



Biomarkery a úloha sekvenovania novej generácie v modernej onkológii

PharmDr. Lukáš Stanzel, PhD.¹, RNDr. Tomáš Augustín, PhD.², Mgr. Ondrej Bobovnický³, MUDr. Ivana Böhm⁴, Mgr. Eva Findra³, Mgr. Igor Rašlík, PhD.⁵, MUDr. Ingrid Tóthová⁶, RNDr. Regina Lohajová Behulová, PhD.^{7,8,9}

¹MERCK spol. s r. o., Bratislava

²Amgen Slovakia, s. r. o., Bratislava

³Johnson & Johnson, s. r. o., Bratislava

⁴PFIZER LUXEMBOURG SARL, Bratislava

⁵Merck Sharp & Dohme, s. r. o., Bratislava

⁶AstraZeneca AB, o.z., Bratislava

⁷Oddelenie lekárskej genetiky, Onkologický ústav sv. Alžbety, Bratislava

⁸Katedra genetiky a molekulárnej medicíny, Lekárska fakulta SZU, Bratislava

⁹Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky, LF UK a UN Bratislava

Biomarkery predstavujú biologické charakteristiky nádorového tkaniva, ktoré majú význam pre diagnostiku, prognózu a predikciu odpovede na liečbu, a ktorých detekcia je kľúčová na stanovenie správnej diagnózy, výber vhodnej liečby a monitorovanie terapeutického odpovede.

Nasledujúci prehľad má za cieľ zhrnúť význam biomarkerov v klinickej onkológii a poukázať na rastúci význam sekvenovania novej generácie (NGS) v personalizovanej medicíne. Analýzou dostupných poznatkov o diagnostických, prognostických a prediktívnych biomarkeroch a vybraných dát o využití NGS v krajinách EÚ a biomarkerovej závislosti EMA registrovaných onkologických indikácií v rokoch 2015 – 2024 sme zistili, že približne 43 % EMA registrovaných onkologických indikácií vyžaduje potvrdenie prediktívneho biomarkera pred začatím liečby.

NGS je najviac etablované v diagnostike karcinómu pľúc, kolorekta a prsníka, pričom jeho širšiu implementáciu limitujú rozdiely v úhradách, financovaní a nedostatok lokálnych farmakoekonomických dát. Biomarkerové testovanie vrátane NGS je pritom kľúčové pre správnu stratifikáciu pacientov a optimalizáciu liečby. Jeho širšia implementácia si však vyžaduje štandardizované indikačné kritériá a stabilné úhradové mechanizmy.

Kľúčové slová: biomarker, molekulárna diagnostika, masívne paralelné sekvenovanie, NGS, precízna medicína, ESCAT, ESMO

Biomarkers and the role of next-generation sequencing in modern oncology

Biomarkers are biological characteristics of tumour tissue that are important for diagnosis, prognosis and prediction of response to treatment, and whose detection is crucial for establishing the correct diagnosis, choosing the appropriate treatment and monitoring therapeutic response.

This review summarises the importance of biomarkers in clinical oncology and highlights the growing role of NGS in personalised medicine. By analysing available knowledge on diagnostic, prognostic and predictive biomarkers, and selected data on the use of NGS in EU countries and the biomarker dependence of EMA-registered oncology indications in 2015–2024, we found that approximately 43% of EMA-registered oncology indications require confirmation of a predictive biomarker before starting treatment.

NGS is most established in the diagnosis of lung, colorectal and breast cancers, while wider implementation is limited by differences in reimbursement and financing, and by a lack of local pharmacoeconomic data. Biomarker testing, including NGS, is crucial for proper patient stratification and treatment optimisation, but wider implementation requires standardised indication criteria and stable reimbursement mechanisms.

Key words: biomarker, molecular diagnosis, high-throughput sequencing, NGS, precision medicine, ESCAT, ESMO

Onkológia (Bratisl.), 2026;21(3):178-182

ÚVOD

Rozvoj biotechnológií a bioinformatiky transformoval onkológiu od štandardizovaných liečebných schém k prístupu riadenému molekulárnymi charakteristikami nádoru. Kľúčovú úlohu v tejto transformácii zohrávajú biomarkery – merateľné biologické charakteristiky nádoru poskytujúce informácie o diagnostickej klasifikácii, prognostickom profile a pravdepodobnosti odpovede na špecifickú liečbu. Ich identifikácia je nevyhnutná nielen na presné určenie diagnózy, ale aj na výber optimálnej terapeutického stratégie a následné hodnotenie účinnosti liečby (1, 2). Implementácia NGS do klinickej praxe tak umožňuje personalizovanou terapiou nahradiť tradičný empirický prístup s cieľom zlepšiť účinnosť a bezpečnosť liečby a aj celkové prežívanie pacientov (3).

Sekvenovanie novej generácie (NGS) je metóda masívneho paralelného sekvenovania DNA a RNA. Umožňuje čítať milióny

úsekov genetickej informácie súčasne a tým prekonáva staršie postupy v rýchlosti, cene a objeme vygenerovaných dát (4, 5).

Jednogenové testovanie sa využíva najmä na rýchlu detekciu vybraných prediktívnych biomarkerov, zatiaľ čo cielené DNA a DNA/RNA NGS panely umožňujú súčasnú analýzu všetkých klinicky relevantných genetických alterácií odporúčaných ESMO a NCCN vrátane jednonukleotidových variantov (SNV), malých inzercii a delécií (indel), zmien počtu kópií génov (CNV), génových amplifikácií, delécií, splice variantov a génových fúzií. Vybrané panely zároveň umožňujú stanovenie širších genomických biomarkerov, ako sú tumor mutational burden (TMB) a homologous recombination deficiency (HRD). V klinickej molekulárnej diagnostike sa využívajú predovšetkým dva prístupy prípravy NGS knižníc – amplikónové panely a hybridizačné (hybrid capture) panely, pričom ich výber závisí od klinickej indikácie, požadovaného rozsahu analyzovaných biomarkerov

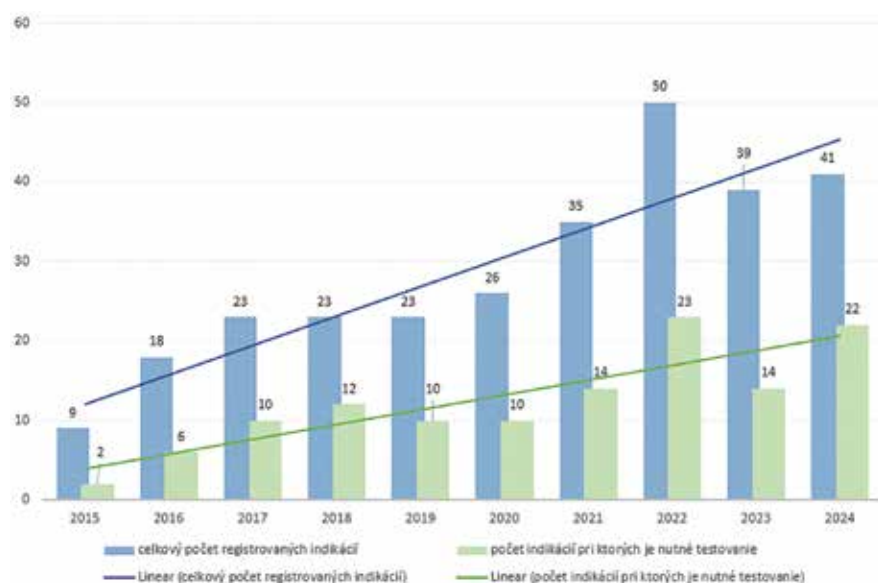
a kvality biologického materiálu. Hybridizačné panely navyše umožňujú spoľahlivú detekciu génových fúzií vrátane fúzií s neznámym fúznym partnerom. Významnou výhodou NGS je možnosť súčasného spracovania desiatok vzoriek pacientov v jednom sekvenačnom behu (multiplexing), pričom do jedného behu môžu byť zaradení pacienti s rôznymi diagnózami a odlišnými klinickými indikáciami. Takýto prístup umožňuje efektívne využitie sekvenačnej kapacity, znižuje náklady na jedno vyšetrenie a pri optimálnej organizácii laboratórneho procesu zabezpečuje štandardný čas od prijatia vzorky po vydanie výsledku približne 10 až 14 pracovných dní.

NGS V KONTEXTE NÁKLADOVEJ EFEKTÍVNOSTI

V rámci molekulárnej charakterizácie nádorov sa na detekciu genetických a epigenetických zmien používajú metódy molekulárnej genetiky (cieľené PCR prístupy, masívne paralelné sekvenovanie – NGS, FISH). S narastajúcou potrebou komplexného testovania viacerých molekulárnych biomarkerov (diagnostických, prognostických, kurabilných) a často limitovaným množstvom a kvalitou dostupného nádorového tkaniva sa masívne paralelné sekvenovanie stáva čoraz preferovanejšou metódou molekulárneho profilovania. Aktuálne odporúčania ESMO podporujú využitie NGS najmä pri pokročilom nemalobunkovom karcinóme pľúc, karcinóme prostaty, karcinóme ovárií, cholangiokarcinóme a karcinóme neznámeho pôvodu, pričom pri kolorektálnom karcinóme predstavuje NGS alternatívu oproti konvenčným PCR metodikám (6, 7). V porovnaní s metódami umožňujúcimi detekciu iba jedinej molekulárnej alterácie (qPCR, FISH) poskytuje NGS detekciu viacerých biomarkerov. Otázkou tak ešte ostáva nákladová efektívnosť takéhoto vyšetrenia.

Štúdia „Current use of next-generation sequencing in the EU TOP4“ analyzujúca využitie NGS vo Francúzsku, v Nemecku, Taliansku a Španielsku, ukázala, že NGS je v klinickej onkológii vnímané ako prínosný nástroj najmä pri dostupnosti cieľenej liečby pre identifikované molekulárne alterácie. Najväčšie uplatnenie má v diagnostike karcinómu pľúc, kolorekta a prsníka.

Graf 1. Počet indikácií registrovaných v rokoch 2015 – 2024 a ich závislosť od molekulárno-genetického testovania



Jeho širšiemu rutinnému využívaniu však bránia nejednotné pravidlá, rozdiely v úhradách a nedostatok lokálnych dôkazov o nákladovej efektívnosti (8). Metaanalýza Mirza et al. zároveň naznačila, že použitie menších génových panelov je nákladovo efektívne najmä pri potrebe analýzy aspoň štyroch génov (9).

Cieľom predloženej analýzy pracovnej skupiny AIFP je pohľad na vývoj potreby testovania biomarkerov v rokoch 2015 – 2024 (graf 1) (10). Analýza 287 EMA registrovaných onkologických a hematoonkologických indikácií v danom období potvrdila narastajúci význam biomarkermi riadenej liečby (11). Pred začatím liečby vyžadovalo potvrdenie prediktívneho biomarkera 123 indikácií (43 %), zatiaľ čo 57 % indikácií bolo možné podať bez molekulárno-genetického testovania. Tento trend odzrkadľuje postupný prechod od tradičného histopatologického prístupu k personalizovanej medicíne založenej na molekulárnej diagnostike.

DISTRIBÚCIA PODĽA ORGÁNOVÉHO POSTIHNUTIA

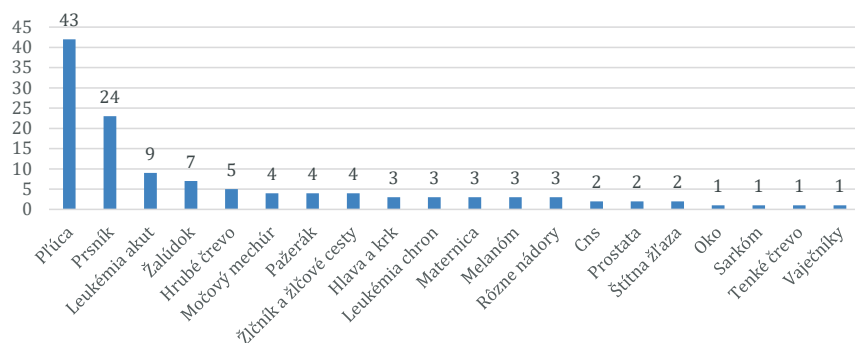
Najväčšie zastúpenie medzi registrovanými indikáciami má karcinóm pľúc (51 indikácií; 17,8 %), nasledovaný lymfómami (36 indikácií; 12,5 %) a mnohopočetným myelómom (25 indikácií; 8,7 %). Karcinóm prsníka a akútne leukémie predstavujú približne 8 % indikácií. Táto distribúcia odzrkadľuje epidemiologickú záťaž uvedených malignít a zároveň intenzívny výskum v oblasti cieľenej terapie a imunoterapie týchto nádorov.

ORGÁNOVO-ŠPECIFICKÁ ZÁVISLOSŤ OD BIOMARKEROV

Miera biomarkerovej závislosti vykazuje významnú heterogenitu medzi jednotlivými orgánovými systémami. Najvyššia proporционаlita marker-dependentných indikácií bola identifikovaná pri karcinóme prsníka (100 %, t. j. 24 z 24 indikácií) a karcinóme pľúc (84 %, t. j. 43 z 51 indikácií), čo korešponduje s etablovanou úlohou receptorov HER2, HR a génov *EGFR* a *ALK* pri terapeutickom rozhodovaní (graf 2). Vysokú závislosť od molekulárnej diagnostiky vykazujú aj karcinóm žalúdka (88 %, t. j. 7 z 8 indikácií) a kolorektálny karcinóm (63 %, t. j. 5 z 8 indikácií), kde status MSI-H/dMMR a expresia PD-L1 determinujú vhodnosť pre imunoterapiu. Na rozdiel od toho karcinóm obličky zostáva doménou štandardnej liečby bez požiadavky na molekulárnu stratifikáciu (0 %).

KVALITA DŮKAZOV PODĽA KLASIFIKÁCIE ESCAT

Analýza úrovne dôkazov podľa škály ESMO Scale for Clinical Actionability of Molecular Targets (ESCAT) (12) preukázala, že 45 % marker-dependentných indikácií disponuje najvyššou úrovňou dôkazu IA, indikujúcou prospektívne validované bio-


Graf 2. Graf znázorňujúci počet indikácií závislých od biomarkerov podľa zasiahnutého orgánu

Tabuľka 1. Distribúcia biomarkerov v indikáciách karcinómu pľúc (51 indikácií)

Biomarker/gén	Počet indikácií	% z celkového zastúpenia
ALK+	9	18 %
EGFR+ (všetky varianty)	9	18 %
Wild-type (bez EGFR/ALK)	9	18 %
PD-L1 expresia	7	14 %
KRAS G12C	2	4 %
MET exon 14	2	4 %
RET fúzie	1	2 %
ROS1+	1	2 %
BRAF V600	1	2 %
HER2+	1	2 %
Bez špecifického markera	9	18 %

Tabuľka 2. Prierezový prehľad registrácií (2015 – 2024), agregovaná analýza podľa období

Obdobie	Celkový počet indikácií	S biomarkerom	Priemer %	Interpretácia
2015 – 2017	9	6	67 %	úvodná fáza TKI
2018 – 2020	14	7	50 %	éra imunoterapie
2021 – 2022	8	8	100 %	boom precíznej medicíny
2023 – 2024	18	11	62 %	diverzifikácia liečby
Celkovo	51	34	67 %	

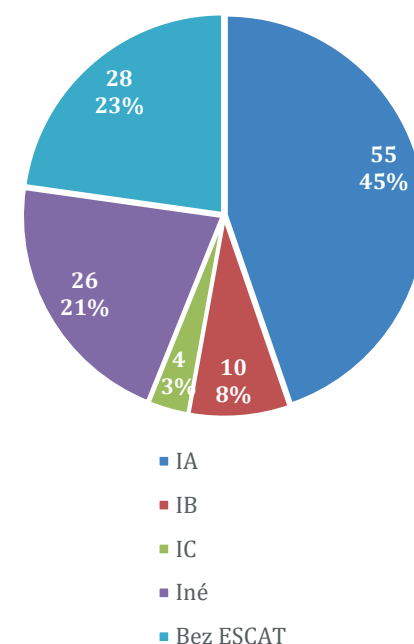
markery s potvrdeným klinickým benefitom v randomizovaných štúdiách. Úroveň IB a IC predstavujú ďalších 11 % indikácií. Tento profil potvrdzuje solídnu evidenčnú bázu na implementáciu biomarkerovej diagnostiky v klinickej praxi (graf 3).

Analýza reflektuje transformáciu onkologickej farmakoterapie smerom k personalizovanej medicíne s dominantnou úlohou biomarkerov v pľúcnej onkológii. Úhrada onkologických indikácií na Slovensku často nekoreluje s EMA odporúčaniami a viaceré liečebné možnosti podliehajú dodatočným indikačným obmedzeniam (13). Tie sa týkajú približne 38 z 85 hrađených indikácií a znižujú dostupnosť modernej liečby v porovnaní s inými krajinami EÚ. Obmedzenia zahŕňajú najmä redukciu indikačných skupín, limitáciu vyššími líniami liečby alebo podmienky viazané na ECOG status či expresiu PD-L1.

TESTOVANIE MARKEROV V KARCINÓME PĽÚC

Karcinóm pľúc patrí medzi najvýznamnejšie oblasti precíznej onkológie. Rozvoj molekulárnej diagnostiky umožnil identifikáciu alterácií v génoch, ako sú *EGFR*, *ALK*, *ROS1*, *RET* či *PD-L1*, ktoré zásadne ovplyvňujú výber cielej liečby (tabuľka 1).

Medzi najčastejšie zastúpené biomarkery patria alterácie v génoch *ALK* a *EGFR*, oba s 9 indikáciami (18 %). *EGFR* varianty zahŕňajú klasické senzitivizujúce mutá-

Graf 3. Graf znázorňujúci distribúciu ESCAT klasifikácie pri indikáciách vyžadujúcich testovanie


cie (del19, L858R), rezistentnú mutáciu T790M a inzercie v exóne 20. Indikácie viazané na expresiu *PD-L1* predstavujú 14 % zo všetkých pľúcnych indikácií.

Z celkového počtu 51 indikácií pre karcinóm pľúc vyžadovalo 67 % potvrdenie špecifického biomarkera a až 84 % indikácií vyžadovalo molekulárne testovanie. Najčastejšie boli zastúpené alterácie v génoch *EGFR* a *ALK*, nasledované expresiou *PD-L1*. Vývoj registrácií dokumentuje postupný prechod od éry tyrozínkinázových inhibítorov k širšiemu využívaniu imunoterapie a následne k rozšíreniu nových biomarkerovo viazaných terapií, ako varianty v génoch *KRAS G12C* alebo preskakovanie exónu 14 v géne *MET* (tabuľka 2).

Väčšina indikácií dosiahla vysokú úroveň evidencie podľa ESCAT aj ESMO klasifikácie, čo potvrdzuje robustné klinické dôkazy podporujúce biomarkermi riadenú liečbu (tabuľka 3) (14, 15).

Analýza odporúčaní ESMO preukázala podobné rozloženie ako klasifikácia ESCAT. Väčšina indikácií (69 %) dosiahla najvyššiu úroveň evidencie ESMO IA. Viac ako tri štvrtiny indikácií (76 %) dosiahli najvyššiu úroveň odporúčania ESMO (IA alebo IB) (tabuľka 4).

Na Slovensku je hrađených približne 35 % EMA registrovaných indikácií pre karcinóm pľúc, pričom významné obmedzenia sa týkajú najmä novších mo-

**Tabuľka 3.** ESCAT klasifikácia indikácií karcinómu pľúc

ESCAT klasifikácia	Počet	Percentuálny podiel (%)
Indikácie registrované na karcinóm pľúc	51	
ESCAT IA + IB spolu	40	78 %
ESCAT IA	35	69 %
ESCAT IB	5	10 %

Tabuľka 4. ESMO odporúčanie na indikácie karcinómu pľúc

ESMO klasifikácia	Počet	Percentuálny podiel (%)
Indikácie registrované na karcinóm pľúc	51	
ESMO IA + IB spolu	39	76 %
ESMO IA	35	69 %
ESMO IB	4	8 %

lekulárne cielených terapií (8, 10). Precízna medicína sa stala dominantným terapeutickým prístupom v liečbe NSCLC a medzinárodné odporúčania zdôrazňujú potrebu komplexného molekulárneho profilovania všetkých pacientov s pokročilým ochorením.

Vysoký podiel indikácií s ESCAT IA klasifikáciou (69 %) a ESMO IA odporúčaním (tiež 69 %) potvrdzuje robustnú klinickú evidenciu podporujúcu biomarkermi riadenú liečbu.

■ TESTOVANIE MARKEROV V KARCINÓME PRSNÍKA

Karcinóm prsníka patrí medzi nádory s najvýraznejšou implementáciou biomarkerovej diagnostiky. V období rokov 2015 – 2024 bolo registrovaných 24 nových indikácií viazaných na prítomnosť biomarkera.

Štandardné biomarkerové vyšetrenie zahŕňa hormonálne receptory, HER2, Ki67 a v indikovaných prípadoch aj PD-L1. Narastajúci význam má aj genetické testovanie génov *BRCA1/2*, *PIK3CA*, *PTEN*, *AKT1* či *ESR1*, ktoré umožňuje výber cielej liečby (18, 19).

Zo všetkých registrovaných indikácií dosiahlo 75 % najvyššie odporúčanie ESMO IA a polovica indikácií disponovala najvyššou úrovňou ESCAT IA (12, 13). Na Slovensku je hrađených približne 58 % týchto indikácií (13).

Štúdia Medi-LINE® analyzujúca slovenských pacientov s karcinómom prsníka potvrdila význam rutinného biomarkerového testovania a zároveň poukázala na možnú nedostatočnú detekciu *BRCA* mutácií v klinickej praxi (18).

Precízna medicína je dominantným terapeutickým prístupom aj v liečbe karcinómu prsníka, kde všetky indikácie sú viazané na prítomnosť biomarkera.

Vysoký podiel indikácií s ESCAT IA klasifikáciou (50 %) a ESMO IA odporúčaním (75 %) aj v tomto prípade potvrdzuje robustnú klinickú evidenciu podporujúcu biomarkermi riadenú liečbu.

■ AKTUÁLNA SITUÁCIA VYUŽÍVANIA NGS V SR

Na Slovensku je molekulárna diagnostika solídnych nádorov realizovaná kombináciou jednogénových analýz využívajúcich qPCR a komplexného molekulárneho profilova-

nia pomocou NGS. NGS vyšetrenia sú v súčasnosti rutinne implementované do diagnostiky vybraných solídnych nádorov a ich využitie na Slovensku postupne narastá.

■ Karcinóm pľúc

V prípade nemalobunkového karcinómu pľúc (NSCLC) predstavuje komplexné molekulárne profilovanie štandardnú súčasť diagnostického algoritmu. NGS panely pokrývajú mutácie *EGFR*, *KRAS* (vrátane *KRAS G12C*), *BRAF V600E*, mutácie *ERBB2 (HER2)*, alterácie génu *MET* vrátane *MET exon 14 skipping*, génových amplifikácií a ďalších zmien počtu kópií, ako aj génové fúzie *ALK*, *ROS1*, *RET* a *NTRK1/2/3*. Súčasťou analýzy je detekcia všetkých klinicky významných alterácií na úrovni DNA aj RNA vrátane SNV, indel, CNV, amplifikácií, delécií, splice variantov a génových fúzií, pričom expresia PD-L1 sa naďalej stanovuje imunohistochemicky. Pri nedostupnosti nádorového tkaniva alebo nemožnosti opakovanej biopsie sa rutinne využíva aj tekutá biopsia, ktorá prostredníctvom analýzy cirkulujúcej nádorovej DNA (ctDNA) umožňuje komplexné molekulárne profilovanie všetkých klinicky relevantných biomarkerov odporúčaných pre NSCLC.

■ Karcinóm prsníka

Pri karcinóme prsníka sa rutinne využíva imunohistochemia (HR, HER2, Ki67) a FISH pre amplifikáciu HER2. NGS s klinickým vplyvom na výber liečby sa využíva najmä na detekciu: germinatívneho statusu *BRCA1/2* – podmienka na indikáciu PARP inhibítorov v metastatickom HER2-negatívnom karcinóme; *PIK3CA* – podmienka na indikáciu inhibítorov PI3K v HR+/HER2- metastatickom karcinóme; *ESR1* – pri monitorovaní rezistencie v metastatickom HR+/HER2- karcinóme (6).

Komplexné analýzy na úrovni NGS zamerané na detekciu prediktívnych biomarkerov sú na Slovensku hrađené z verejného zdravotného poistenia v špecializovaných centrách, ktoré disponujú potrebným technickým a odborným zázemím na vykonávanie molekulárno-genetickej diagnostiky.

Významné obmedzenia v dostupnosti liekov v SR sa týkajú najmä novších EMA registrovaných indikácií pre karcinóm pľúc a prsníka (10).

■ BUDÚCNOSŤ MOLEKULÁRNEJ DIAGNOSTIKY V ONKOLÓGI NA SLOVENSKU – PŘÍKLADY Z ČESKA

Príkladom systematického zavádzania NGS do klinickej praxe môže byť Česká republika, kde bolo od roku 2024 schválené vykonávanie NGS analýz pri hematatoonkologických aj solídnych nádoroch za definovaných podmienok (19, 20).

Na príprave odporúčaní spolupracovali zdravotné poisťovne aj odborné spoločnosti, čo umožnilo vytvorenie jednotného rámca na implementáciu biomarkerového testovania do klinickej praxe.

■ ZÁVER

Biomarkerové testovanie predstavuje dôležitý pilier modernej onkológie a jeho význam v klinickej praxi neustále narastá. Analýza 287 EMA registrovaných onkologických a hematatoonkologických indikácií z rokov 2015 – 2024 potvrdila, že takmer polovica (43 %) všetkých schválených indikácií vyžaduje pred začatím liečby potvrdenie prediktívneho bio-



markera. Najvýraznejší pokrok v implementácii biomarkerovej diagnostiky bol zaznamenaný v karcinóme prsníka a karcinóme pľúc, kde rutinné testovanie markerov determinuje výber cielej liečby.

Napriek týmto pokrokom pretrvávajú systémové bariéry, ktoré limitujú plnú implementáciu molekulárnej diagnostiky v klinickej praxi. Na Slovensku je hrađených len približne 35 % EMA registrovaných indikácií pre karcinóm pľúc a 58 % pre karcinóm prsníka, pričom viaceré liečebné možnosti podliehajú dodatočným indikačným obmedzeniam nad rámec medzinárodných odporúčaní.

Príklad Českej republiky, kde je od roku 2024 štandardizované využívanie NGS za účasti zdravotných poisťovní a odborných spoločností, by mohol byť inšpiráciou na systematickú implementáciu biomarkerového testovania. Obdobný prístup – zahŕňajúci jasné indikačné kritériá, stabilné úhra-

dové mechanizmy a spoluprácu všetkých zainteresovaných strán – je nevyhnutným predpokladom na to, aby mohli pacienti na Slovensku plnohodnotne benefitovať z personalizovanej onkologickej starostlivosti.

Vyjadrené názory nie sú názormi spoločností, ktoré zamestnávajú autorov analýzy, ale sú nezávislou analýzou členov pracovnej skupiny Orphans & Oncology medicines Asociácie inovatívneho farmaceutického priemyslu, ktorá združuje výrobcov originálnych liekov.

Pri príprave materiálu sa mohli použiť vlastné odborné postoje a názory odvodené od zdrojových dát. Údaje sú čerpané z verejne dostupných zdrojov tretích strán.

PharmDr. Lukáš Stanzel, PhD.

MERCK, spol. s r. o.

Dvořákovo nábrežie 4, Bratislava

lukas.stanzel@merckgroup.com

Literatúra

1. Califf RM. Biomarker definitions and their applications. *Exp Biol Med* (Maywood). 2018;243(3):213-21.
2. Khamat A, Adak A, Chakraborty S, et al. Unravelling the Role of Biomarker in Cancer Detection: An In-Depth Review. *Curr Pharmacol Rep*. 2025.
3. Haber DA, Gray NC, Baselga J. The evolving war on cancer. *Cell*. 2011;145(1):19-24.
4. Goodwin S, McPherson JD, McCombie WR. Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. *Nat Rev Genet*. 2016;17(6):333-51.
5. Bewicke-Copley F, Arjun Kumar E, Palladino G, et al. Applications and analysis of targeted next-generation sequencing in cancer genomics. *NPJ Genomic Med*. 2019;4:1-10.
6. Mosele F, 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. In press. 2026.
7. Krämer A, Bochtler T, Pauli C, et al. Cancer of unknown primary: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2023;Mar;34(3):228-246.
8. Hansson Hedblom A, Prunerí G, Quagliata L, et al. Cancer patient management: Current use of next-generation sequencing in the EU TOP4. *J Cancer Policy*. 2023;35:100376.
9. Mirza M, Goerke L, Anderson A, et al. Assessing the Cost-Effectiveness of Next-Generation Sequencing as a Biomarker Testing Approach in Oncology and Policy Implications: A Literature Review. *Value Health*. 2024;27(9):1300-1309.
10. Analýza AIFP: Postavenie biomarkerov pre indikáciu inovatívnej liečby karcinómu pľúc v SR na základe platných medzinárodných odporúčaní. Available from: <<https://aifp.sk/sk/media-a-verejnost/98/postavenie-biomarkerov-pre-indikaciju-inovativnej-liecby-karcinomu-pluc-v-sr-na-zaklade-platnych-medzinarodnych-odporucani/>>. Accessed May 18, 2026.
11. Summary of product characteristics | European Medicines Agency (EMA)
12. Mateo J, Chakravarty D, Dienstmann R, et al. A framework to rank genomic alterations as targets for cancer precision medicine: the ESMO Scale for Clinical Actionability of molecular Targets (ESCAT). *Ann Oncol*. 2018;29(9):1895-1902.
13. Ministerstvo zdravotníctva Slovenskej republiky, Zoznam kategorizovaných liekov 1.12.2025 – 31.12.2025, Časť B: indikačné obmedzenia. Available from: <<https://www.health.gov.sk/Clanok?lieky202512>>. Accessed May 18, 2026.
14. Planchard D, Popat S, Kerr K, et al. Metastatic non-small cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Ann Oncol*. 2018;29(Suppl 4):iv192-iv237.
15. Hendriks LE, Kerr KM, Menis J, et al. Oncogene-addicted metastatic non-small-cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guideline. *Ann Oncol*. 2023;34(4):339-357.
16. Loibl S, André F, Bachelot T, et al. Early breast cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2024;35(2):159-182.
17. Gennari A, André F, Barrios CH, et al. ESMO Clinical Practice Guideline for the diagnosis, staging and treatment of patients with metastatic breast cancer. *Ann Oncol*. 2021;32(12):1475-1495.
18. Ondrušová M, et al. Pharmacological Oncological Treatment of Breast Cancer in the Slovak Republic in 2023: Results of the Nationwide Epidemiological Study Medi-LINE®. *Value Health, (EPH 100)*. 2024;27:S240.
19. Stanovisko VZP ČR, SZP ČR, SČP ČLS JEP, ČOS ČLS JEP, ČHS ČLS JEP a SLG ČLS JEP, Doporučené podmínky pro nasmlouvání a provádění výkonu 94365 – Analýza sekvenace lidského somatického genomu technologií sekvenace nové generace (NGS) a výkonu 87701 – Testování somatických mutací z nádorové tkáně metodou sekvenace nové generace (NGS) zo 6. 12. 2023. Available from: <https://www.linkos.cz/files/pro_odborniky/info-praxe/ekonomika/NGS-memorandum-6-12-2023.pdf>. Accessed May 18, 2026.
20. Stanovisko VZP ČR, SZP ČR, SČP ČLS JEP, ČHS ČLS JEP a SLG ČLS JEP, Doporučené podmínky pro nasmlouvání a provádění výkonu 94365 – Analýza sekvenace lidského somatického genomu technologií sekvenace nové generace (NGS) a výkonu 87701 – Testování somatických mutací z nádorové tkáně metodou sekvenace nové generace (NGS) z 20. 3. 2024. Available from: <https://media.vzpstatic.cz/media/Default/dokumenty/stanovisko-20.3.2024_-94365_87701.pdf>. Accessed May 18, 2026.