
Kmoch: Naše metoda celé testování zjednoduší a zrychlí

Kmoch: Naše metoda celé testování zjednoduší a zrychlí

Profesor Stanislav Kmoch se již třicet let věnuje výzkumu vzácných onemocnění. V současné koronavirové pandemii poznatky z jeho laboratoře výrazným způsobem přispěly k vývoji nového postupu pro diagnostiku covid-19 a další virová onemocnění. „Je to vedlejší, ale hezký výsledek našeho dlouholetého výzkumu vzácných onemocnění,“? popisuje prof. Kmoch vznik univerzitního spin-offu GeneSpector.



Jak souvisí výzkum vzácných onemocnění a testování na koronavirus?

Vzácná onemocnění jsou specifická tím, že studujete omezený počet pacientů, kteří žijí na různých mnohdy velmi izolovaných a vzdálených místech. To znamená, že vzorky, které zkoumáme, k nám do laboratoře putují někdy velmi dlouho a často i přes půl planety. Je jasné, že takový vzorek musíme vhodným způsobem ošetřit, aby se biologicky nezneškodnil a vydržel dlouhou cestu za nejrůznějších podmínek. Navíc vzorky jsou od lidí z celého světa, kteří mohou trpět nejrůznějšími nemocemi, a tedy jsou potenciálně infekční. Z těchto důvodů jsme si vyvinuli způsob odběru a transportu takovýchto vzorků.

Chápu, že složení roztoku je výrobním tajemstvím, ale je viRNAtrap něčím unikátní?

Ano, je. Přestože je zdánlivě připraven z běžně dostupných „surovin“, jeho přesná receptura je výsledkem našich dlouholetých znalostí a zkušeností. U nás v laboratoři jsme ho už vyrobili a použili litry. Máme obrovskou výhodu, že historicky jsme si tu řadu věcí museli připravit sami za využití běžných postupů a principů molekulární biologie. Víme, co a jak funguje, proč jsou dané látky v roztoku důležité. Už jsme u nás takto vyvinuli nebo vylepšili řadu podobných metod. Je smutným trendem, že řada laboratoří dnes pracuje s komerčními kity, kde mají roztok A a B a přesně daný návod, nad kterým nemusí přemýšlet. Netuší, co se tam chemicky děje.

Jak se vaše laboratoř dostala k testování na koronavirus?

Byli jsme s dcerou (*Tereza Kmochová – úspěšná lyžařka a studentka UK – rozhovor si můžete přečíst [zde](#) – poz. red.*) na Světovém poháru ve Švédsku, kde nás zastihla přicházející pandemie a uzavírání hranic. Těžce jsme se dostávali domů a já jsem musel do čtrnáctidenní karantény. Byla to doba, kdy všichni akademici začínali testovat. A ozval se mi soused, kolega a kamarád, profesor Zdeněk Kleibl, zda nepomůžeme s testováním Všeobecné fakultní nemocnici v Praze. To mi dávalo smysl, pomoci ochránit pacienty, zdravotnický personál, a pracovníky laboratoří, kteří najednou museli zpracovávat velký objem potenciálně vysoce infekčních vzorků.

Jak konkrétně jste pomáhali?

Na začátku epidemie byl kritický nedostatek jednotlivých komponent diagnostického procesu – odběrových zkumavek, štětiček, kitů na izolaci RNA, spotřebního plastu a chemikálií na PCR analýzu. V první fázi jsme poskytli kolegům ve Všeobecné fakultní nemocnici náš odběrový roztok. Ten virus okamžitě zneškodní a vzorek se stává neinfekčním. Se vzorkem se dá dále pracovat v podmínkách běžné laboratoře. To je velká pomoc pro laboratorní pracovníky.



Odběrový roztok je navíc kompatibilní se všemi typy odběrových štětiček a použitelný pro všechny typy následné izolace virové RNA. Očekávali jsme též, že bude nutné postupně analyzovat velké množství vzorků. Tak jsme kolegům k testování poskytli našeho robota a optimalizovanou metodu izolace RNA pomocí magnetických kuliček. Do vývoje metod a testování bylo od nás zapojeno asi 10 lidí. Celý postup jsme také dále optimalizovali a ve výsledku jsme celý test výrazně zrychlili – z původních pěti hodin na méně než hodinu. Mám tu skvělý tým lidí, jsou hloubaví, přemýšlí nad tím co dělají; když jde něco vylepšit, zkrátit, zmenšit objem – udělají to. I díky tomu jsme během velmi krátké doby mohli tyto metody nabídnout.

Jak z testování pro nemocnici vznikl GeneSpector?

Šťastnou shodou okolností. Já jsem byl stále v karanténě a pracoval jsem na článku, na kterém se kdysi jako Ph.D. student podílel i Michal Pohludka (*jednatel společnosti GeneSpector – poz. red.*). Psal jsem mu kvůli tomu článku a mezi řečí jsem zmínil, že testujeme na koronavirus. Což v té době intenzivně řešil i on. Napsal jsem mu, jak to dělají, že my jsme tu optimalizovali nový, rychlejší a bezpečnější postup a že by to také mohli využít. Velmi ho to zaujalo, začali jsme se o tom bavit, poskytl jsem mu vzorky k vyzkoušení... A tak začal vznikat GeneSpector.

- [GeneSpector představil kity pro diagnostiku chřipky a covid-19](#)

Co to pro vás znamená osobně?

Je to takový vedlejší, ale moc příjemný výsledek našeho dlouholetého výzkumu vzácných onemocnění. Jsem rád, že naše metoda chrání laboratorní personál a že jsme celý postup testování zjednodušili a zrychlili. Fázi komercializace už ale nechávám jiným. Zároveň se tu ale také otvírá velký prostor pro další výzkum – při testování získáváte velké množství stabilních vzorků. Test tak můžete například zopakovat, ale především můžete následně studovat mnoho dalších věcí – ve stěru je krom koronaviru i mnoho dalších virů a bakterií a také RNA hostitele – člověka.

Jaké další možnosti výzkumu to přináší?

U pozitivních vzorků můžete například sledovat přítomnost dalších patogenů, to by mohlo vysvětlovat, proč u někoho je infekce bez příznaků a někdo má velmi závažný průběh. To známe už u epidemie španělské chřipky, kdy většina úmrtí nebyla způsobena samotným virem, ale následnou pneumokokovou infekcí v kombinaci s podvýživou. Dále podle nejrozličnějších molekulárních znaků můžete hledat, proč se liší průběh infekce nebo jak je možné, že se virus najde jen u jednoho z manželů žijících ve společné domácnosti. A tak bych mohl dlouho pokračovat. Trochu mě mrzí, že není více takových studií, máme již mnoho pozitivně testovaných lidí, klinických dat a myslím, že jsme se mohli o přirozeném průběhu onemocnění dozvědět mnohem více.

Plánujete se tomu věnovat?

Lákalo by mě to, ale máme omezené kapacity a jiné výzkumné projekty, kterým se musíme věnovat. Určitě ale nové poznatky využijeme po metodické stránce – vyzkoušeli jsme si, že ze stěru z nosohltanu získáme epitelové buňky, které můžeme využít při našem výzkumu. Díky tomu budeme moci například v některých případech nahradit i biopsii ledvin.

Jak jste se dostal ke studiu vzácných onemocnění?

Vlastně náhodou. Po studiu na VŠCHT jsem začal pracovat u profesora Hyánka v Laboratoři metabolických poruch. Myslel jsem si na chvíli, naplánovanou jsem měl totiž kariéru lyžaře. Ale chytlo mě to a už jsem zůstal.

Vzácná onemocnění:

- Podle definice se jako vzácné označuje onemocnění, které má v populaci méně než 1 pacient ze 2 tisíc.
- Klinicky je popsáno přibližně 8 tisíc různých vzácných onemocnění.
- Jedná se o klinicky velmi heterogenní skupinu onemocnění, projevující se v různém věku, postihující v různých kombinacích různé orgány, v řadě případů mají naprosto unikátní klinické příznaky
- Na každých 30–50 lidí v populaci připadá 1 pacient s vzácným onemocněním. Na světě je tedy přibližně 350 milionů pacientů trpících nějakým vzácným onemocněním. Společně by tvořili třetí nejlidnatější stát na světě.
- 90 % onemocnění je geneticky podmíněna. Jedná se většinou o klinicky závažná, život ohrožující či omezující onemocnění.
- 60–70 % pacientů se nedožije pěti let věku, u řady pacientů se ale onemocnění projeví až v dospělosti.
- Existuje zvýšené riziko opakovaného výskytu u přímých příbuzných – dětí, sourozenců.

Proč je důležité studovat vzácná onemocnění?

Příroda nám odhalí nejvíce tajemství tehdy, když nefunguje tak, jak má naplánováno. Když chcete pochopit, jak funguje složitý přístroj, který má mnoho součástí, tak můžete postupně jednotlivé součástky odstranit a sledovat, co se s funkcí přístroje stane. Takové naše součástky jsou jednotlivé geny. Na buněčných a zvířecích modelech můžeme odstranit konkrétní gen a sledovat, co se stane, ale to samozřejmě nejde u člověka.

Ale můžeme sledovat to, co „porouchá“ sama příroda...

Přesně tak. Málodky je to ale jasná odpověď – tento gen funguje/nefunguje – většina nemocí je způsobena mírnou mutací genu, která má za následek, že něco částečně nefunguje, a to způsobuje komplikace. Díky studiu vzácných onemocnění chápeme funkce jednotlivých genů a vzájemné souvislosti. Většina zásadních objevů a konceptů v genetice a molekulární biologii pochází ze studia vzácných onemocnění.

Jak probíhá studium vzácných onemocnění?

Na začátku máme klinické příznaky pacienta a snažíme se dopátrat příčiny problémů. V současnosti to znamená, že přečteme sekvenci jeho genomu, porovnáme ji s databází a zjistíme, kde se sekvence pacienta liší od ostatní populace. To je dnes již poměrně rutinní DNA diagnostika a provádí ji mnoho pracovišť po celé ČR. K nám se dostanou jen ty komplikované a „detektivní“ případy. Ale i u nich se většinou, dříve nebo později, dopátráme příčiny onemocnění. To je ale jen začátek příběhu.

Co následuje?

Začíná výzkum v tom pravém slova smyslu, kdy pátráme po dalších buněčných souvislostech nemoci. A někdy se podílíme i na hledání vhodného terapeutického postupu. U některých metabolických poruch, například fenylketonurie, je léčba poměrně snadná pomocí dietických opatření, ale takových nemocí je bohužel málo.



Kolik různých projektů u vás v laboratoři řešíte?

Mnoho. Spolupracujeme s řadou klinických pracovišť – s neonatologym, pediatriem a dále když půjdu od shora dolů (*ukazuje na své tělo*) spolupracujeme s neurologym, s Petrou Liškovou, která se věnuje geneticky podmíněným onemocněním očí, intenzivně spolupracujeme s kardiologym z IKEM a II. interní kliniky. Velký a úspěšný projekt máme v oblasti dědičně podmíněných onemocnění ledvin a také jater a střeva; metodicky jsme ve spolupráci s prof. Kleiblem zapojeni i do výzkumu v oblasti onkologie. A nesmím opomenout spolupráci s patology, kteří shromažďují mnoho zajímavých onemocnění.

Jak se vám podařilo navázat tolik klinických spoluprací?

To nám umožňuje prostředí fakultní nemocnice, kde má k sobě věda a klinika blízko. Vidím v tom velkou perspektivu a přidanou hodnotu pro obě strany. Jedná se o vzájemnou spolupráci – klinik nemusí pracovat v laboratoři a vědec nemusí být v nemocnici u pacienta, ale společně tvoří poznání. Je mým snem, aby takové propojení klinického a teoretického Ph.D. bylo naprosto běžné.

Jaké jsou největší limitace současného studia vzácných onemocnění?

Necítím, že bychom měli nějaké zásadní limitace. Máme skvělé přístrojové vybavení, motivované a zvědavé lidi, přátelské prostředí a mnoho produktivních spoluprací. Snad jen mít více lidí, kteří jsou samostatní a schopní začít a řídit vlastní projekty. Mé kapacity jsou omezené. Vlastně pro některé lidi je limitací, že se vzdají předčasně. Je důležité vydržet, největší objevy jsou často tam, kde se práce dlouho nedaří a problém vypadá složitě.

Jak se změnil váš obor za posledních pár let?

Zcela zásadně. Technologický a metodologický pokrok, například rozvoj sekvenování, kdy jsme relativně rychle a levně schopni osekvenovat celý genom, proměnil celý obor. Díky tomu jsme teď schopni vyřešit některá onemocnění třeba i po patnácti letech.

Lze v blízké době očekávat nějakou podobnou revoluci?

To se těžko odhaduje, ale myslím, že teď chvíli ne. V současné době nejsme limitováni instrumentálně nebo metodicky, ale intelektuálně. Bude nám ještě chvíli trvat, než se naučíme uvažovat a myslet v rozměru genomu, komplexních buněčných systémů a umět plně využívat a interpretovat všechna data získávaná sekvenováním a umět je aplikovat v klinické praxi.

Prof. Ing. Stanislav Kmoch, CSc.

Působí na Klinice dětského a dorostového lékařství 1. lékařské fakulty UK a Všeobecné fakultní nemocnici v Praze. Je vedoucím Národního centra lékařské genomiky, které zabezpečuje provoz nejmodernějších sekvenačních platform a návazných technologických zařízení pro analýzu lidského genomu a umožňuje kvalifikované využívání těchto technologií v biomedicínském výzkumu a translační medicíně v ČR. V biomedicínském centru BIOCEV je vedoucím výzkumného programu Vývoj léčebných a diagnostických postupů. Má za sebou desítky projektů a 30 let zkušeností s vývojem nových diagnostických metod, které byly postupně zaváděny do klinické praxe.