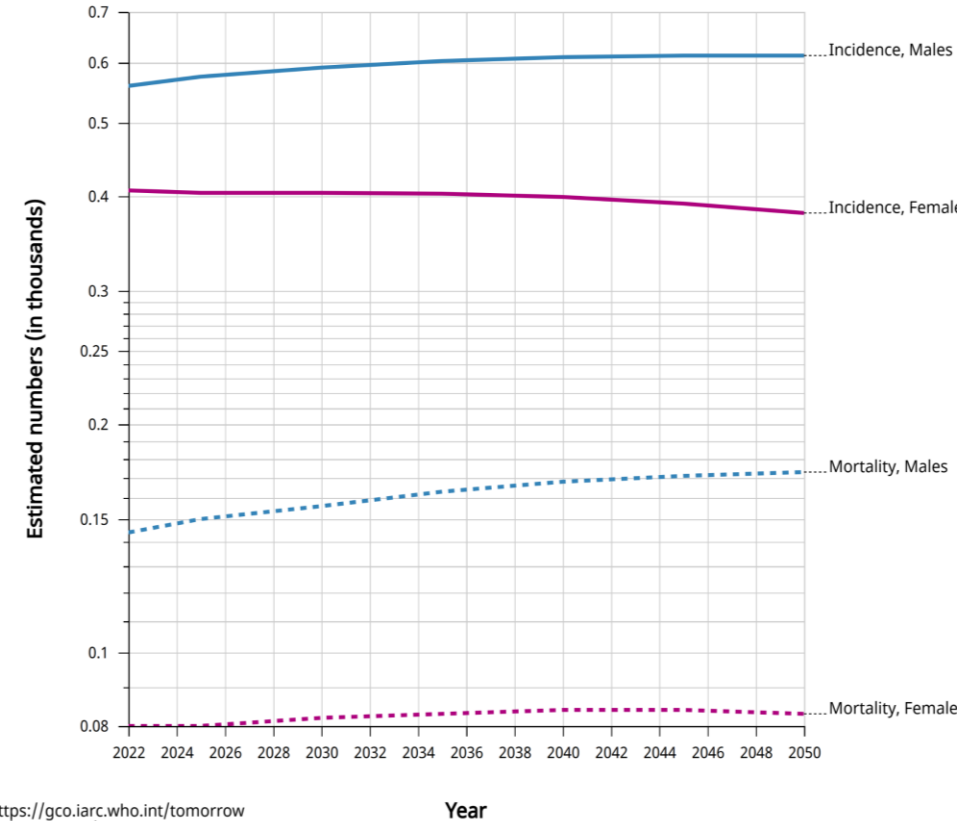
Melanom

- **Hrvatska**
 - Prema podacima Hrvatski zavod za javno zdravstvo – Registar za rak RH (2023):
 - **900–1.000 novih slučajeva godišnje**
 - **200–250 smrtnih ishoda godišnje**
 - kontinuirani porast incidencije

Estimated number of new cases from 2022 to 2045, Both sexes, age [0-85+]
Croatia

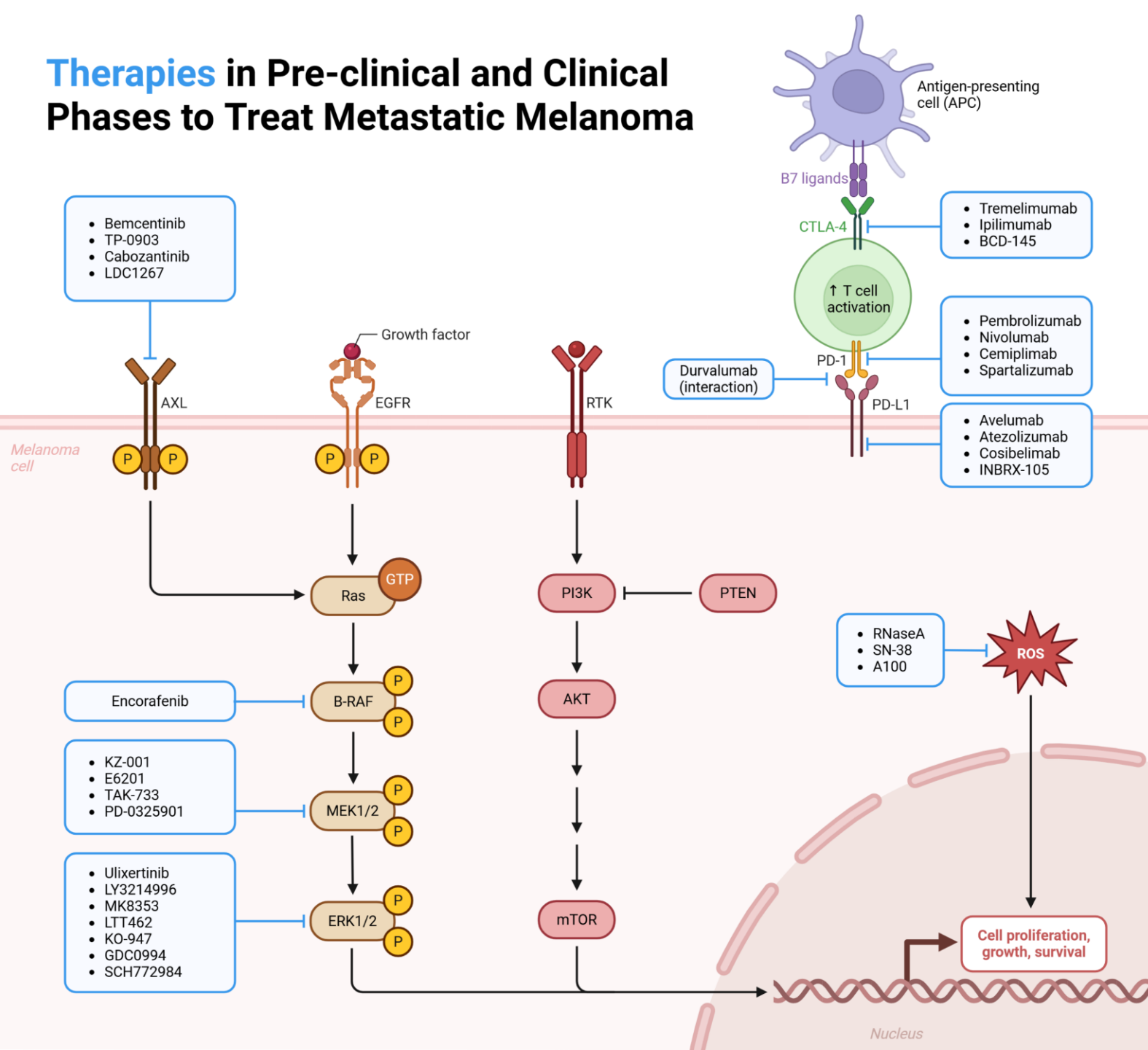


Estimated numbers from 2022 to 2050, Males and Females, age [0-85+]
Croatia



Cancer Tomorrow | IARC - <https://gco.iarc.who.int/tomorrow>
Data version : Globocan 2022 (version 1.1)
© All Rights Reserved 2026

Therapies in Pre-clinical and Clinical Phases to Treat Metastatic Melanoma



Translacija molekularnih uvida- ciljana i biološka terapija

ciljana terapija: BRAF i MEK inhibitori

Biološka imunoterapija – inhibitori kontrolnih točaka:

anti-CTLA4, anti-PD1, anti-PD-L1

Terapijska rezistencija potaknula potrebu za dubljim uvidom u heterogenost tumora, funkcionalna stanja i fenotip TIL-a i višestanični mikrookoliš.

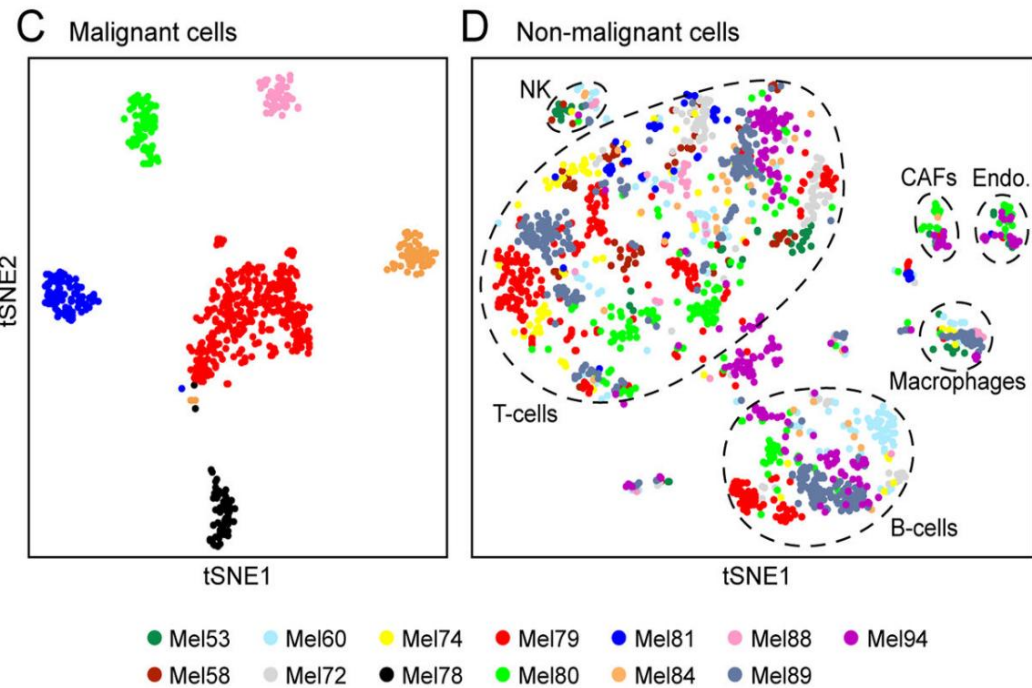
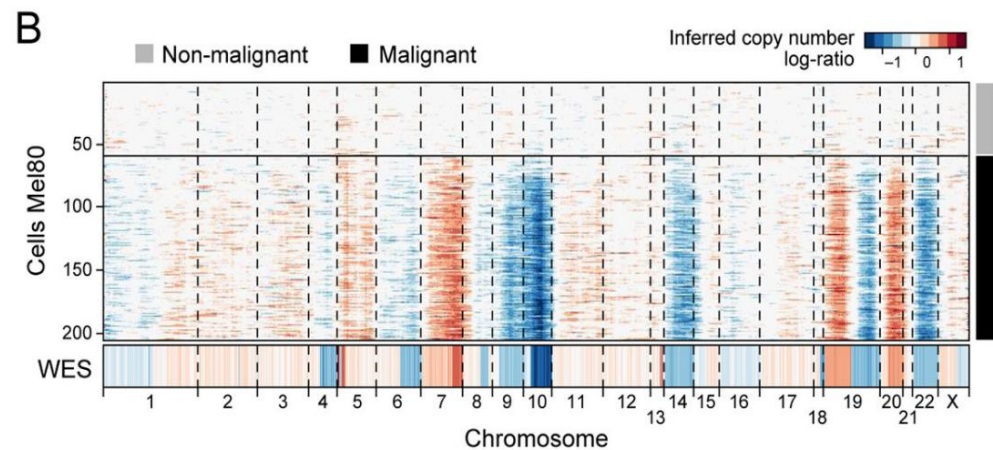
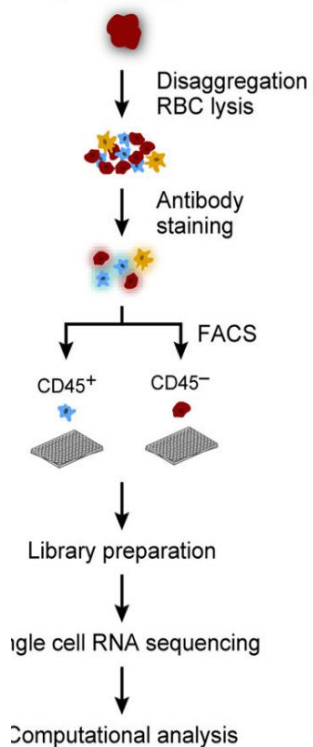
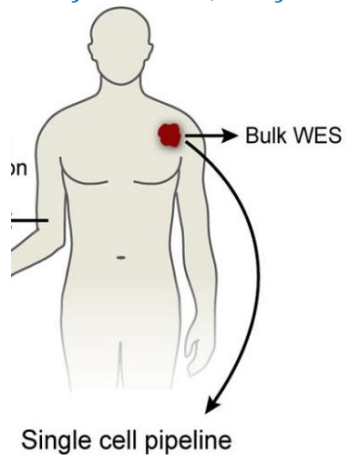
scRNA-seq – sveobuhvatniji uvid u melanom

- Tumorski mikrokoliš – složena funkcijska mreža
 - tumorskih
 - heterogene populacije invazivnih „stem-like“, i visoko proliferativnih melanocita, uključujući varijante rezistentne na BRAF/MEK inhibitore
 - stromalnih
 - upalni fibroblasti (CAF – cancer associated fibroblasts), endotelne i perivaskularne stanice koji sudjeluju u kemotaksiji i modulaciji imunskih stanica
 - imunskih stanica
 - tumor-infiltrirajući limfociti (TIL), B-stanice, NK, makrofagi

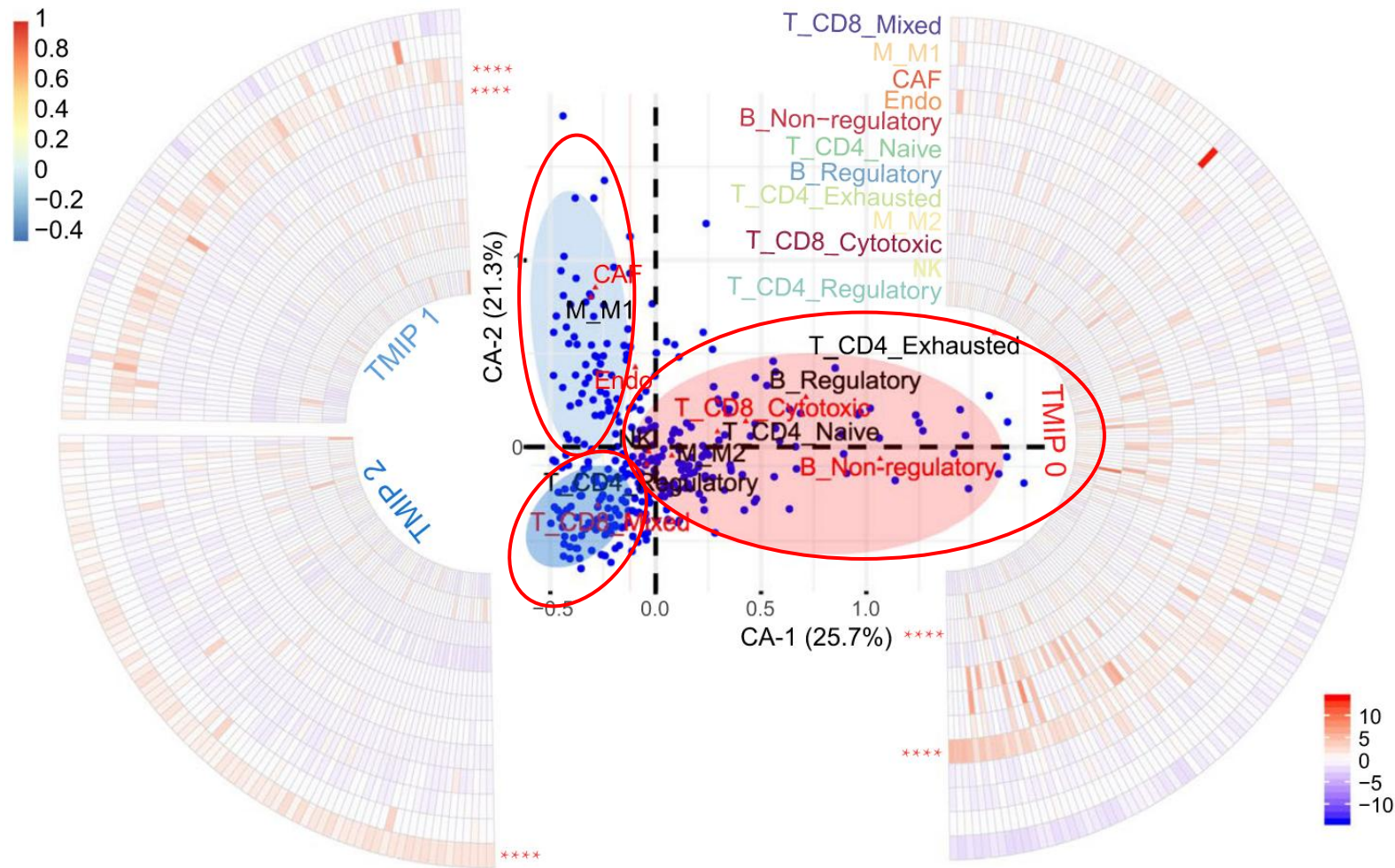
> Science. 2016 Apr 8;352(6282):189-96. doi: 10.1126/science.aad0501.

Dissecting the multicellular ecosystem of metastatic melanoma by single-cell RNA-seq

Itay Tirosh¹, Benjamin Izar², Sanjay M Prakadan³, Marc H Wadsworth 2nd³, Daniel Treacy¹,



B



> BMC Immunol. 2023 Dec 12;24(1):52. doi: 10.1186/s12865-023-00587-8.

Dissecting cellular states of infiltrating microenvironment cells in melanoma by integrating single-cell and bulk transcriptome analysis

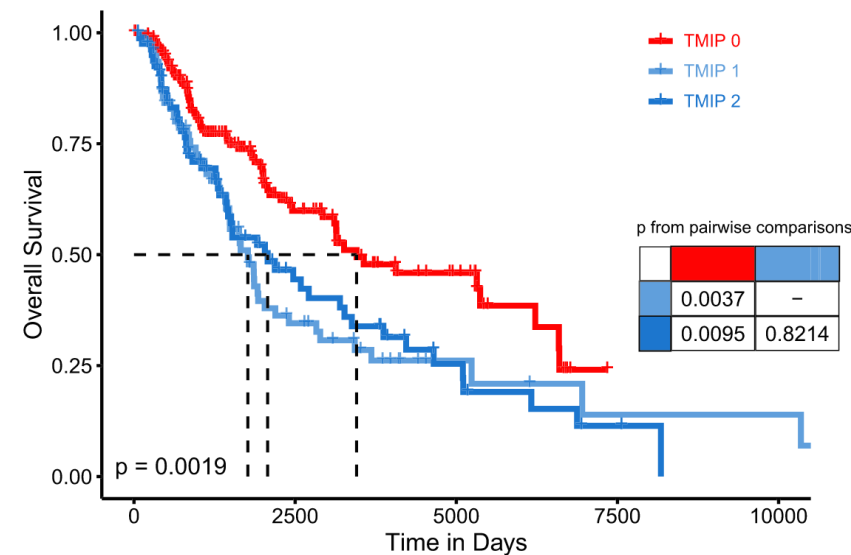
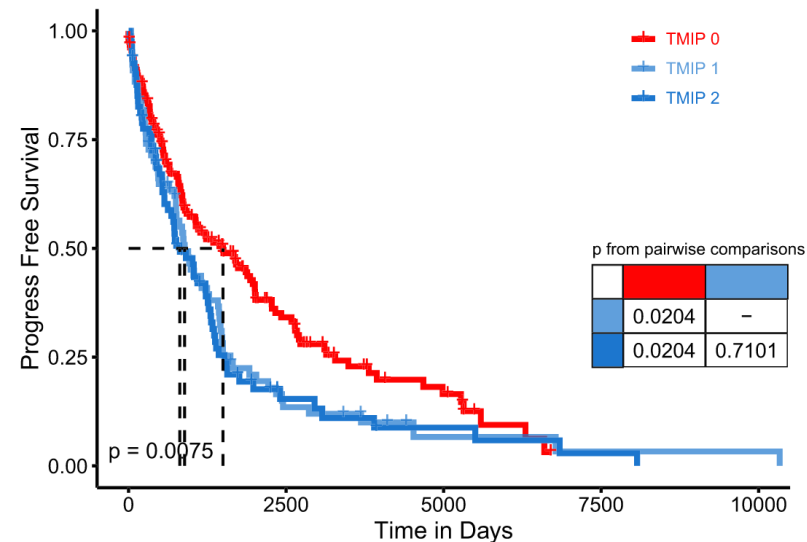
Aiai Shi ^{# 1}, Min Yan ^{# 2}, Bo Pang ^{# 3}, Lin Pang ³, Yihan Wang ³, Yujia Lan ³, Xinxin Zhang ³, Jinvan Xu ⁴, Yanvan Pina ⁵, Jinq Hu ⁶

- **TMIP 0 – “immune hot / active”**
- Obilježja: aktivan protumorski imunološki odgovor
 - B_Non-regulatory ↑ i T_CD8_Cytotoxic ↑
 - T_CD8_Mixed ↓ i CAF ↓
- **TMIP 1 – “immune cold / suppressive”**
- Obilježja: stromalno-dominantan, imunosupresivan mikrokoliš
 - CAF ↑ i Endo ↑ – aktivirani fibroblasti, TGF-β signalizacija, endotelne stanice i angiogeneza ↑
 - B_Non-regulatory ↓ i T_CD8_Cytotoxic ↓
- **TMIP 2 – “immune cold / exhausted”**
- Obilježja: T-stanična iscrpljenost
 - T_CD8_Mixed - PDCD1/PD-1, LAG3, TIGIT, HAVCR2/TIM-3 – iscrpljeni fenotip) ↑↑
 - T_CD8_Cytotoxic ↓ i CAF ↓

Imunološki fenotip tumorskog mikrokoliša

Prognostički potencijal i odgovor na terapiju po TMIP

- Prognostički potencijal TMIP fenotipova
 - TMIP 0 (immune hot/active) → najpovoljnija prognoza
 - TMIP 1 (immune cold/suppressive) → lošiji OS
 - TMIP 2 (immune cold/exhausted) → najlošiji PFS i OS
- → TMIP 1 i TMIP 2 povezani s povećanim rizikom progresije i smrti u odnosu na TMIP 0 (neovisno o dobi, spolu i stadiju tumora).
- Odgovor na anti-PD-1 terapiju
 - TMIP 0 → najveća stopa odgovora (≈70–85%)
 - TMIP 1 → umjeren odgovor
 - TMIP 2 → najniža stopa odgovora (≈30–35%)



Nepoznato o poznatome

- Iako su molekularni i imunološki obrasci uznapredovalog melanoma dobro opisani, **rana evolucija bolesti ostaje nedovoljno razjašnjena.**
- Nepoznanice uključuju:
 - kako se mutacijsko opterećenje i transkriptomski profil mijenjaju kroz rane stadije?
 - kako se oblikuje i mijenja TIL fenotip, funkcionalnost i TCR repertoar od benignih lezija do metastatske bolesti?
 - kako imunoterapija mijenja klonalnu dinamiku i funkcionalno stanje TIL populacija?
 - možemo li integracijom molekularnih i imunoloških podataka razviti modele rane stratifikacije rizika i predikcije terapijskog odgovora?

Ciljevi

- **Glavni cilj:**

Integriranom analizom **mutacijskog opterećenja, ukupnog transkriptoma i TCR repertoara u parnim uzorcima istih bolesnika** (osunčana koža → benigni nevus → invazivni → metastatski melanom) identificirati **rane molekularne i imunološke promjene koje pokreću evoluciju melanoma**.

- **Specifični ciljevi**

1. Mapirati rane molekularne promjene analizom somatskih mutacija i transkriptoma kroz sukcesivne stadije lezija istog pacijenta.
2. Definirati dinamiku TIL populacija – fenotipsku, funkcionalnu, prostornu i klonalnu raznolikost te promjene TCR repertoara tijekom progresije bolesti.
3. Procijeniti učinak imunoterapije na fenotip, funkcionalnost i klonalnu ekspanziju TIL stanica.
4. Integrirati molekularne, imunološke i kliničke podatke radi razvoja prognostičkih i prediktivnih modela za ranu stratifikaciju rizika i optimizaciju terapije.

Metodologija

1



Prikupljanje arhivskih podataka (Klinički zavod za patologiju i sudsku medicinu KBCO)



Sinteza baze podataka

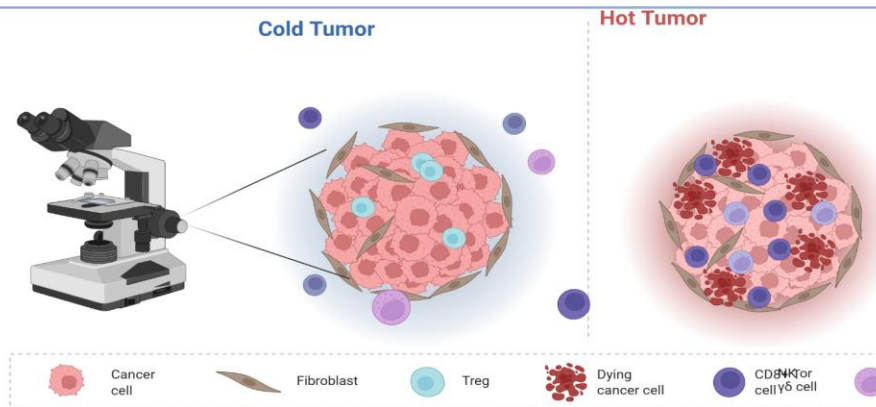


Probir arhivskih kocki melanoma (stadij I ili II)

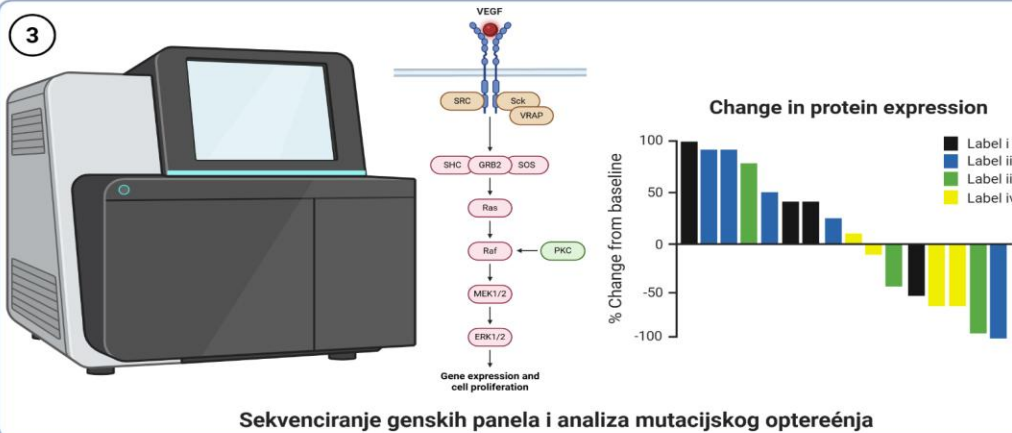


Izuzimanje parnih uzoraka osunčane kože i/ili benignih nevusa (n=24)

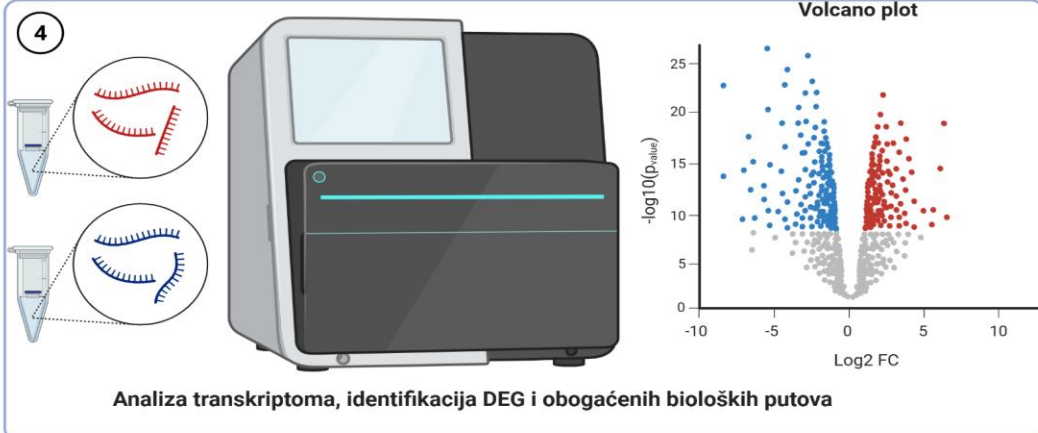
2



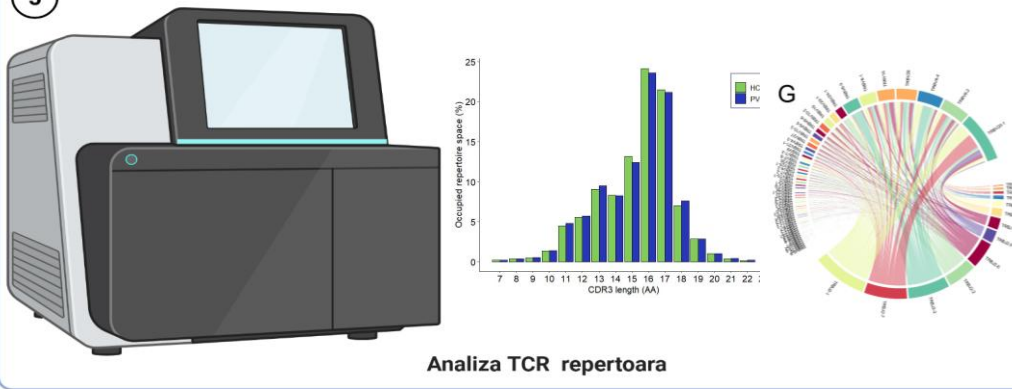
3



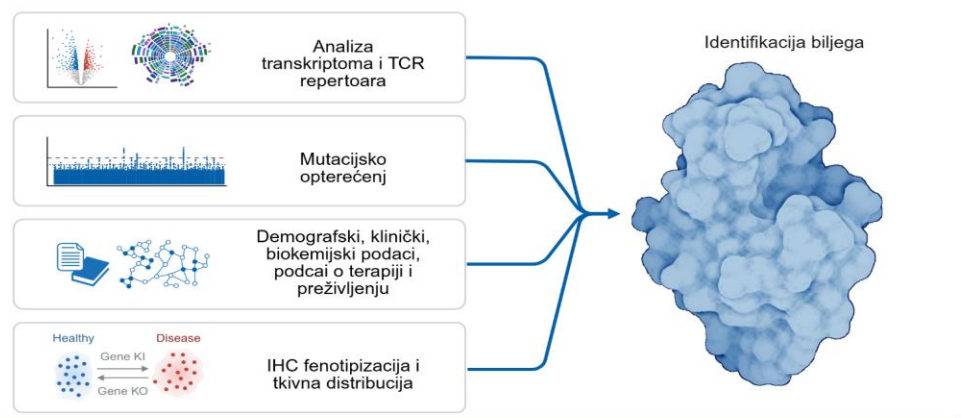
4



5



6



Hodogram MEL-TREC 581-UNIOS-83

10/2025

02/2026

06/2026

10/2026

02/2027

06/2027

10/2027

02/2028

06/2028

10/2028

02/2029

06/2029

10/2029

1. godina

Pregledavanje arhive FFPE tkiva
Prikupljanje kliničkih podataka
Probir parafinskih kocki i regrutiranje ispitanika
Optimizacija postupaka izolacije DNA i RNA iz FFPE rezova i IHC TIL
Organizacija simpozija iz područja dermatoonkologije
Objava prikupljenih epidemioloških podataka i rezultata IHC analize

2. godina

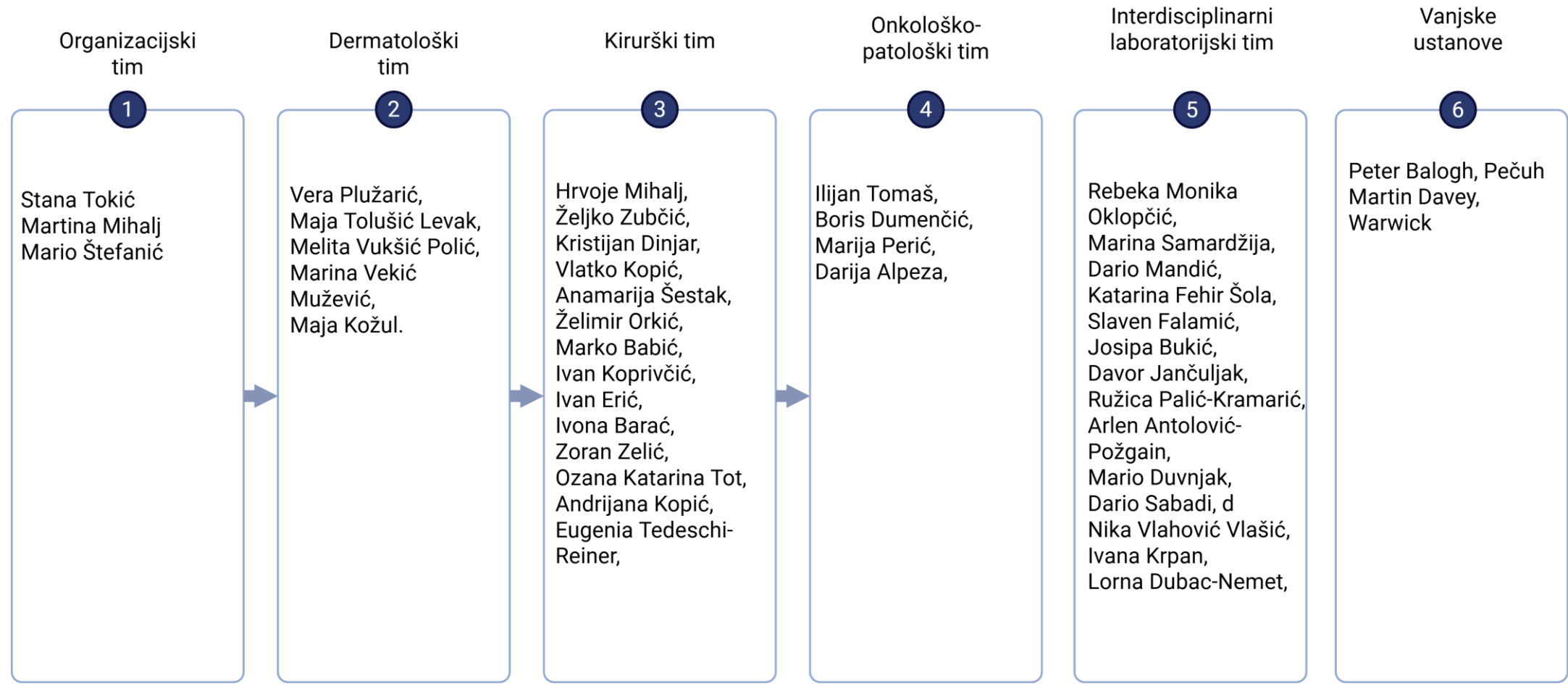
Pohađanje međunarodne bioinformatičke radionice
NGS analiza mutacijskog opterećenja
NGS analiza transkriptoma
Bioinformatička obrada podataka
Diseminacija rezultata na međunarodnom kongresu i objava 2 znanstvena rada

3. godina

TCR-seq analiza
Integrativna bioinformatička i statistička obrada mutacijskog opterećenja, transkriptoma i TCR repertoara
Diseminacija rezultata na međunarodnom kongresu i objava 1 rada
Obrana teme 1. doktoranda

4. godina

Validacija biljega kandidata qPCR u neovisnim uzorcima
Korelacijska analiza svih molekularnih podataka
Prijedlog modela za ranu stratifikaciju rizika
Obrana teme 2. doktoranda
Diseminacija rezultata na međunarodnom kongresu i objava 3 rada



Hvala na pažnji



Financira
Europska unija
NextGenerationEU

