

# PERSONALIZOVANÁ DIAGNOSTIKA NESMIE BYŤ IBA NEJAKÝM „ROLLS-ROYCEOM“,

*ale musí byť plošne dostupná pre všetkých*

Študoval chémiu a biochémiu na University of Iceland a University of Washington. Pôsobil v Laboratóriu bunkovej a molekulovej biológie v Spojených štátoch amerických a podieľal sa na výskume v oblasti vývoja molekulárnych diagnostík a prognostík nádorov, ako aj na vynájdení diagnostickej technológie na vizualizáciu mikroRNA v bunkách a tkanivách. Tvrdí, že základom úspešnej liečby je presná diagnostika a personalizovaná liečba, ktorá však musí byť dostupná pre každého, bez ohľadu na to, koľko zarába.

O diagnostike a nových možnostiach liečby rakoviny sme sa rozprávali s Pavlom Čekanom, vedcom a zakladateľom jednej z najinovatívnejších spoločností zaoberajúcej sa personalizovanou molekulárnou diagnostikou.

**Ako sa zrodil nápad pre MultiplexDX a prečo ste sa rozhodli riešiť práve diagnostiku rakoviny?**

Nápad nevznikol na základe mojej osobnej skúsenosti s chorobou. Keby som sa rozhodol podľa toho, asi by som sa venoval neurologickým ochoreniam, pretože som v minulosti jedno vážne prekonal. Tým, že som počas svojej kariéry prechádzal mnohými odborními, vedel som, že biotechnológia je to, v čom som dobrý.

Vybrali sme si rakovinu prsníka a rakovinu prostaty. Je to najmä preto, že toto sú dva najfrekvencovanejšie druhy rakoviny. Teraz začíname s rakovinou prsníka, pretože je to najlepšie študovaná rakovina a klinické informácie sú najlepšie a najkomplexnejšie. Čo sme však primárne riešili pri zakladaní firmy bolo, že rakovina je na Slovensku obrovský problém. Bohužiaľ, čo sa týka úmrtí na rakovinu prsníka, patria nám tie najvyššie priečky v Európe.

**Myslíte si, že problém je práve v diagnostike?**

Ide o kombináciu rôznych faktorov. Viete, máme tu určité zlaté štandardy. Čo je ale zlatý štandard pre slovenský systém, už možno nie je zlatým štandardom pre americký, britský alebo austrálsky systém. Je to aj kombinácia toho, že na Slovensku nemáme moder-

*„Nemáme modernejšiu diagnostiku, modernú včasnú detekciu, experimentálna liečba je tiež neznáma, prevencia chýba a pacientom sa nechce chodiť na preventívne prehliadky.“*

*Problémom je aj nedôvera pacienta v lekára, nedôvera systému v lekára, nedôvera lekára v systém.“*

*„Čo sa týka úmrtí na rakovinu prsníka, patria nám tie najvyššie priečky v Európe.“*

nejšiu diagnostiku, modernú včasnú detekciu, experimentálna liečba je tiež neznáma, prevencia chýba a pacientom sa nechce chodiť na preventívne prehliadky. Problémom je aj nedôvera pacienta v lekára, nedôvera systému v lekára, nedôvera lekára v systém, atď.

Ročne na Slovensku zomrie na rakovinu takmer 15 000 ľudí, čo je vyššie percento na počet obyvateľov ako v USA alebo v Západnej Európe, a to je obrovský problém. Takže, či existuje dôvod pre novú diagnostickú firmu na Slovensku? No mal by.

**Na akom princípe funguje vaša technológia?**

Pri našom diagnostickom teste je hlavná esencia v tom, že sa snažíme kvantifikovať a detegovať RNA. Má to absolútnu logiku, pretože iba pri RNA vieme skúmať dvomi základnými technológiami, ak sa bavíme o tkanive.

Jedna je, že vizualizujeme tkanivo, vizualizujeme a kvantifikujeme relevantné RNA molekuly v rámci tkaniva a tým pádom vidíme jeho morfológiu – heterogenitu tumoru. Druhá je sekvenčná technológia. Začína sa extrakciou RNA z rovnakého tkaniva a znova kvantifikáciou relevantných RNA cieľov. Analýzou RNA získame aj relevantnú genetickú informáciu, ak ju potrebujeme k diagnostike. Čiže všetko, čo vieme urobiť v oblasti genetiky alebo proteínovej diagnostiky, vieme súčasne urobiť na RNA. Zároveň, tým, že kvantifikujeme RNA, priamo analyzujeme génovú expresiu, čo pri genetickom teste nevieme. Pri genetike síce vieme analyzovať napríklad mutáciu, ale nevieme či má vôbec nejaký vplyv. V našom riešení je presná kvantifikácia RNA biomarkeru. Tým, že sa na to pozeráme z 2 technologických uhlov, tak si výsledky – či už z vizualizácie alebo sekvenácie – vieme porovnať. Ak nie sú presné, vieme, že niekde nastala chyba a musíme sa k tomu vrátiť. Ak výsledky sedia, vieme, že testy sú správne a získaná kvantifikácia vyústi v určitý klinický parameter a ten sa má pretaviť do konkrétnej liečby. Samozrejme, nechcem teraz povedať, že RNA je jediný správny biomarker, ale je to určite biomarker, na ktorý by sa mala diagnostika rakoviny zamerať.



### **Na čo sa diagnostika zameriava v súčasnosti?**

Úplne zlatý štandard je detekcia proteínov. Ide o analýzu na zafarbených tkanivách alebo detekciu proteínových biomarkerov v krvi. Tento spôsob je ale veľmi chybný. Napríklad, HER2 je veľmi dôležitý biomarker, podľa ktorého sa nastavuje onkologická liečba. Videl som

však napríklad správy, kedy bola pacientka diagnostikovaná HER2- a o pár dní bola diagnostikovaná HER2+. To jednoducho nie je možné. Ide o jasnú chybu. Keď neviete, ktorá diagnóza je správna, tak nastavíte liečbu, ktorá nemusí vôbec fungovať. Použitím diagnostickej metódy kvantifikujúcej RNA dvoma krížovo validovanými technológiami vieme túto chy-

bu opraviť. Potom existujú modernejšie genetické testy, ktoré dokážu zistiť mutáciu. Napríklad, pri rakovine prsníka, keď sa zistí, že pacientka má BRCA1/BRCA2 mutáciu, vieme, že ide o spúšťač určitého druhu rakoviny. Tomu sa dá predísť tým, že sa sa urobí plastika prs.

Veľmi dôležitý proteín pri DNA replikácii opravujúci chyby pri mutáciách je p53, avšak v prípade, že nefunguje správne, jeho mutácia spôsobí hypermutovaný tumor. A ten patrí medzi najagresívnejšie. V takomto prípade je veľmi dobré indikovať doxorubicín zabíjajúci všetky bunky, ktoré sa veľmi rýchlo delia. Tento liek je však veľmi agresívny aj pre zdravé biele krvinky. Pre túto mutáciu ale znamená takmer cielenú liečbu.

Otázkou teda je, ak tieto informácie nemáte, akú liečbu nastavíte? Genetické testy sú veľmi dôležité, ale máme z nich veľmi limitované informácie. My chceme prísť s RNA, čiže akoby prepojiť výhody genetiky a analýz proteínov dokopy.

### **Prináša so sebou RNA diagnostika aj konkrétne problémy?**

Každá, aj tá najmodernejšia diagnostická metóda, má určité problémy. U nás je najväčším problémom to, že RNA je v odobratom tkanive nestabilná a veľmi záleží na tom, ako sa tkanivo prezervuje, spracúva a za aký čas sa k nám dostane. Myslím si, že nebudeme úplne vytláčať štandardné diagnostické metódy, ale budeme ich dopĺňať. Príde me s riešením, ktoré bude ďalším prístupom práve k personalizovanej liečbe. Proteíny sú v tkanive veľmi stabilné. DNA to isté, v jadre bude vždy, pretože je chránená membránou. Čo sa týka RNA, ak je tkanivo nesprávne fixované, pri reze naprieč bunkou môže difúzovať. Ak RNA takpovediac utečie z tkaniva, tak je jej kvantifikácia pri vizualizácii nepresná.

### **Áká je najodvážnejšia vízia MultiplexDX do budúcnosti?**

Chceme vytvoriť sieť servisných laboratórií, ktoré budú malé a čo najbližšie k nemocniciam, k pacientovi, aby vedeli veľmi rýchlo zanalyzovať vzorku. Najlepšie do jedného týždňa. Náš produkt je možné porovnať s Oncotype DX. Ide o veľmi precízny biomarkerový profil rakoviny, podľa ktorého je možné nastaviť liečbu alebo prognosticky informovať, či rakovina bude alebo nebude progresovať. To môže ovplyvniť rozhodnutie, či



nasadiť alebo nenasadiť chemoterapiu. Na rozdiel od Oncotype DX sme odstránili všetky nedostatky vizualizačných a sekvenčných technológií a naša kvantifikácia biomarkerov je 100 % presná. Navyše, ak to porovnáme s IBM Watson, tak pri našom teste ide o experimentálne dáta priamo od pacienta, čiže ide o skutočnú personalizáciu.

***Nestane sa to, že sa z personalizovej diagnostiky stane akoby luxusný tovar pre tých, čo si to môžu dovoliť?***

V zdravotníctve by to nemalo byť o tom, že sa personalizovaná diagnostika stane luxusnou. Prístup k liečbe je v modernej demokracii právo každého občana, bez ohľadu na to, koľko zarába. Preto by zdravie malo byť prístupné všetkým. Keď sa vyvíjajú nové technológie, treba efektívne vplývať na to, aby aj ich cena bola efektívna. Čiže nikdy to nesmie byť iba nejakým Rolls-Royceom. Jednoducho to musí byť niečo, čo je plošne dostupné pre všetkých.

***Prečo je personalizovaná liečba vôbec taká dôležitá?***

Každý z nás je iný a preto by mal byť liečený personalizovane. Každá rakovina má mnoho subtypov, ktoré poznáme a aj tých, ktoré ešte nepoznáme. Liečba ale nie vždy reflektuje konkrétny subtyp.

Personalizovaná terapia je veľmi dôležitá, pretože rieši každý subtyp rakoviny a ešte oveľa viac. Jeden z dôvodov, prečo zatiaľ nevieme ísť po každom jednom subtype je, že nemáme stabilizované a precízne diagnostické testy, aby sme jasne stanovili, o ktorý subtyp ide a zároveň, aby sme došli k nejakej validovanej cieľenej liečbe na daný subtyp. Svojím spôsobom za to môže aj samotný farmaceutický priemysel, ktorý sa v posledných dekádach najviac zaujímal o výskum liečiv. Vývoj nových liekov je síce drahý, ale dá sa na ňom najviac zaradiť. Dostať nový liek na trh môže niekedy stáť aj miliardu dolárov, ale zároveň,

zisky môžu byť násobne vyššie. Nikdy sa poriadne neinvestovalo do diagnostických technológií alebo do masívnych retrovalidácií. Podľa mňa je potrebné zmeniť pohľad na onkologickú liečbu. Jedna vec je účinná farmakoterapia, druhá je aj správna diagnostika. Ide to takpovediac ruka v ruku. Keď nesprávne diagnostikujeme, nemôžeme správne liečiť.

***Áká je podľa Vás budúcnosť liečby rakoviny?***

Myslím si, že potenciál liečby rakoviny nie je v jednej konkrétnej metóde. V liečbe sa využíva chemoterapia, rádioterapia, chirurgické zákroky, elektroliečba, imunoterapia a podobne. Tým, že aj samotných typov rakoviny je veľmi veľa, na každý môže fungovať niečo iné. Napríklad, imunoterapia v dnešnej dobe najlepšie účinkuje na hypermutované tumory, na iné, žiaľ, nefunguje.

Pri rakovine kože je najlepším riešením tumor vyrezať. Každá jedna terapia škodí, ak je príliš agresívna. Osobne by som nič ani nepochválil, nevyňal a ani nezhodnotoval. Prakticky každá forma terapie má svoje miesto aj v zlatom štandarde, aj v personalizovanej liečbe.

***Môže mať MultiplexDX využitie aj pre farmaceutický priemysel a klinické skúšanie?***

Keď lieky prechádzajú klinickým skúšaním, sú testované aj na ľuďoch. V takomto prípade sa musia používať najlepšie diagnostické metódy, aby sa z nich získali najlepšie klinické výstupy a liek mohol byť používaný. Klinické štúdie však nie sú len na to, aby liek validovali, ale sú dôležité aj na to, aby vytvorili určitý medicínsky štandard ako by sa liek mal správne používať.

V mnohých prípadoch sú nádory voči liekom rezistentné. Je to spôsobené práve tým, že keď sa validovali pred 10 – 15 rokmi, technológie neboli na takej úrovni, čiže ani výstupy skúšaní neboli úplne správne. To je dôvodom, že samotné nastavenia liekov nie sú správne a práve preto musí dôjsť k retrovalidácii. A nebudú sa týkať len konkrétne jedného lieku, ale dokonca budú nutné pre efektívnejšie kombinácie liekov. Za pár rokov tu teda budú prebiehať veľmi masívne retrovalidácie, na ktoré by sa mal pripraviť každý, kto vyvíja moderné a precízne diagnostické technológie.

### **Akej vedeckej činnosti ste sa venovali pred založením vlastného projektu?**

Moje prvé projekty boli z oblasti proteínovej biochémie. Skúmal som chladoadaptívny enzým alkalickú fosfatázu z chladomilnej baktérie vibrio cholerae, ktorá sa našla v mori okolo Islandu. Chceli sme prísť na to, či je niekde v jeho štruktúre zapísané, že je to chladoadaptívny enzým alebo či je nejaké praktické využitie takého enzýmu. Napríklad, enzýmy z tresky, ktoré sme skúmali, sa využili v islandskej kozmetike. Neskôr som prešiel na Rockefellerovu univerzitu, a tam som už viac pracoval na vývoji nových diagnostických technológií. Čo sa týka odboru, išlo o RNA biológiu, histológiu a molekulárnu patológiu. Spoznával som ľudské tkanivá, choroby – hlavne rakovinu, moderné diagnostiky, alebo ako sa nastavuje liečba. Rockefellerova univerzita je veľmi zaujímavé miesto, kde symbioticky existujú 3 inštitúty: Rockefellerka, Cornell a Columbia spolu so špičkovým rakovinovým centrom MSKCC.

V tejto viac inštitucionálnej oblasti som zažil najšpičkovejšie výskumy. Už v roku 2010 sme pracovali na sarkónoch, čo je stále neprebádaná rakovina mäkkého tkaniva. Potom som prešiel na národný onkologický ústav v Bethesde, v Marylande. Tam som pracoval v oblasti molekulárnej onkológie a bunkovej biológie. Pestoval som bunky, skúšal som na nich rôzne terapeutické lieky proti rakovine, študoval som bunkový cyklus. Jeden projekt bol o transporte proteínov medzi jadrom a cytoplazmou a ako ovplyvnenie tohto transportu ovplyvňuje vznik či progresiu rakoviny. Spoznával som, ako vyzerá priamy výstup základného výskumu v onkologickej praxi. Pracovali sme v nemocnici, kam prichádzali pacienti z celého sveta a kde prebiehala experimentálna liečba v posledných štádiách rakoviny.

### **Aká bola úspešnosť?**

Každý jeden pacient je dôležitý. Samozrejme, niekomu sa pomohlo, pre niekoho bolo už, žiaľ, neskoro. Pamätám si, ako mi Dr. Stan Lipkowitz, jeden z najlepších špecialistov na rakovinu prsníka, hovoril o kombináciách liekov, ktoré skúša na pacientkach. Keď experimentálne skombinoval 2 chemoterapeutiká, čo sa v praxi nerobilo, zrazu bola liečba oveľa efektívnejšia a pre niektoré pacientky to bol hotový zázrak.

*„Keď nevíete, ktorá diagnóza je správna, tak nastavíte liečbu, ktorá nemusí vôbec fungovať.“*

*„V zdravotníctve by to nemalo byť o tom, že sa personalizovaná diagnostika stane luxusnou. Prístup k liečbe je v modernej demokracii právo každého občana, bez ohľadu na to, koľko zarába. Preto by zdravie malo byť prístupné všetkým.“*

*„Je potrebné zmeniť pohľad na onkologickú liečbu. Jedna vec je účinná farmakoterapia, druhá je aj správna diagnostika. Keď nesprávne diagnostikujeme, nemôžeme správne liečiť.“*

*„Za pár rokov tu budú prebiehať veľmi masívne retrovalidácie, na ktoré by sa mal pripraviť každý, kto vyvíja moderné a precízne diagnostické technológie.“*

Na tomto pracovisku sa prišlo na to, že keď skombinujeme imunoterapiu s chemoterapiou, dosiahneme lepšie výsledky. Taktiež sa skúšali modifikované vírusy – chrípkový vírus a vírus z brazílskej mušky. Oba stimulovali imunitný systém, aby zabíjal tumor a jeden z nich navyše zabíjal tumorové bunky a zrazu to začalo fungovať na neskoré štádiá rakoviny pľúc, ktoré boli absolútne neliečiteľné.

### **Aký máte názor na problematiku etiky vo výskume?**

Je jasné, že pri liečbe rakoviny by pomohlo terapeutické klonovanie. Ak má pacient napadnutý orgán, vyrežeme ho, vypestujeme nový, vložíme, zašijeme jeden aj druhý koniec a vybavené. Ak by sme žili v ideálnej spoločnosti a povedzme, že sa dohodneme na tom, že terapeutické klonovanie má určité limity a všetci by to dodržiavali, tak by to bolo úžasné.

V spoločnosti máme ale úplne základné princípy, ako napríklad neukradneš, a predsa sa kradne. Problematika etiky vo vede a výskume je veľmi dôležitá a hlavne musí byť vnímaná komplexne, aj vo vedeckom a spoločenskom kontexte, a to z viacerých uhlov. Nedokážem povedať, že toto je ten správny prístup. Rovnako ako v tom vidím obrovské pozitíva a možnosti, vidím v tom aj obrovské riziká.

### **Myslíte si, že najväčšie možnosti pre výskum sa skrývajú práve v biochémii a biotechnológiách?**

Je zrejme, že v biomedicíne vieme veľa a zároveň veľmi málo. Dokážeme urobiť chirurgický zákrok, ktorý pomôže, podať antibiotikum, očkovať a predísť chorobám. Na molekulárnej úrovni je však veľmi veľa vecí, ktoré stále nepoznáme. Vieme prečítať DNA, ale nevieme, čo to znamená. Objavili sme už 65 klinicky relevantných mutácií, pritom každému je jasné, že ich musí byť násobne viac. Bunka človeka je tak komplikovaná, že potrebujeme – obrazne povedané – tisíce rokov, aby sme mohli všetko potrebné preskúmať.

Čo sa ale však týka Vašej otázky, myslím si, že áno. Vo všetkých biomedicínskych a prírodných vedách je veľký potenciál a hlavne obrovský priestor na to, aby sme niečo objavili. Nie je to tak, že teraz už poznáme všetky mechanizmy, napríklad opravy DNA v bunke, kontroly bunkového cyklu, atď. Ani zďaleka nie. Na druhej strane, môžeme neustále bádať a snívať, že práve my niečo veľkolepé objavíme.

(kk)

Foto: P. Čekan