

Dve desetletji delovanja Oddelka za molekularno diagnostiko na Onkološkem inštitutu Ljubljana

Two Decades of the Department of Molecular Diagnostics at the Institute of Oncology Ljubljana

Škerl Petra^{1,2}, Novakovič Srdjan^{1,2}, Stegel Vida^{1,3}

¹Onkološki inštitut Ljubljana, Zaloška cesta 2, 1000 Ljubljana

²Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana

³Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Jamnikarjeva ul. 101, 1000 Ljubljana

Korespondenca: dr. Vida Stegel, univ. dipl. biol., spec. med. lab. gen.

E-mail: vstegel@onko-i.si

Poslano / Received: 22.10.2025

Sprejeto / Accepted: 1.11.2025

doi: 10.25670/oi2025-013on

IZVLEČEK

Oddelek za molekularno diagnostiko je bil na Onkološkem inštitutu Ljubljana ustanovljen leta 2005 na pobudo znan. svet., dr. Srdjana Novakoviča. V 20-letnem obdobju je Oddelek za molekularno diagnostiko postal osrednji laboratorij v Sloveniji tako za genetsko testiranje posameznikov z večjo ogroženostjo za dedne oblike raka kakor tudi za molekularno-genetsko testiranje različnih vrst solidnih tumorjev, kjer je informacija o genotipu tumorja pomembna pri načrtovanju zdravljenja, pomoč pri diagnozi ali prognozi bolezni. Posebno področje dela oddelka predstavljajo farmakogenetske preiskave, s katerimi ocenimo napoved presnavljanja zdravil ter opredelimo bolnike z večjim tveganjem za hude neželene učinke. Oddelek za molekularno diagnostiko se lahko po zahtevnosti in kakovosti svojih preiskav primerja z mednarodno priznanimi centri na področju molekularne diagnostike. To potrjuje z obsežnim naborom preiskav, ki sledijo priporočilom mednarodnih strokovnih smernic za obravnavo onkoloških bolnikov, ter z rednim sodelovanjem in uspešno opravljenimi zunanji kontrolami kakovosti. Slovenskim onkološkim bolnikom je s tem omogočen dostop do celovitih molekularno-genetskih preiskav znotraj države, brez potrebe po napatitvah v tujino. Pomemben mejnik predstavlja tudi dogovor z Zavodom za zdravstveno zavarovanje Slovenije o financiranju teh storitev, kar bolnikom zagotavlja dostopno in visokokakovostno diagnostiko ter bolniku prilagojeno zdravljenje s tarčnimi zdravili v skladu z najsoodobnejšimi mednarodnimi smernicami in brez dodatnih stroškov za bolnike. Na molekularno-genetsko testiranje na Oddelek za molekularno diagnostiko lahko svoje bolnike napotujejo zdravniki iz različnih zdravstvenih ustanov iz celotne Slovenije.

Gljučne besede: molekularna diagnostika, molekularno-genetske preiskave, dedni raki, solidni tumorji, farmakogenetika, genotipizacija tumorjev

ABSTRACT

The Department of Molecular Diagnostics at the Institute of Oncology Ljubljana was established in 2005 at the initiative of Prof. Dr. Srdjan Novaković. Over the past 20 years, it has evolved into the central national laboratory for genetic testing of individuals with a higher risk of hereditary cancer syndromes, as well as for molecular genetic testing of various types of solid tumours, where tumour genotyping plays a key role in diagnosis, treatment planning, and prognosis. A special area of the department's work involves pharmacogenetic testing, which identifies patients at increased risk of severe adverse drug effects. In terms of the complexity and quality of its diagnostic services, the Department of Molecular Diagnostics is comparable to internationally recognized centres performing molecular diagnostics. This is demonstrated by its extensive range of tests that follow international clinical guidelines for the management of cancer patients, as well as by its regular participation and successful performance in external quality assessment schemes. As a result, Slovenian cancer patients have access to comprehensive molecular genetic testing within the country, without the need for referral abroad. An important step forward has also been the agreement with the Health Insurance Institute of Slovenia (ZZZZ) on the funding of these services, ensuring patients have access to high-quality diagnostics and personalized treatment with targeted therapies, in accordance with the most up-to-date international guidelines and without any additional costs to patients. Patients from healthcare institutions across Slovenia may be referred for molecular genetic testing to the Department of Molecular Diagnostics.

Keywords: molecular diagnostics, molecular genetic testing, hereditary cancers, solid tumours, pharmacogenetics, tumour genotyping

UVOD

V zadnjih dvajsetih letih je zaradi napredka v razumevanju mehanizmov nastanka ter razvoja raka in opredelitve molekularnih značilnosti tumorjev molekularna diagnostika postala pomemben del sodobne onkološke obravnave bolnikov tako na področju dednih kot sporadičnih rakov. Vloga molekularne diagnostike v onkologiji je na kratko povzeta na sliki 1.

Na področju dednih oblik raka s pomočjo molekularne diagnostike v okviru genetskega svetovanja in testiranja odkrivamo posameznike in družine z večjo ogroženostjo za nastanek različnih vrst raka, ki se pojavljajo v okviru dednih sindromov raka. Z določanjem patogenih oziroma verjetno patogenih zarodnih različic (mutacij) v genih, povezanih z dednimi oblikami raka (npr. *BRCA1*, *BRCA2*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*, *TP53* in drugih), omogočamo zgodnje odkrivanje ogroženih posameznikov, usmerjeno spremljanje in preventivne ukrepe, s katerimi lahko bistveno zmanjšamo tveganje za razvoj rakave bolezni ali izboljšamo prognozo (1). V nekaterih primerih je rezultat genetskega testiranja pomemben tudi pri načrtovanju zdravljenja (npr. patogene in verjetno patogene različice v genih *BRCA1* in *BRCA2* pri bolnikih z rakom jajčnikov, prostate in trebušne slinavke) (2–5). Tak pristop omogoča personalizirano obravnavo posameznika in njegovih svojcev, saj rezultati genetskega testiranja služijo kot osnova za natančno oceno tveganja za nastanek raka, ciljno preventivno svetovanje ter prilagojene klinične programe spremljanja in zdravljenja za posameznega bolnika (1).

Molekularno-genetske značilnosti tumorjev lahko uporabimo kot molekularne biomarkerje (molekularno-genetske označevalce) za pomoč pri natančnejši diferencialni diagnozi in/ali napovedi poteka bolezni (prognozi), ključni pa so tudi pri načrtovanju zdravljenja s tarčnimi zdravili. Tarčno zdravljenje je danes del uveljavljenih mednarodnih in nacionalnih smernic ter kliničnih poti za zdravljenje številnih vrst raka, med drugim raka debelega črevesa in danke, malignega melanoma, raka dojke, jajčnikov, prostate, ščitnice, mehurja, ledvic, trebušne slinavke in drugih. Pri genotipizaciji tumorjev lahko kot napovedne molekularne biomarkerje za načrtovanje zdravljenja opredeljujemo klinično pomembne različice (mutacije) v različnih genih (npr. *BRAF*, *KRAS*, *NRAS*, *PIK3CA*, *AKT1*, *P TEN*, *BRCA1*, *BRCA2*, *NTRK*, *RET* in drugih), odvisno od vrste tumorja. Med molekularne biomarkerje lahko štejemo tudi druge spremembe v tumorjih, kot so metilacijski status promotorskih regij izbranih genov, mikrosatelitska nestabilnost (MSI), mutacijsko breme tumorja (TMB) ali okvara delovanja homologne rekombinacije (HRD) (6–9).

Pomembno vlogo ima molekularna diagnostika tudi na področju farmakogenetike. Namen farmakogenetskih preiskav je prepoznati bolnike, pri katerih genetski profil (genotip) kaže povečano tveganje za neželene toksične učinke zdravljenja. Na podlagi rezultatov genetskega testiranja se lahko prilagodi začetni odmerek zdravila ali se oceni, da je določeno zdravljenje za bolnika neustrezno (10,11).

Najnovejšo področje molekularne diagnostike je testiranje tekočinskih biopsij. Namen molekularno-genetskega testiranja krožeče tumorske DNA (ctDNA) je predvsem zaznavanje pojava odpornosti (rezistence) na zdravljenje ali odkrivanje napovednih molekularnih biomarkerjev pri bolnikih, kjer tumorsko tkivo za genotipizacijo ni dostopno. Genotipizacija ctDNA lahko omogoča manj invazivno spremljanje poteka bolezni ter odziva na zdravljenje (12).

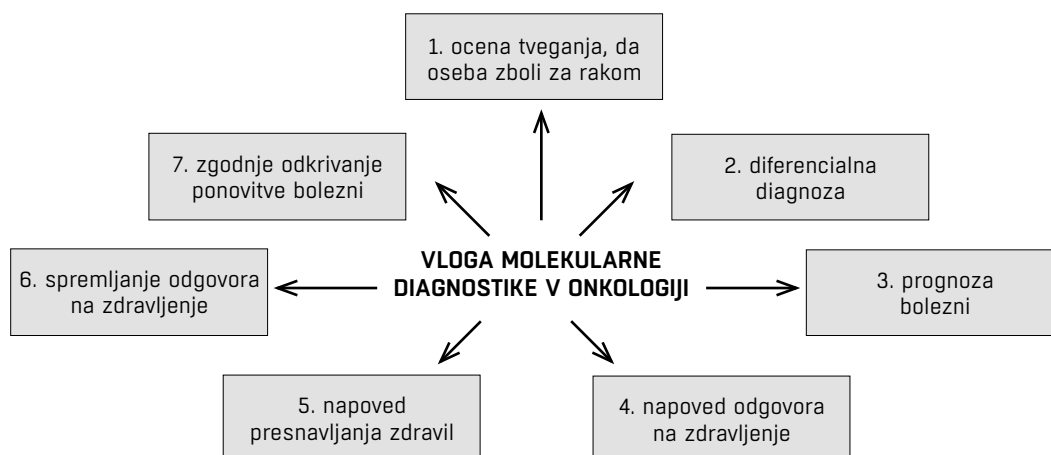
V zadnjih dveh desetletjih je hiter razvoj metod in tehnologij molekularne diagnostike omogočil, da je danes molekularno-genetsko testiranje bistveno hitrejše, natančnejše in zanesljivejše. Sodobne tehnike, kot so sekvenciranje naslednje generacije (NGS), kvantitativna PCR (qPCR) analiza in digitalni PCR, omogočajo hkratno analizo velikega števila genov ter odkrivanje tudi zelo redkih genetskih sprememb z visoko stopnjo občutljivosti in specifičnosti.

Zaradi teh tehnoloških izboljšav se je bistveno skrajšal čas pridobivanja rezultatov, kar omogoča, da kliniki pravočasno prejmejo ključne informacije za načrtovanje bolniku prilagojenega zdravljenja. Napredki v tehnologiji, bioinformatiki obdelavi podatkov ter standardizaciji laboratorijskih postopkov so prispevali k temu, da je molekularno-genetsko testiranje postalo dostopnejše tako z vidika stroškov kot tudi vključitve v rutinsko klinično prakso.

ODDELEK ZA MOLEKULARNO DIAGNOSTIKO SKOZI ČAS

Oddelek za molekularno diagnostiko je bil na Onkološkem inštitutu Ljubljana ustanovljen leta 2005 na pobudo znan. svet., dr. Srdjana Novakovića, univ. dipl. biol., spec. lab. med. gen. Oddelek je vodil od ustanovitve do konca maja 2025. Vodenje oddelka je v juniju 2025 prevzela dr. Vida Stegel, univ. dipl. biol., spec. lab. med. gen. Oddelek je zasnovan kot diagnostično-raziskovalni oddelek. Diagnostična dejavnost vključuje izvedbo in uvajanje molekularno-genetskih metod in testov s področja molekularne diagnostike raka, raziskovalno delo pa poteka v sklopu različnih raziskovalnih projektov.

Slika 1: Vloga molekularne diagnostike v onkologiji.



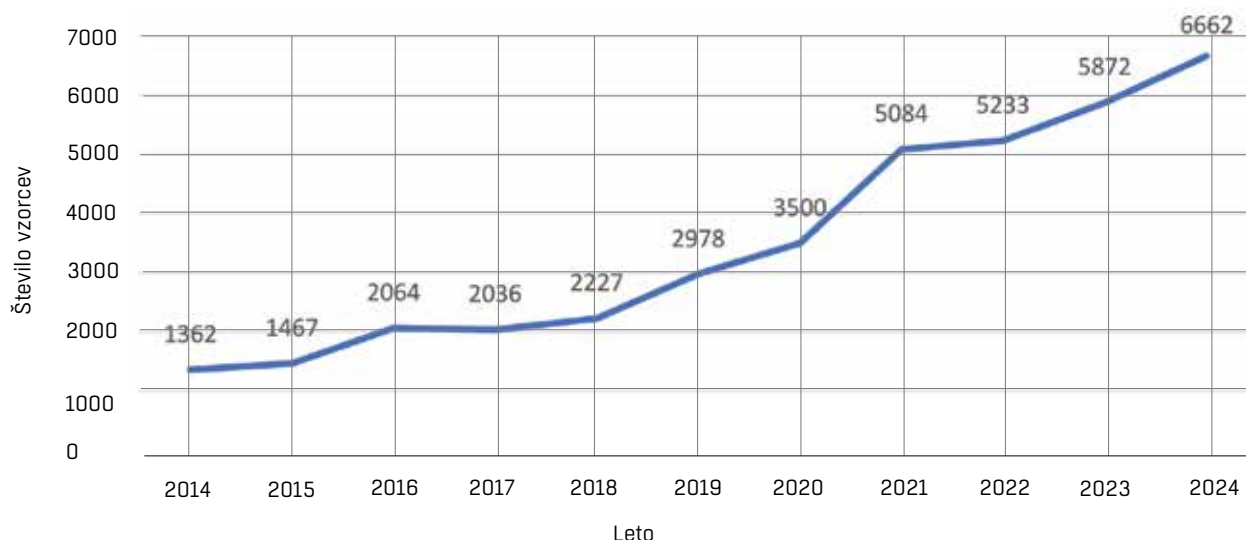
Od samih začetkov delovanja Oddelek za molekularno diagnostiko sledi potrebam klinike in slovenskim onkološkim bolnikom zagotavlja zanesljivo ter naj sodobnejšo molekularno diagnostiko. Oddelek je danes visokotehnološko opremljena celovita enota z usposobljenim in visokoizobraženim kadrom, kar je posledica skrbnega načrtovanja in vizije znan. svet., dr. Srdjana Novakovića, ki je z vpeljevanjem različnih molekularno-genetskih postopkov in tehnologij ter vlaganjem v strokovno znanje zaposlenih v svojem 20-letnem delovanju dosegel, da je postal Oddelek za molekularno diagnostiko na Onkološkem inštitutu Ljubljana osrednji laboratorij v Sloveniji za molekularno-genetsko testiranje posameznikov z večjo ogroženostjo za dedne oblike raka in molekularno-genetsko testiranje številnih vrst solidnih tumorjev pri bolnikih z rakom.

V zadnjih dveh desetletjih je zaradi novih dognanj na področju raka potreba po molekularni diagnostiki v onkologiji skokovito naraščala, kar se odraža v povečanju števila prejetih vzorcev in širjenju spektra molekularnih biomarkerjev oziroma genskih panelov ter kompleksnosti analiz skozi čas delovanja oddelka in trenutno še narašča (slika 2) (13).

Z večanjem števila vzorcev, širjenjem genskih panelov ter uvajanjem novih molekularno-genetskih preiskav, ki so vedno kompleksnejše in zahtevnejše, je skozi čas delovanja oddelka naraščala tudi potreba po večjem številu zaposlenih (slika 3). Danes ima Oddelek za molekularno diagnostiko 20 zaposlenih. Ekipo oddelka sestavljajo dva specialista in specializant laboratorijske medicinske genetike ter drugi usposobljeni in visokoizobraženi strokovnjaki ter strokovnjakinje biologije, molekularne biologije, biotehnologije, biokemije, farmacije, veterine, kemijskega inženirstva ter laboratorijski tehniki, ki skrbijo za visoko kakovost izvedbe molekularno-genetskih preiskav. Cilj oddelka je, da se opravijo vse laboratorijsko delo in analize znotraj oddelka, skladno z mednarodnimi in domačimi smernicami.

Če na kratko kronološko opredelimo delovanje Oddelka za molekularno diagnostiko, so bili začetki molekularno-genetskih preiskav usmerjeni predvsem v področje dednih rakov. Leta 2005 smo na oddelku pričeli izvajati molekularno-genetsko testiranje posameznikov in družin s sumom na družinsko obliko raka dojke in jajčnikov. V tem obdobju je testiranje obsegalo določanje šestih najpogostejših slovenskih patogenih različic (mutacij) v

Slika 2: Število vzorcev, prejetih na Oddelku za molekularno diagnostiko v obdobju od leta 2014 do leta 2024.



Slika 3: Število zaposlenih na Oddelku za molekularno diagnostiko v obdobju od leta 2005 do leta 2025.



genih *BRCA1* in *BRCA2*. Kmalu zatem smo začeli z uvajanjem in validacijo metode sekvenciranja po Sangerju in metode MLPA (od ligacije odvisno hkratno pomnoževanje sond) ter presejalnih metod DGGE (denaturacijska gradientna gelska elektroforeza) in HRM (analiza talitvene krivulje), kar je omogočilo pregled celotnih genov *BRCA1* in *BRCA2* v letu 2007. Postopoma smo molekularno diagnostiko razširili še na druge dedne sindrome, kot so družinska oblika malignega melanoma (testiranje genov *CDKN2A*, *CDK4*, takrat tudi *MC1R*), sindrom Lynch (testiranje genov *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*), sindrom adenomatozne polipoze (testiranje gena *APC*), sindrom Li-Fraumeni (testiranje gena *TP53*), sindrom Cowden (testiranje gena *PTEN*), sindrom Peutz-Jeghers (testiranje gena *STK11*) in sindrom von Hippel-Lindau (testiranje gena *VHL*) (14–19).

Na področju sporadičnih rakov oziroma genotipizacije solidnih tumorjev smo pričeli leta 2008 testirati bolnike z rakom debelega črevesa in danke pred uvedbo zdravljenja z zaviralci EGFR. Testirali smo najpogostejše t. i. hot-spot klinično pomembne različice (mutacije) v genih *KRAS*, *NRAS* in *BRAF*, pri čemer smo uporabljali metode kvantitativnega PCR v realnem času (qPCR) in pirosekvenciranje. Sledilo je testiranje bolnikov z malignim melanomom (testiranje gena *BRAF*), rakom ščitnice (testiranje gena *BRAF*), gastrointestinalnimi tumorji – GIST (testiranje genov *c-KIT* in *PDGFRA*) in rakom dojk (testiranje gena *PIK3CA*) (20–23).

Velik preboj je pomenila uvedba sekvenciranja naslednje generacije (NGS) – na področju dednih rakov v letu 2014, pri izvedbi molekularno-genetskih preiskav tumorjev pa v letu 2018. Tarčno sekvenciranje z uporabo NGS je omogočilo hkratno analizo več sto genov, uvedbo večjih genskih panelov in bistveno hitrejši čas do izvida, zlasti pri dednih rakah. Molekularno-genetsko testiranje tumorjev se je razširilo še na druge vrste rakov, kot so rak jajčnikov, prostate, trebušne slinavke, želodca, mehurja, endometrija, sarkomov in druge vrste solidnih tumorjev.

V letu 2018 je bilo uvedeno določanje mikrosatelitske nestabilnosti (MSI) z metodo PCR, z uvedbo NGS pa tudi določanje mutacijskega bremena tumorjev (TMB). V letu 2020 so bile uvedene farmakogenetske preiskave (testiranje gena *DPYD*, pozneje, leta 2023, gena *UGT1A1*). V istem letu smo pričeli z določanjem okvare homologne rekombinacije (HRD) pri bolnicah z rakom jajčnikov. Ves čas delovanja oddelka, torej od leta 2005, pa izvajamo molekularno diagnostiko limfomov, in sicer določanje klonalnosti limfocitov B in T ter translokacij t(11;14) in t(14;18) (24,25).

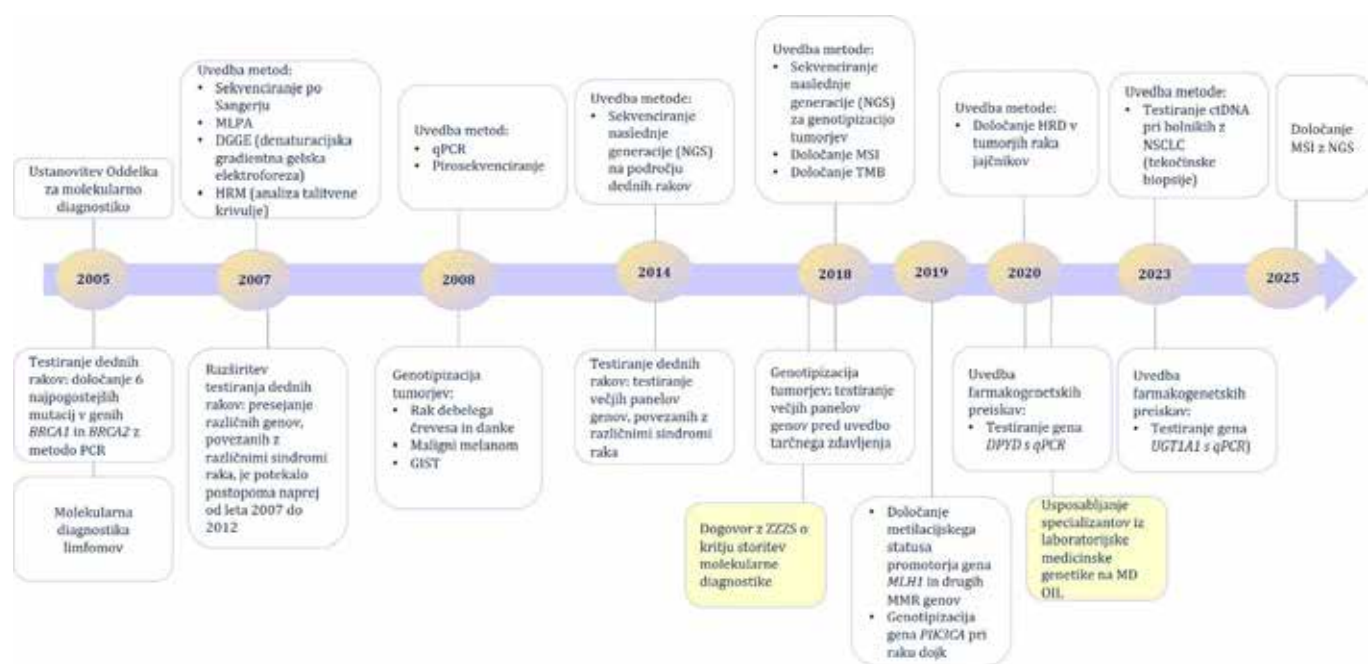
Poudariti je treba, da smo pri uvajanju novih metod in molekularno-genetskih preiskav sledili mednarodnim smernicam, tehnološkemu napredku in kliničnim potrebam. S tem smo slovenskim onkološkim bolnikom omogočili dostop do najsodobnejše molekularne diagnostike v vsakem obdobju razvoja oddelka.

Kronološki potek uvajanja najpomembnejših molekularno-genetskih metod in preiskav je predstavljeno na sliki 4.

PODROČJA DELA IN ORGANIZACIJA DELA NA ODELDKU

Na Oddelku za molekularno diagnostiko Onkološkega inštituta Ljubljana izvajamo genetsko testiranje za dedne rake in molekularno-genetske preiskave tumorjev (slika 5). Z metodami molekularne diagnostike določamo genetske spremembe v posameznih genih ali v številnih genih hkrati, in to z uporabo večgenskih panelov, ki lahko vključujejo analizo tudi več kot 500 genov. Spremembe določamo v DNK in/ali RNK, izoliranih iz različnih vrst vzorcev, odvisno od namena testiranja (slika 5). Poleg klasičnih mutacij v vzorcih DNK opredeljujemo tudi druge spremembe, kot so metilacijski status promotorjskih regij izbranih genov, mikrosatelitska nestabilnost (MSI), mutacijsko breme tumorja (TMB) in okvara delovanja homologne rekombinacije (HRD), v vzorcih RNK pa določanje fuzijskih transkriptov. Posebno področje preiskav predstavlja molekularna diagnosti-

Slika 4: Kronološki potek uvajanja najpomembnejših molekularno-genetskih metod in preiskav na Oddelku za molekularno diagnostiko.



MSI – mikrosatelitska nestabilnost; TMB – mutacijsko breme tumorja; HRD – okvara delovanja homologne rekombinacije; GIST – gastrointestinalni stromalni tumorji; NSCLC – nedrobnocelični rak pljuč; ctDNA – krožeča tumorska DNA.

ka limfomov in farmakogenetika. V zadnjem času smo uvedli tudi molekularno-genetsko testiranje prosto krožeče tumorske DNA (ctDNA) iz tekočinskih biopsij (*angl. liquid biopsies*), zaenkrat pri bolnikih z nedrobnoceličnim rakom pljuč (NSCLC). Rezultat molekularno-genetskega testiranja je namenjen zdravnikom, ki se ukvarjajo s klinično genetiko ali zdravljenjem onkoloških bolnikov, ali patologom, ki ob odločanju o nadaljnji obravnavi bolnika ali opredelitvi tumorja upoštevajo še druge dejavnike, kot so npr. družinska anamneza, klinična slika, različni histopatološki pokazatelji in drugo (26).

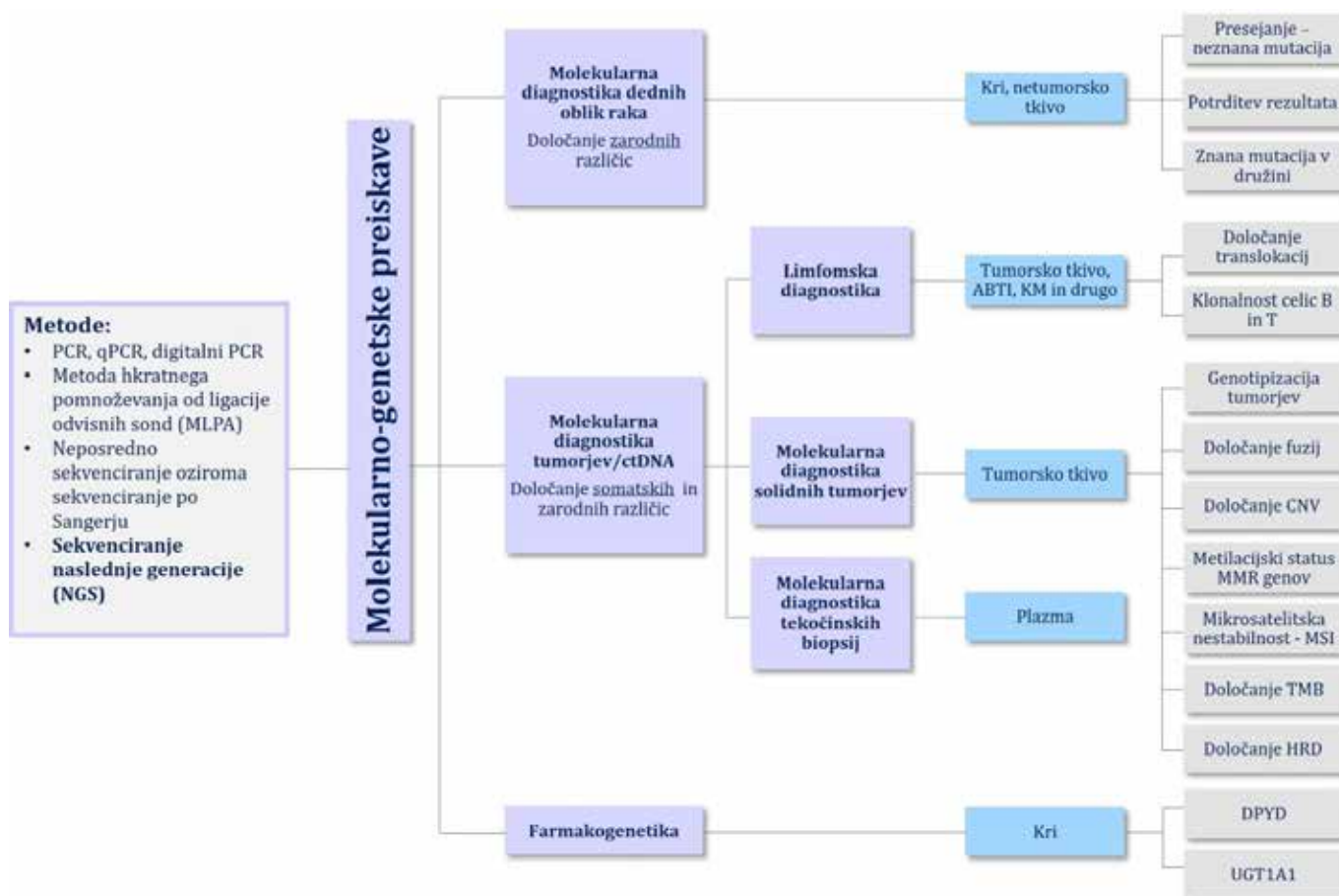
ZAGOTAVLJANJE KAKOVOSTI MOLEKULARNO-GENETSKIH PREISKAV

Kakovost izvedbe molekularno-genetskih preiskav zagotavljamo na več ravneh: z ustrezno usposobljenim in izobraženim osebjem, uporabo standardiziranih in validiranih postopkov testiranja, vzdrževanjem in kalibracijo aparatov ter laboratorijske opreme, izvajanjem notranjega nadzora kontrole kakovosti rezultatov preiskav (dnevne kontrole, uporaba referenčnih vzorcev, izvajanje

notranjih presoj) ter sodelovanjem v zunanjih ocenah kakovosti rezultatov in izvidov posameznih molekularno-genetskih preiskav. Že od prvih let delovanja oziroma odkar so na voljo zunanje kontrole kakovosti za posamezne molekularno-genetske preiskave, se redno vključujemo v mednarodne sheme zunanje ocene kakovosti organizacij, kot so EMQN, GenQA in RCPA-QAP, in dosledno pridobivamo certifikate, ki potrjujejo kakovost našega dela. Od leta 2009 smo uspešno sodelovali v 29 različnih shemah zunanje kontrole kakovosti, v katere se vključujemo letno oziroma periodično (slika 6).

Izvodi različnih molekularno-genetskih preiskav se med seboj razlikujejo po vsebini, ki je specifična glede na vrsto preiskave oziroma področje, vendar pa za vse naše izvide velja, da so strukturirani in standardizirani – kar pomeni, da so rezultati vedno podani na enak način, skladno s strokovnimi smernicami ter priporočili mednarodnih združenj, kot sta Evropsko združenje za humano genetiko (ESHG) in Evropsko združenje za medicinsko onkologijo (ESMO), in skladno z ISO standardom 15189. Osnovni namen je, da na izvidu podamo pravi rezultat testiranja ter jasno, koncizno, nedvoumno in strokovno uteme-

Slika 5: Področja dela in molekularno-genetske preiskave na Oddelku za molekularno diagnostiko.



Molekularno-genetske preiskave lahko razdelimo na pet glavnih področij: genotipizacija dednih sprememb, genotipizacija tumorjev, farmakogenetika, limfomska diagnostika in testiranje tekočinskih biopsij. Molekularno-genetske preiskave izvedemo iz različnih izhodnih vzorcev, odvisno od namena testiranja, iz katerih izoliramo DNK in/ali RNK.

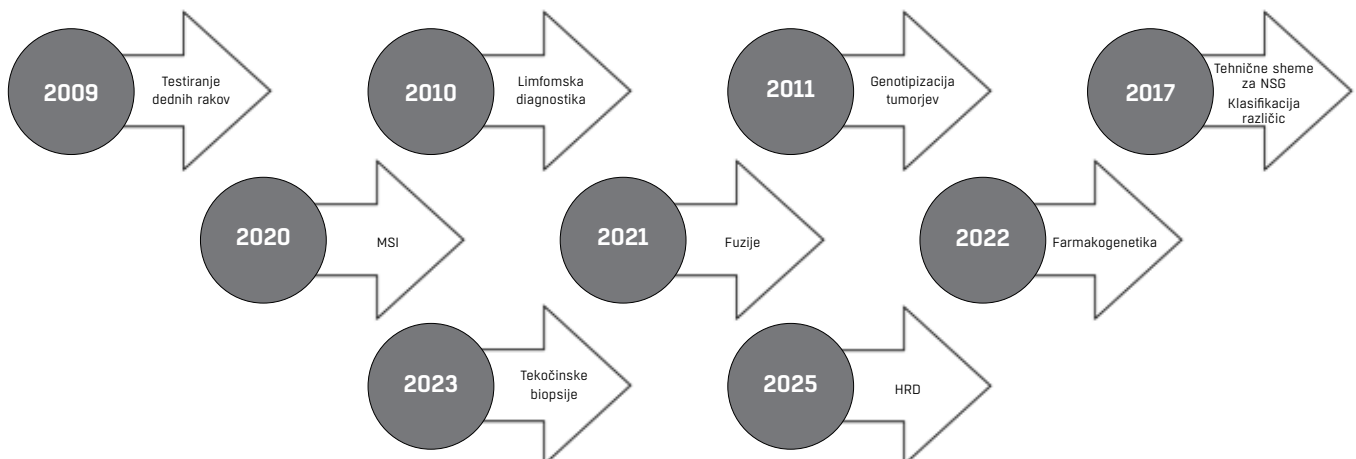
ctDNA – krožeča tumorska DNA; ABTI – tankoigelna aspiracijska biopsija; KM – kostni mozeg; MMR – geni, povezani z okvaro delovanja mehanizmov za popraviljanje neujemanj nukleotidnih baz na nivoju DNA (*angl. mismatch repair-MMR*); CNV – število kopij gena; TMB – mutacijsko breme tumorja; HRD – okvara delovanja homologne rekombinacije; DPYD – gen za encim dihidropirimidin dehidrogenaza, ki se testira pred uvedbo zdravljenja s fluoropirimidini; UGT1A1 – gen za encim uridin difosfat glukuronosiltransferaza 1A1, ki se testira pred uvedbo zdravljenja z irinotekanom.

Slika 6: Zunanje kontrole kakovosti rezultatov in izvidov molekularno-genetskih preiskav.

A. Seznam shem zunanjih kontrol kakovosti na posameznem področju molekularne diagnostike, pri katerih smo do sedaj sodelovali. V posameznih shemah sodelujemo vsako leto ali vsako drugo leto od leta 2009.

Genotipizacija dednih rakov
EMQN Hereditary Breast / Ovarian cancer (HBOC) - germline EMQN Lynch syndrome - germline EMQN Polyposis syndromes (FAP, MAP) - germline EMQN BRCA testing in Ovarian, Breast, Prostate and Pancreatic Cancers - germline GenQA Variant Classification (BRCA and HRR genes) - germline
Farmakogenetika
GenQA Prediction of 5-Fluorouracil Toxicity (DPYD) EMQN DPYD/UGT1A1 (Pharmacogenetics)
Limfomska diagnostika
RCPA QAP Hematology - Immunogenotyping (IgH, TCR)
Tehnične sheme - NGS
EMQN DNA sequencing - NGS (technical scheme) - somatic EMQN DNA sequencing - NGS (technical scheme) - germline
Genotipizacija tumorjev
EMQN Melanoma - somatic EQA Colorectal cancer (RAS and BRAF testing) - somatic EMQN Colorectal cancer - somatic QuIP PIK3CA Breast Cancer Tissue (MolPath) - somatic EMQN Breast Cancer (PIK3CA) - somatic EMQN Breast Cancer (AKT Pathway) - somatic EMQN Ovarian cancer - somatic EMQN Prostate cancer - somatic EMQN Ovarian and Prostate cancer (PARPi) - somatic GenQA Microsatellite Instability testing (MSI) - somatic EMQN Microsatellite Instability testing (MSI) - somatic EMQN Lung Cancer (NSCLC) Tissue - somatic GenQA Lung Cancer (NSCLC) Fusions molecular - somatic EMQN Fusions - somatic GenQA NTRK Fusions - somatic GenQA Sarcoma - somatic GenQA Endometrial tumors - somatic EMQN HRD (Tissue)
Tekočinske biopsije
EMQN Lung Cancer (NSCLC) Plasma - somatic

B. Pričetek sodelovanja v različnih shemah zunanjih kontrol kakovosti rezultatov in izvidov molekularno-genetskih preiskav na različnih področjih molekularne diagnostike.



NGS – sekvenciranje naslednje generacije; MSI – mikrosatelitska nestabilnost; HRD – okvara delovanja homologne rekombinacije.

ljeno informacijo napotnemu zdravniku, na podlagi katere ta nadalje obravnava bolnike. Da kompleksne rezultate genetskega testiranja pretvorimo v jasno, nedvoumno in standardizirano obliko, moramo pri pripravi izvida upoštevati številna priporočila in smernice, kot so npr. ESMO, ACMG, AMP/ASCO/CAP, HGVS in ISO 15189 ter druge (27–30).

POMEMBNI STROKOVNI IN RAZVOJNI DOSEŽKI

Z vključevanjem v različne zunanje kontrole kakovosti in uspešnim opravljanjem le-teh Oddelek za molekularno diagnostiko dokazuje, da sta kakovost in kompleksnost njegovih preiskav primerljiva z mednarodno priznanimi centri s področja molekularne diagnostike. Slovenskim bolnikom z rakom je tako omogočeno, da molekularno-genetske preiskave opravijo znotraj države, brez potrebe napotovanja v tujino.

Odlično sodelovanje z Oddelkom za klinično genetiko omogoča, da je molekularno-genetsko testiranje v okviru genetskega svetovanja dostopno vsem posameznikom in družinam, ki izpolnjujejo kriterije za testiranje na podlagi mednarodnih in nacionalnih smernic.

Za kakovostno izvajanje molekularne diagnostike so zelo pomembni stalno sledenje mednarodnim smernicam, uvajanje sodobnih tehnologij ter razvoj lastnih diagnostičnih pristopov. Uvedba sekvenciranja naslednje generacije (NGS) in drugih naprednih metod je omogočila izvajanje kompleksnih ter visokoobčutljivih analiz, ki so skladne z najvišjimi mednarodnimi standardi. Posebej pomembne in zahtevne preiskave, ki jih izvajamo, vključujejo določanje okvare delovanja homologne rekombinacije (HRD) pri bolnicah z rakom jajčnikov ter molekularno diagnostiko različnih tumorjev, vključno z določanjem mutacijskega bremena tumorjev (TMB) in mikrosatelitske nestabilnosti (MSI). Zelo smo ponosni, da lahko slovenskim onkološkim bolnikom ponudimo molekularno-genetske preiskave tako na področju dednih rakov kot tudi molekularno-genetske diagnostike tumorjev ter farmakogenetike, ki so opredeljene v

mednarodnih smernicah.

Pomemben mejnik, dosežen leta 2018, je bil tudi sklenjen dogovor z Zavodom za zdravstveno zavarovanje Slovenije o financiranju molekularno-genetskih preiskav, kar bolnikom zagotavlja dostopno in visokokakovostno diagnostiko ter bolniku prilagojeno zdravljenje s tarčnimi zdravili v skladu z najsodobnejšimi mednarodnimi smernicami in brez dodatnih stroškov za bolnike (13). Največ zaslug za uspešno uresničitev tega dogovora ima znan. svet., dr. Srdjan Novaković, ki je s svojo zavezanostjo zagotavljanju sodobne in dostopne molekularne diagnostike za vse slovenske onkološke bolnike ter z vztrajnostjo in vloženim trudom omogočil, da je dogovor postal realnost.

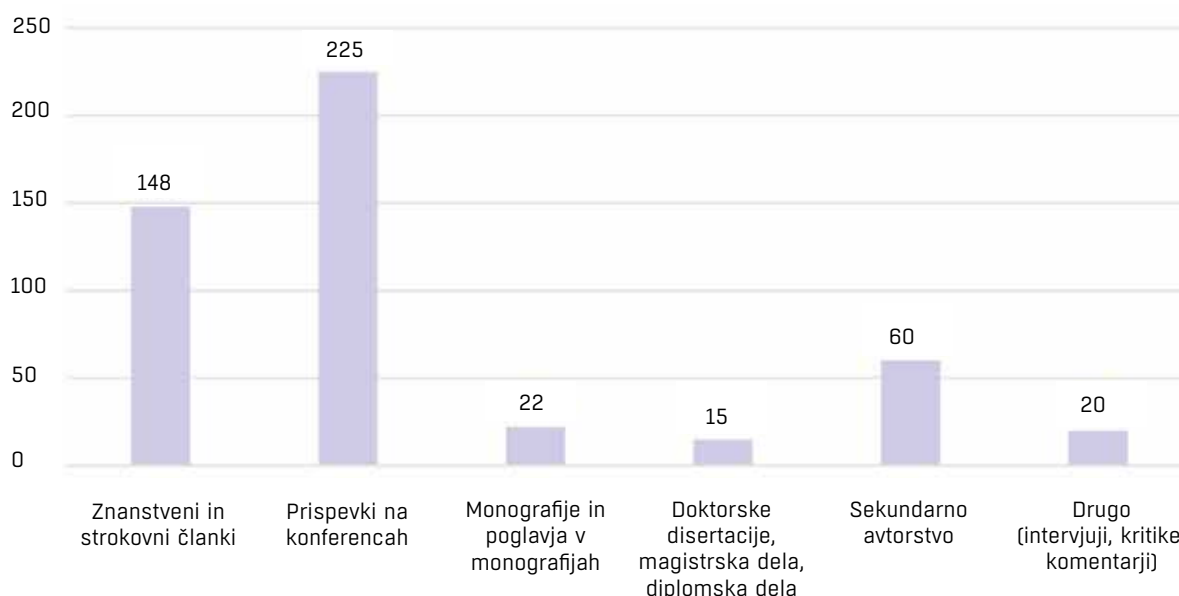
Med pomembne strokovne dosežke oddelka sodi tudi ustanovitev NGS konzilija, v okviru katerega sodelujemo kot del multidisciplinarnega tima, kar omogoča optimalno interpretacijo rezultatov in načrtovanje bolniku prilagojene obravnave in zdravljenja.

Pomemben napredek predstavlja tudi uvedba specializacije iz laboratorijske medicinske genetike, ki je bila uvedena leta 2015. Del usposabljanja specializantov iz laboratorijske medicinske genetike od leta 2020 poteka tudi na našem oddelku. S tem prispevamo k razvoju novih strokovnjakov in kreptvi kadrov na področju medicinske genetike v Sloveniji.

RAZISKOVALNO DELO

Poleg rutinske diagnostike oddelek izvaja raziskovalno delo v okviru raziskovalnih programov na Onkološkem inštitutu Ljubljana (predvsem raziskovalnega programa P3-0352). Raziskovalno delo oddelka je pomemben del številnih doktorskih raziskav in zaključnih nalog različnih raziskovalcev, zaposlenih na Onkološkem inštitutu Ljubljana ali v drugih zdravstvenih zavodih. Prioriteta raziskovalnega dela so aplikativne študije, ki omogočajo prenos znanja v rutinsko prakso. Posebno obliko raziskovalnega dela predstavljajo konstantno uvajanje in validacija

Slika 7. Število reprezentativnih bibliografskih enot zaposlenih na Oddelku za molekularno diagnostiko za obdobje 2005–2025.



Skupaj je bilo 490 objav: 148 znanstvenih in strokovnih člankov, 225 prispevkov na konferencah, 22 monografij in poglavij v monografijah, 15 doktorskih disertacij, magistrskih del in diplomskih del, 60 del sekundarnega avtorstva ter 20 drugih del (vključno z intervjuji, kritikami in komentarji).

novih metod s področja onkološke molekularne diagnostike ter tudi razvoj lastnih diagnostičnih pristopov. S tem zagotavljamo v evropskih merilih primerno raven kakovosti in dostopnosti molekularne diagnostike za slovenske onkološke bolnike. Na sliki 7 so povzetki bibliografskih podatkov zaposlenih na Oddelku za molekularno diagnostiko v obdobju od leta 2005 do leta 2024. Med temi bibliografskimi podatki niso zajete doktorske naloge doktorandov iz drugih enot, pri katerih so sodelovali zaposleni Oddelka za molekularno diagnostiko (13).

Zaposleni na oddelku so aktivni tudi pri pedagoškem delu, ki vključuje sodelovanje na različnih šolah s področja onkologije in v dodiplomskem programu Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani pri predavanjih in vajah za študente medicine s področja onkologije (13).

ZAKLJUČEK – POGLED NAPREJ

Na Oddelku za molekularno diagnostiko se bomo trudili, da bomo na postavljenih temeljih gradili naprej in omogočali slovenskim onkološkim bolnikom sodobno, zanesljivo in visokokakovostno onkološko molekularno diagnostiko, ki je pomembna za varno in kakovostno obravnavo teh bolnikov.

Oddelek za molekularno diagnostiko ostaja zavezan strokovnosti, razvoju in uvajanju najnovejših tehnologij. Tudi v prihodnje bomo skrbno sledili mednarodnim smernicam in novim znanstvenim dognanjem ter zagotavljali visokokakovostno molekularno diagnostiko.

Trenutno že aktivno razvijamo in uvajamo nove diagnostične pristope, kot je na primer RNA sekvenciranje (RNA-seq) za analizo izražanja genov ter novih transkriptov in alternativnih načinov spajanja (angl. splicing), kar nam bo v pomoč pri klasifikaciji zelo zahtevnih in kompleksnih različic.

Razširiti želimo tudi testiranje tekočinskih biopsij na tiste vrste raka, kjer to priporočajo mednarodne smernice, bodisi z namenom zaznavanja pojava odpornosti (rezistence) na zdravljenje, odkrivanja napovednih biomarkerjev pri bolnikih, kjer tumorsko tkivo za genotipizacijo ni dostopno, bodisi spremljanje poteka bolezni ter odziva na zdravljenje.

Trudili se bomo, da bomo obdržali vlogo osrednjega nacionalnega laboratorija na področju onkološke molekularne diagnostike, ki bo deloval v skladu z mednarodnimi priporočili in standardi.

LITERATURA

1. Blatnik A, Kraje M. Kaj je dedni rak? In: Dedno pogojeni raki – genetsko svetovanje in testiranje. Ljubljana: Onkološki inštitut Ljubljana; 2020 [cited 2025 Oct 22]. Available from: <https://www.onko-i.si/za-javnost-in-bolnike/publikacije>
2. Marchetti C, Fagotti A, Fruscio R, Cassani C, Incorvaia L, Perri MT, et al. Benefit from maintenance with PARP inhibitor in newly diagnosed ovarian cancer according to BRCA1/2 mutation type and site: a multicenter real-world study. *ESMO Open*. 2025 Apr 1;10(4).
3. Fizazi K, Gillessen S. Updated treatment recommendations for prostate cancer from the ESMO Clinical Practice Guideline considering treatment intensification and use of novel systemic agents. *Annals of Oncology*. 2023 Jun 1;34(6):557–63.
4. Zhu H, Wei M, Xu J, Hua J, Liang C, Meng Q, et al. PARP inhibitors in pancreatic cancer: Molecular mechanisms and clinical applications. Vol. 19, *Molecular Cancer*. BioMed Central Ltd.; 2020.
5. Stegel V, Blatnik A, Škof E, Dragoš VŠ, Kraje M, Gregorič B, et al. Real-World Data on Detection of Germline and Somatic Pathogenic/Likely Pathogenic Variants in BRCA1/2 and Other Susceptibility Genes in Ovarian Cancer Patients Using Next Generation Sequencing. *Cancers (Basel)*. 2022 Mar 1;14(6).
6. Mosele F, Remon J, Mateo J, Westphalen CB, Barlesi F, Lolkema MP, et al. Recommendations for the use of next-generation sequencing (NGS) for patients with metastatic cancers: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group. Vol. 31, *Annals of Oncology*. Elsevier Ltd; 2020. p. 1491–505.
7. Ngoi NYL, Tan DSP. The role of homologous recombination deficiency testing in ovarian cancer and its clinical implications: do we need it? Vol. 6, *ESMO Open*. Elsevier B.V.; 2021.
8. Luchini C, Bibeau F, Ligtenberg MJL, Singh N, Nottegar A, Bosse T, et al. ESMO recommendations on microsatellite instability testing for immunotherapy in cancer, and its relationship with PD-1/PD-L1 expression and tumour mutational burden: A systematic review-based approach. *Annals of Oncology*. 2019 Aug 1;30(8):1232–43.
9. Mosele MF, Westphalen CB, Stenzinger A, Barlesi F, Bayle A, Bièche I, et al. Recommendations for the use of next-generation sequencing (NGS) for patients with advanced cancer in 2024: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group. *Annals of Oncology*. 2024 Jul 1;35(7):588–606.
10. Lunenburg CATC, van der Wouden CH, Nijenhuis M, Crommentuijn-van Rhenen MH, de Boer-Veger NJ, Buunk AM, et al. Dutch Pharmacogenetics Working Group (DPWG) guideline for the gene–drug interaction of DPYD and fluoropyrimidines. *European Journal of Human Genetics*. 2020 Apr 1;28(4):508–17.
11. Hulshof EC, Deenen MJ, Nijenhuis M, Soree B, de Boer-Veger NJ, Buunk AM, et al. Dutch pharmacogenetics working group (DPWG) guideline for the gene–drug interaction between UGT1A1 and irinotecan. Vol. 31, *European Journal of Human Genetics*. Springer Nature; 2023. p. 982–7.

12. Fusco N, Venetis K, Pepe F, Shetty O, Farinas SC, Heeke S, et al. International society of liquid biopsy (ISLB) perspective on minimal requirements for ctDNA testing in solid tumors. Vol. 8, Journal of Liquid Biopsy. Elsevier B.V.; 2025.
13. Novaković S, Škerl P. Molekularna diagnostika v onkologiji: 20. obletnica ustanovitve Oddelka za molekularno diagnostiko na OIL; 11. april 2025. Ljubljana: Onkološki inštitut Ljubljana; [Internet]. [cited 2025 Oct 22]. Available from: <https://www.onko-i.si/publikacije-strokovnih-dogodkov-oi>
14. Novaković S, Stegel V. Rapid detection of most frequent Slovenian germ-line mutations in BRCA1 gene using real-time PCR and melting curve analysis. Radiol Oncol. 2005;39(2):147-52.
15. Rajc M, Teugels E, Žgajnar J, Goelen G, Bešič N, Novaković S, Hočevar M, De Grève J. Five recurrent BRCA1/2 mutations are responsible for cancer predisposition in the majority of Slovenian breast cancer families. BMC Med Genet. 2008;9:83. doi:10.1186/1471-2350-9-83
16. Škerl P, Perić B, Hočevar M, Novaković S. Določanje mutacij pri bolnikih z dedno obliko malignega melanoma kože. Onkologija. 2008;12(2):125-8.
17. Perić B, Škerl P, Novaković S, Žgajnar J, Bešič N, Hočevar M. Prevalence of variations in melanoma susceptibility genes among Slovenian melanoma families. BMC Med Genet. 2008;9:86. doi:10.1186/1471-2350-9-86.
18. Novaković S, Milatović M, Cerkovnik P, Stegel V, Krajc M, Hočevar M, et al. Novel BRCA1 and BRCA2 pathogenic mutations in Slovene hereditary breast and ovarian cancer families. Int J Oncol. 2012 Nov;41(5):1619-27.
19. Harland M, Goldstein AM, Kukulizch K, Taylor C, Hogg D, Puig S, et al. A comparison of CDKN2A mutation detection within the Melanoma Genetics Consortium (GenoMEL). Eur J Cancer. 2008 Jun;44(9):1269-74.
20. Licar A, Cerkovnik P, Ocvirk J, Novaković S. KRAS mutations in Slovene patients with colorectal cancer: Frequency, distribution and correlation with the response to treatment. Int J Oncol. 2010;36(5):1137-44.
21. Škerl P, Ličar A, Novaković S. Določanje mutacije V600E v genu BRAF. Onkologija. Ličar A, Škerl P, Novaković S. Distribution of some activating KRAS and BRAF mutations in Slovene patients with colorectal cancer. Med Oncol. 2011;28(4):1048-53. doi:10.1007/s12032-010-9631-z.2010;14(2):97-100. Available from: <https://www.dlib.si/details/URN:NBN:SI:DOC-1045627>
22. Ličar A, Škerl P, Novaković S. Distribution of some activating KRAS and BRAF mutations in Slovene patients with colorectal cancer. Med Oncol. 2011;28(4):1048-53. doi:10.1007/s12032-010-9631-z.
23. Bombac A, Zakotnik B, Bucic M, Dragos VS, Gazic B, Stegel V, et al. Mutational spectrum and classification of novel mutations in patients with metastatic gastrointestinal stromal tumours. Int J Oncol. 2020;56(6):1468-78.
24. Kokovic I, Novakovic BJ, Cerkovnik P, Novakovic S. Clonality analysis of lymphoid proliferations using the biomed-2 clonality assays: A single institution experience. Radiol Oncol. 2014;48(2):155-62.
25. Koković I, Jezeršek Novaković B, Frković-Grazio S, Novaković S. Sensitivity and reproducibility of conventional qualitative and quantitative PCR assays for detection of the t(14;18)(q32;q21) chromosomal translocation in biopsy material from patients with follicular lymphoma. Int J Mol Med. 2009;23(1):9-15.
26. Novaković S, Škerl P. Molekularna diagnostika v onkologiji: genetsko testiranje oseb s sumom na dedno obliko raka in genetske preiskave pri različnih vrstah tumorjev [Internet]. Ljubljana: Onkološki inštitut Ljubljana; [cited 2025 Oct 22]. Available from: <https://www.onko-i.si/za-javnost-in-bolnike/publikacije>
27. Deans ZC, Ahn JW, Carreira IM, Dequeker E, Henderson M, Lovrecic L, et al. Recommendations for reporting results of diagnostic genomic testing. European Journal of Human Genetics. 2022 Sep 1;30(9):1011-6.
28. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: A joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. Genetics in Medicine. 2015 May 8;17(5):405-24.
29. van de Haar J, Roepman P, Andre F, Balmaña J, Castro E, Chakravarty D, et al. ESMO Recommendations on clinical reporting of genomic test results for solid cancers. Annals of Oncology. 2024 Nov 1;35(11):954-67.
30. Li MM, Datto M, Duncavage EJ, Kulkarni S, Lindeman NI, Roy S, et al. Standards and Guidelines for the Interpretation and Reporting of Sequence Variants in Cancer: A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology, American Society of Clinical Oncology, and College of American Pathologists. Vol. 19, Journal of Molecular Diagnostics. Elsevier B.V.; 2017. p. 4-23.

© Avtor(ji). To delo je objavljeno pod licenco Creative Commons Priznanje avtorstva 4.0.

© The author(s). This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>