



Korištenje testova sekvenciranja sljedeće generacije u rutinskoj onkološkoj praksi u Hrvatskoj: rezultati nacionalno reprezentativnog istraživanja onkologa

Using Next Generation Sequencing (NGS) tests in routine oncology practice in Croatia: Results of a nationally representative survey of oncologists

Renata Kelemenić-Dražin¹ , Anuška Budisavljević²

¹ Odjel za hematologiju, onkologiju i kliničku imunologiju, Služba za interne bolesti, Opća bolnica Varaždin

² Odjel internističke onkologije s hematologijom, Služba za internu medicinu, Opća bolnica Pula

Deskriptori

TESTOVI SEKVENCIRANJA SLJEDEĆE GENERACIJE;
TUMORI – genetika, liječenje;
KLINIČKA ONKOLOGIJA – metode; HRVATSKA

Descriptors

HIGH-THROUGHPUT NUCLEOTIDE SEQUENCING;
NEOPLASMS – genetics, therapy;
MEDICAL ONCOLOGY – methods; CROATIA

SAŽETAK. *Svrha:* Svrha ove studije bila je istražiti kako onkolozi u Hrvatskoj koriste testove sekvenciranja sljedeće generacije (engl. *next generation sequencing* – NGS) za procjenu pacijenata oboljelih od raka. *Metode:* U razdoblju od 1. rujna do 2. listopada 2022. provedeno je istraživanje putem elektroničke anonimne *Google form online* ankete poslane na adrese elektroničke pošte onkologa iz baze podataka Hrvatskog društva za internističku onkologiju (N=120, stopa suradnje 62%). Cilj istraživanja bio je utvrditi koliko često koristimo NGS-testove u onkološkoj praksi u Hrvatskoj, u kojim indikacijama i za koju svrhu, imamo li problema s interpretacijom rezultata NGS-a te utječu li rezultati NGS-a na našu odluku o liječenju bolesnika. Zanimalo nas je i koliko smo zadovoljni uvjetima molekularnog testiranja u Hrvatskoj te koji su trenutačno najveći izazovi molekularnog testiranja u Hrvatskoj iz perspektive onkologa. *Rezultati:* Većina onkologa izjavila je da koriste NGS-testove u svojoj kliničkoj praksi (25% često, 60% ponekad). Testiranje uglavnom koriste kod bolesnika s rijetkim tumorima i uznapredovalom refraktornom malignom bolešću (57%) te tumorima nepoznatoga primarnog sjela (50%). Najčešći su razlozi za korištenje NGS-a: osiguravanje ciljane terapije odobrene od strane osiguravatelja (75%), liječenje putem milosrdne ili primjene lijeka *off-label* (69%) ili radi utvrđivanja prihvatljivosti za klinička ispitivanja (33%). Većina ispitanika ima problema s interpretacijom rezultata NGS-a (71% ponekad, 8% često) i rezultati NGS-a utječu na odluku o liječenju kod većine onkologa (29% često, 64% ponekad). Većina ispitanika nije zadovoljna trenutnim uvjetima molekularnog testiranja u Hrvatskoj (60% djelomično zadovoljno, 32% nezadovoljno). Najveći su izazovi molekularnog testiranja sljedeći: nemogućnost liječenja sukladno rezultatima ispitivanja (81%), vrijeme potrebno za dobivanje rezultata (52%), dodatni financijski izdatci (38%) te interpretacija rezultata testa (37%). *Zaključak:* Većina onkologa u Hrvatskoj koristi NGS-testove u svojoj kliničkoj praksi i rezultati NGS-a u znatnoj mjeri utječu na odluku o liječenju. Potrebno je poboljšati uvjete molekularnih ispitivanja u Hrvatskoj i pružiti podršku pri interpretaciji rezultata NGS-a.

SUMMARY. *Background:* The purpose of this study was to investigate how oncologists in Croatia use NGS tests to evaluate cancer patients. *Methods:* The study was conducted in the period from September 01 to October 02, 2022 through an electronic anonymous Google form online survey sent to e-mails of oncologists from the database of the Croatian Society for Medical Oncology (N=120, cooperation rate 62%). The goal of the research was to determine how often we use NGS tests in oncology practice in Croatia, in which indications and for what purpose, do we have problems with the interpretation of NGS results and do the NGS results affect our decision to treat patients. We were also interested in the satisfaction with the conditions of molecular testing in Croatia and what are currently the biggest challenges of molecular testing in Croatia from the perspective of oncologists. *Results:* The majority of oncologists surveyed reported using NGS tests in their clinical practice (25% often, 60% sometimes). Testing is mainly indicated for patients with rare tumors and advanced refractory malignant disease (57%) and tumors of unknown primary origin (50%). The most common reasons for using NGS are: to provide insurer-approved targeted therapy (75%), treat through “compassionate” or “off-label” drug use (69%), or determine eligibility for clinical trials (33%). The majority of respondents have problems with the interpretation of NGS results (71% sometimes, 8% often), and the NGS results influence the treatment decision in most respondents (29% often, 64% sometimes). The majority of respondents are not satisfied with the current conditions of molec-

Adresa za dopisivanje:

Renata Kelemenić-Dražin, dr. med., <https://orcid.org/0000-0002-2821-5703>

Odjel za hematologiju, onkologiju i kliničku imunologiju, Služba za interne bolesti, OB Varaždin, Ivana Meštrovića 1, 42000 Varaždin; e-pošta: renata.kelemenicdrazin@optinet.hr

Primljeno 19. siječnja 2023., prihvaćeno 4. lipnja 2023.

ular testing in Croatia (60% partially satisfied, 32% dissatisfied). The biggest challenges of molecular testing are: the impossibility of treatment according to the test results (81%), the time required to obtain the results (52%), additional financial expenses (38%), and interpretation of test results (37%). *Conclusion:* The majority of oncologists in Croatia use NGS tests in their clinical practice and the results of NGS significantly influence treatment decisions. It is necessary to improve the conditions of molecular testing in Croatia and provide support when interpreting NGS results.

Zahvaljujući razvoju tehnologija sekvenciranja visoke propusnosti (engl. *high-throughput sequencing* – HTS) u posljednjem je desetljeću došlo do eksponencijskog napretka u našoj sposobnosti sekvenciranja ljudskog genoma.¹

Povećana pristupačnost, dostupnost i pouzdanost platformi za sekvenciranje sljedeće generacije (engl. *next generation sequencing* – NGS) omogućuje brze, pristupačne i djelotvorne informacije o molekularnom profilu tumora te tako otvara opcije molekularno vođenog liječenja (engl. *molecularly guided treatment options* – MGTOs) za svakog pacijenta ponaosob, rezultat čega je visoko personalizirano liječenje, odnosno omogućuje nam pružanje visoko personalizirane onkološke skrbi koja se naziva precizna onkologija.^{2,3,4}

Unatoč trenutačnim ograničenjima i nedoumicama vezano uz korištenje molekularnih biomarkera u onkološkoj praksi broj pacijenata koji se podvrgavaju tumorskom genskom profiliranju raste, a jednako tako raste i broj ciljanih terapija odobrenih za liječenje raka.⁵

No, usprkos rastućoj podršci genskom testiranju kroz smjernice, implementacija NGS-a, a time i pristup pacijentima, razlikuje se diljem Europe i svijeta, što posljedično negativno utječe na standard onkološke skrbi kao i na unaprjeđenje personalizirane medicine.⁶

Također, unatoč napretku precizne onkologije dostupno je relativno malo empirijskih istraživanja koja procjenjuju očekivanja i iskustva onkologa koji mogu koristiti ove genske alate za liječenje pacijenata s rakom.²

Tako ni u Hrvatskoj ne postoje reprezentativni podatci na nacionalnoj razini o korištenju testova NGS u rutinskoj onkološkoj praksi. Stoga je svrha ove studije istražiti kako onkolozi u Hrvatskoj koriste testove NGS za procjenu pacijenata s rakom i utječu li rezultati NGS-a na donošenje odluka o liječenju.

Materijali i metode

U razdoblju od 1. rujna do 2. listopada 2022. provedeno je istraživanje putem elektroničke anonimne *Google form online* ankete poslane na adrese elektroničke pošte onkologa iz baze podataka Hrvatskog društva za internističku onkologiju (HDIO) (N=120, stopa suradnje 62%). Prema podacima Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo navedenim u Hrvatskom

zdravstveno-statističkom ljetopisu za 2020. godinu u Hrvatskoj je 2020. godine radilo 44 specijalista i 35 specijalizanata internističke onkologije (ukupno 79) te 96 specijalista i 36 specijalizanata radioterapije i onkologije (ukupno 132)⁷ (u daljnjem tekstu: onkolozi), od čega je u javnim bolničkim ustanovama 2020. godine aktivno radilo 130 onkologa.⁸

Onkolozi koji su u mirovini, ne rade u kliničkoj praksi ili su umrli bili su isključeni. Za onkologe koji nisu u prvom navratu odgovorili na anketu poslana su dva podsjetnika elektroničkom poštom. Sudjelovanje u istraživanju bilo je dobrovoljno i ispitanici nisu primili naknadu za sudjelovanje u istraživanju. Za ispunjavanje ankete bilo je potrebno desetak minuta. U prvom dijelu ankete utvrđeni su demografski podatci onkologa, podatci o specijalnosti i opsegu zbrinjanih pacijenata mjesečno, mjestu rada (klinički vs neklinički onkološki centri) te o provedenoj edukaciji iz kliničke genetike. Drugi dio ankete bio je posvećen korištenju NGS-a u onkološkoj praksi u Hrvatskoj, eventualnim poteškoćama prilikom interpretacije rezultata testa, utjecaju rezultata NGS-a na odluku o liječenju te razlozima eventualnog nekorisćenja NGS-a. Posljednji dio ankete ispitivao je zadovoljstvo onkologa trenutnim uvjetima i trenutnim izazovima molekularnog ispitivanja u Hrvatskoj iz perspektive kliničkih onkologa.

Rezultati istraživanja

Karakteristike ispitanika u anketi

Karakteristike 74 onkologa koji su ispunili anketu navedene su u tablici 1.

Većina ispitanika bile su žene (74%). Najviše ispitanika (36,5%) bilo je u dobnoj skupini od 30 do 39 godina, a potom od 40 do 49 godina (35,1%). Većina ispitanika bili su internistički onkolozi (81,9%). Najviše ispitanika (61,1%) radi u kliničkim onkološkim centrima. Gotovo dvije trećine ispitanika (64,4%) tijekom svoga fakultetskog i/ili specijalističkog obrazovanja nisu imali edukaciju iz kliničke genetike. Gotovo trećina ispitanika (31,3%) zbrinjava više od 150 pacijenata s rakom mjesečno.

Prevalencija upotrebe NGS-testa u onkološkoj praksi u Hrvatskoj

Sveukupno, 85% onkologa prijavilo je korištenje NGS-testova u svojoj kliničkoj praksi. Pri tome ih 25%

TABLICA 1. KARAKTERISTIKE ISPITANIKA ONKOLOGA U HRVATSKOJ U NACIONALNOM ISTRAŽIVANJU PRECIZNE MEDICINE U LIJEČENJU RAKA 2022.

TABLE 1. CHARACTERISTICS OF ONCOLOGIST RESPONDENTS IN CROATIA TO THE 2022 NATIONAL SURVEY OF PRECISION MEDICINE IN CANCER TREATMENT

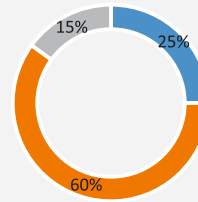
Karakteristike / Characteristics	Ukupno / Total (N=74)	Postotak / Percentage (%)
Dob, godine / Age, years		
30–39	27	36,5
40–49	26	35,1
50–59	18	24,3
≥ 60	3	4,1
Spol / Sex		
Ženski / Female	54	74
Muški / Male	19	26
Specijalnost / Specialty		
Internistički onkolog / Medical oncologist	59	81,9
Onkolog radioterapeut / Radiation oncologist	13	18,1
Mjesto rada / Work place		
Klinički onkološki centri / Clinical oncology centers	44	61,1
Neklinički onkološki centri / Nonclinical oncology centers	28	38,9
Edukacija iz genomike / Training in genomics		
Da/Yes	26	35,6
Ne/No	47	64,4
Broj pacijenata s rakom mjesečno / Number of cancer patients per month		
1–49	10	13,5
50–99	21	28,4
100–149	20	27
>150	23	31,3

ispitanika koristi sustavno (često), 60% ispitanika ih koristi u određenim slučajevima pacijenata (ponekad), dok 15% ispitanika NGS koristi rijetko (nikad ili gotovo nikad) (slika 1).

Upotreba NGS-testa bila je veća među mlađim onkolozima (dob <40 godina) i onkolozima koji su prošli edukaciju iz kliničke genetike.

Ispitanici su podjednako u kliničkoj praksi koristili NGS-testove širokog, tj. sveobuhvatnog molekularnog profiliranja (51,4%) kao i NGS-testove koji ciljaju određeni gen ili skup gena (48,6%).

Koristite li u svojoj kliničkoj praksi NGS-testove?
/ Do you use NGS tests in your clinical practice?

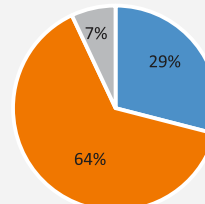


■ Često/Often ■ Ponekad/Sometimes ■ Rijetko/Rarely

SLIKA 1. KORISTITE LI U SVOJOJ KLINIČKOJ PRAKSI TESTOVE NGS?

FIGURE 1. DO YOU USE NGS TESTS IN YOUR CLINICAL PRACTICE?

Utječu li rezultati NGS-a na donošenje odluka o liječenju?
/ Do NGS results affect treatment decisions?



■ Često/Often ■ Ponekad/Sometimes ■ Rijetko/Rarely

SLIKA 2. UTJEČU LI REZULTATI NGS-A NA DONOŠENJE ODLUKA O LIJEČENJU?

FIGURE 2. DO NGS RESULTS AFFECT TREATMENT DECISIONS?

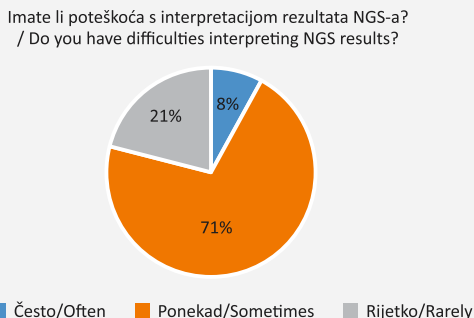
Pritom su NGS-testove najčešće koristili kod bolesnika s uznapredovalom/refraktornom malignom bolešću i kod bolesnika s rijetkim tumorima (56,9%), potom kod bolesnika s tumorima nepoznatog primarnog sijela (50%), a 40,3% ispitanika je koristilo NGS-testove već prilikom postavljanja dijagnoze maligne bolesti.

Učestalost NGS-testiranja varirala je ovisno o kliničkoj svrsi. Tako je 75% onkologa izjavilo da koriste NGS-testove da bi bolesnicima osigurali ciljanu terapiju odobrenu od strane osiguravatelja, 69,4% kako bi bolesnicima osigurali terapiju putem milosrdne ili primjene lijeka *off-label* ili radi utvrđivanja prihvatljivosti za klinička ispitivanja (33,3%).

Postojala je varijabilnost u tome koliko su često onkolozi koristili NGS-testiranje za usmjeravanje kliničke skrbi. Tako je 29,2% onkologa izjavilo da rezultati NGS-a često utječu na njihovu odluku o liječenju, 63,9% onkologa je izjavilo kako rezultati NGS-a ponekad utječu na njihovu odluku o liječenju, dok je 6,9% ispitanika izjavilo da rezultat NGS-a nikad ili gotovo nikad, tj. rijetko utječe na njihovu odluku o liječenju (slika 2).

Također je bilo varijabilnosti u poteškoćama koje su onkolozi prijavili u tumačenju rezultata ispitivanja. Za

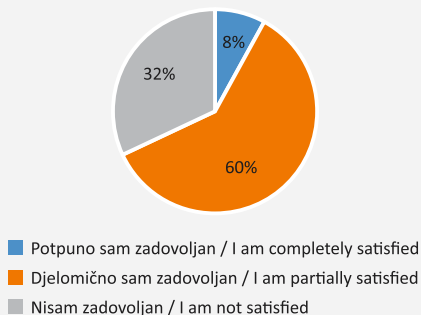
8,3% onkologa rezultate NGS-testa često je bilo teško protumačiti, 70,8% onkologa je ponekad imalo poteškoća s tumačenjem rezultata NGS-a, dok 20,8% onkologa nikad ili gotovo nikad nije imalo problema s interpretacijom rezultata NGS-a (slika 3).



SLIKA 3. IMATE LI POTEŠKOĆA S INTERPRETACIJOM REZULTATA NGS-A?

FIGURE 3. DO YOU HAVE DIFFICULTIES INTERPRETING NGS RESULTS?

Jeste li zadovoljni trenutnim uvjetima molekularnog testiranja u Hrvatskoj? / Are you satisfied with the current conditions of molecular testing in Croatia?



SLIKA 4. JESTE LI ZADOVOLJNI TRENTNIM UVJETIMA MOLEKULARNOG TESTIRANJA U HRVATSKOJ?

FIGURE 4. ARE YOU SATISFIED WITH THE CURRENT CONDITIONS OF MOLECULAR TESTING IN CROATIA?

Shodno tomu 21,1% ispitanika često traži pomoć prilikom interpretacije rezultata testa, 43,3% ispitanika ponekad traži pomoć prilikom interpretacije rezultata testa, dok je 35,2% ispitanika izjavilo da rijetko traže pomoć prilikom interpretacije rezultata testa.

Onkolozi koji ne koriste NGS (27,5%) kao najčešće razloge navode: nemogućnost liječenja sukladno rezultatima testa (75,8%), nedostatak smjernica utemeljenih na dokazima (36,4%), nedovoljnu informiranost o pristupu NGS-u u Hrvatskoj (24,2%) i nemogućnost slanja materijala na NGS-testiranje (21,2%).

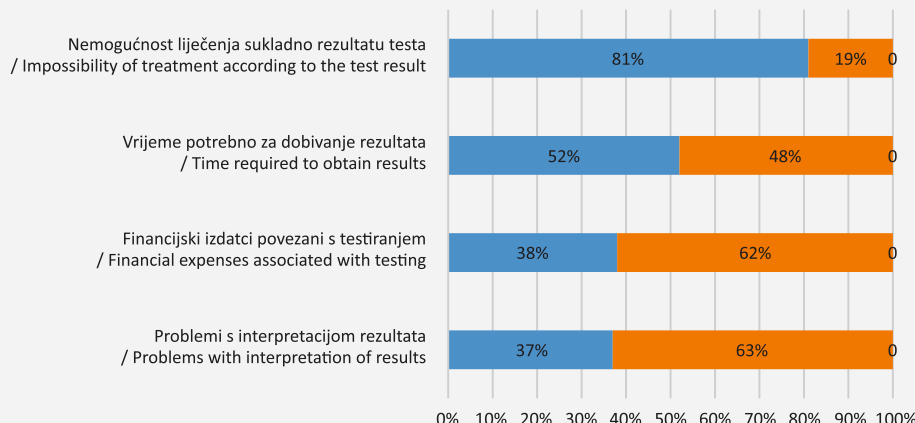
Većina ispitanika nije zadovoljna trenutnim uvjetima molekularnog testiranja u Hrvatskoj (slika 4) (59,7% djelomično zadovoljno, 31,9% nezadovoljno), pri čemu najvećim izazovima molekularnog testiranja smatraju: nemogućnost liječenja sukladno rezultatima testa (80,8%), vrijeme potrebno za dobivanje rezultata (52,1%), dodatne financijske izdatke povezane s testiranjem (38,4%) i interpretaciju nalaza testa (37%) (slika 5).

Rasprava

U ovoj nacionalno reprezentativnoj studiji od 120 onkologa, od čega je 74 onkologa odgovorilo na anketu, ispitali smo kako se NGS testovi trenutno koriste u kliničkoj praksi u Hrvatskoj. 85% ispitanih onkologa prijavilo je korištenje NGS-a, pri čemu su rezultati NGS-a u gotovo trećine ispitanika često, a u nešto manje od dvije trećine ispitanika ponekad utjecali na usmjeravanje onkološke skrbi. Upotreba NGS testa bila je veća među mlađim onkolozima (dob <40 godina) i onkolozima koji su prošli edukaciju iz kliničke genetike.

Onkolozi su izvijestili da NGS-testove najčešće koriste za bolesnike s uznapredovalom refraktornom

Najveći izazovi molekularnog testiranja u Hrvatskoj / The biggest challenges of molecular testing in Croatia



SLIKA 5. NAJVEĆI IZAZOVI MOLEKULARNOG TESTIRANJA U HRVATSKOJ
FIGURE 5. THE BIGGEST CHALLENGES OF MOLECULAR TESTING IN CROATIA

bolešću, ali također često koriste ove testove za pacijente s dijagnozom rijetkih karcinoma ili karcinoma nepoznatog podrijetla, kao i za pacijente kojima je tek postavljena dijagnoza maligne bolesti.

Ovi rezultati mogu odražavati kako onkolozi posežu za NGS-testovima radi informiranja o strategijama liječenja kada utvrđene terapije nisu uspjele ili kada postoji neizvjesnost o korisnosti postojećih smjernica za liječenje manje uobičajenih kliničkih situacija. S obzirom na moguće višestruke terapijske opcije koje ciljaju specifične pokretačke mutacije, onkolozi mogu poslati uzorak tumora za sekvenciranje s nadom da će identificirati tretmane koji su potencijalno učinkoviti za određeni molekularni podtip tumora njihovog pacijenta.^{9,10}

U našoj anketi više od dvije trećine onkologa izjavilo je da koriste rezultate NGS-testova kako bi pacijentima osigurali ciljanu terapiju odobrenu od strane osiguravatelja ili kako bi bolesnicima osigurali terapiju putem milosrdne ili primjene lijeka *off-label*, dok je trećina ispitanika izjavila kako koristi NGS-testove radi utvrđivanja prihvatljivosti za klinička ispitivanja.

S obzirom na sve veće oslanjanje na genetske biomarkere za usmjeravanje odobrenih terapijskih preporuka ili uključivanje u klinička ispitivanja, NGS će ostati sastavni dio medicinske onkološke prakse koja se razvija.¹¹

Napredak u preciznoj onkologiji postavlja izazove za onkologe.¹² Prvi izazov je, prema mišljenju ispitanih onkologa, nemogućnost liječenja sukladno rezultatima testa (81%), potom vrijeme potrebno za dobivanje rezultata (52%) i dodatni financijski izdatci povezani s testiranjem (38%).

Rezultati NGS-testa često su dvosmisleni, što predstavlja još jedan izazov za onkologe. Tako je većina naših ispitanika imala poteškoća s tumačenjem rezultata testa (8% često, 71% ponekad). Jedan od razloga je svakako činjenica kako gotovo dvije trećine ispitanika (64%) tijekom svoga fakultetskog i/ili specijalističkog obrazovanja nisu imali edukaciju iz kliničke genetike. Slične rezultate možemo naći analizom podataka američkih autora gdje je većina onkologa izvijestila o neformalnoj/nikakvoj obuci u tumačenju (72%) ili priopćavanju (86%) rezultata NGS-a.¹³

Nešto manje od trećine ispitanika ne koristi NGS u svojoj kliničkoj praksi. Kao glavni razlog navode nemogućnost liječenja sukladno rezultatima testa, a odmah potom kao razlog netestiranja slijedi nedostatak smjernica utemeljenih na dokazima (36%). Naime, prvi tip raka za koji je postojala konsenzusna preporuka za korištenje NGS-a bio je karcinom pluća nemalih stanica¹⁴, dok su prve preporuke znanstvenog društva o korištenju NGS-a izdane u kolovozu 2020. godine od

strane Europskog društva za internističku onkologiju (ESMO).¹⁵ Gotovo četvrtina onkologa kao razlog nekorisćenja NGS-a navela je nedovoljnu informiranost o pristupu NGS-u u Hrvatskoj, a znatan broj onkologa (21%) ne koristi NGS zbog nemogućnosti slanja materijala na testiranje.

Naša studija ima nekoliko ograničenja. Prvo, ispitani su uglavnom internistički onkolozi s obzirom na to da su kod ispitivanja korištene adrese e-pošte iz baze podataka Hrvatskog društva za internističku onkologiju. Još jedno ograničenje jest to što nismo mogli procijeniti kako onkolozi koriste testove u specifičnim kliničkim situacijama i za koje vrste raka indiciraju testiranje. Međutim, ta su ograničenja kompenzirana s nekoliko prednosti studije, uključujući nacionalno reprezentativan uzorak onkologa kao i činjenicu da gotovo trećina ispitanika zbrinjava više od 150 bolesnika s rakom mjesečno, što nam je omogućilo analizu više čimbenika povezanih s uporabom NGS-a i uvid u različite obrasce prakse.

Svjedoci smo brze komercijalizacije i usvajanja genskih testova u praksi. No, postoji također potreba za praćenjem uporabe ovih novih tehnologija kako bi se osiguralo da pacijenti s rakom imaju pristup odgovarajućem testiranju kao i učinkovitoj terapiji.^{16,17}

Zaključak

Većina onkologa u Hrvatskoj koristi NGS-testove u svojoj kliničkoj praksi, pri čemu rezultati NGS-a u znatnoj mjeri utječu na donošenje odluka o liječenju. Potrebno je poboljšati uvjete molekularnog testiranja u Hrvatskoj, osigurati podršku prilikom interpretacije rezultata NGS-a te uložiti dodatne napore kako bi se svim onkološkim pacijentima koji mogu imati koristi od novih tehnologija omogućila jednaka dostupnost NGS-u te potom osigurala terapija sukladno rezultatima testa.

Zahvala

Zahvaljujemo svim kolegama iz kliničkih i nekliničkih onkoloških centara na suradnji i podršci.

INFORMACIJE O SUKOBU INTERESA

Autori nisu deklarirali sukob interesa relevantan za ovaj rad.

INFORMACIJA O FINANCIRANJU

Za ovaj članak nisu primljena financijska sredstva.

DOPRINOS AUTORA

KONCEPCIJA ILI NACRT RADA: RKD, AB

PRIKUPLJANJE, ANALIZA I INTERPRETACIJA PODATAKA: RKD, AB

PISANJE PRVE VERZIJE RADA: RKD, AB

KRITIČKA REVIZIJA: RKD, AB

LITERATURA

1. *Lightbody G, Haberland V, Browne F, Taggart L, Zheng H, Parkes E i sur.* Review of applications of high-throughput sequencing in personalized medicine: Barriers and facilitators of future progress in research and clinical application. *Brief Bioinform.* 2019;20(5):1795–811.
2. *Freedman AN, Klabunde CN, Wiant K, Enewold L, Gray SW, Filipiski KK i sur.* Use of next-generation sequencing tests to guide cancer treatment: Results from a nationally representative survey of oncologists in the United States. *JCO Precis Oncol.* 2018;(2):1–13.
3. *Shetty O, Gurav M, Bapat P, Karnik N, Wagh G, Pai T i sur.* Moving next-generation sequencing into the clinic. *Indian J Med Paediatr Oncol.* 2021;42(03):221–8.
4. *Moorcraft SY, Gonzalez D, Walker BA.* Understanding next generation sequencing in oncology: A guide for oncologists. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2015;96(3):463–74.
5. *Bartoletti M, Bergamini A, Giannone G, Nero C, Musacchio L, Farolfi A i sur.* A fully virtual and nationwide molecular tumor board for gynecologic cancer patients: The virtual experience of the MITO cooperative group. *Int J Gynecol Cancer.* 2022;32(9):1205–7.
6. *Horgan D, Curigliano G, Rieß O, Hofman P, Büttner R, Conte P i sur.* Identifying the steps required to effectively implement next generation sequencing in oncology at a national level in Europe. *J Pers Med.* 2022;12(1):72.
7. *Hrvatski zavod za javno zdravstvo.* Hrvatski zdravstveno-statistički ljetopis. Dostupno na: <https://www.hzjz.hr/hrvatski-zdravstveno-statisticki-ljetopis-za-2020-tablicni-podaci>. Datum pristupa: 14. 03. 2023.
8. *Kelemenic-Drazin R, Budisavljevic A.* 1609P Cancer care in Croatia, comparison with surrounding countries: Can we do better? *Ann Oncol.* 2020;31(Suppl 4):S968.
9. *Karlovich CA, Williams PM.* Clinical applications of next-generation sequencing in precision oncology. *Cancer J.* 2019; 25(4):264–71.
10. *Lombardo R, Tosi F, Nocerino A, Bencardino K, Gambi V, Ricotta R i sur.* The quest for improving treatment of cancer of unknown primary (CUP) through molecularly-driven treatments: A systematic review. *Front Oncol.* 2020;10.
11. *Mansfield AS, Park BH, Mullane MP.* Identification, prioritization, and treatment of mutations identified by next-generation sequencing. *Am Soc Clin Oncol Educ Book.* 2018;(38): 873–80.
12. *Shin SH, Bode AM, Dong Z.* Addressing the challenges of applying precision oncology. *NPJ Precis Oncol.* 2017;1(1).
13. *Hall MJ, D'Avanzo P, Chertock Y, Brajuha J, Bass SB.* Oncologists' perceptions of tumor genomic profiling and the communication of test results and risks. *Public Health Genom.* 2021;24(5–6):304–9.
14. *Ettinger DS, Wood DE, Akerley W, Bazhenova LA, Borghaei H, Camidge DR i sur.* Non-small cell lung cancer, version 6.2015. *J Natl Compr Cancer Netw.* 2015;13(5):515–24.
15. *Mosele F, Remon J, Mateo J, Westphalen CB, Barlesi F, Lolkema M i sur.* Recommendations for the use of next-generation sequencing (NGS) for patients with metastatic cancers: A report from the ESMO Precision Medicine Working Group. *Ann Oncol.* 2020;31(11):1491–505.
16. *Lu CY, Williams MS, Ginsburg GS, Toh S, Brown JS, Houry MJ.* A proposed approach to accelerate evidence generation for genomic-based technologies in the context of a learning health system. *Genet Med.* 2018;20(4):390–6.
17. *Morash M, Mitchell H, Beltran H, Elemento O, Pathak J.* The Role of Next-Generation Sequencing in Precision Medicine: A Review of Outcomes in Oncology. *J Pers Med.* 2018;8(3):30.