3. SLOVENSKI ZNANSTVENI SIMPOZIJ O RAZISKAVAH RAKA

Dokazi iz realnega sveta

ZBORNIK PRISPEVKOV IN POVZETKOV

8. oktober 2026

Onkološki inštitut Ljubljana

Znanstveni odbor: Maja Čemažar, Onkološki inštitut Ljubljana & Univerza na Primorskem
Tanja Jesenko, Onkološki inštitut Ljubljana
Mateja Krajc, Onkološki inštitut Ljubljana
Simona Kranjc Brezar, Onkološki inštitut Ljubljana
Tanja Marinko, Onkološki inštitut Ljubljana
Erika Matos, Onkološki inštitut Ljubljana
Barbara Perić, Onkološki inštitut Ljubljana
Vesna Zadnik, Onkološki inštitut Ljubljana
Organizacijski odbor: Maja Čemažar, Onkološki inštitut Ljubljana & Univerza na Primorskem
Simona Kranjc Brezar, Onkološki inštitut Ljubljana
Sabina Lovšin, Onkološki inštitut Ljubljana
Tehnična podpora: Simona Kranjc Brezar, Onkološki inštitut Ljubljana

3. SLOVENSKI ZNANSTVENI SIMPOZIJ O RAZISKAVAH RAKA

Dokazi iz realnega sveta

ZBORNIK PRISPEVKOV IN POVZETKOV

Urednice: Simona Kranjc Brezar, Maja Čemažar, Tanja Marinko
Recenzentke: Maja Čemažar, Tanja Jesenko, Mateja Krajc, Simona Kranjc Brezar, Tanja Marinko, Barbara Perić, Vesna Zadnik
Lektorica: Ksenija Žmavc
Tehnična urednica: Simona Kranjc Brezar
Oblikovanje: Simona Kranjc Brezar
Izdano pri: Onkološki inštitut Ljubljana, Društvo radiologije in onkologije
Kraj in leto izdaje: Ljubljana, 2026
Izdaja: 1. elektronska izdaja
Format: pdf
Dostopno na: https://www.radiobio.si/images/docs/eBook_Zbornik_prispevkov_2026.pdf



Kataložni zapis o publikaciji (CIP) pripravili v Narodni in univerzitetni knjižnici v Ljubljani

COBISS.SI-ID 293610499
ISBN 978-961-7248-33-3 (Onkološki inštitut, PDF)

3. SLOVENSKI ZNANSTVENI SIMPOZIJ O RAZISKAVAH RAKA

Dokazi iz realnega sveta

8. oktober 2026

Onkološki inštitut Ljubljana

ZBORNIK PRISPEVKOV IN POVZETKOV

Organizatorji: Onkološki inštitut Ljubljana & Slovenska Akademija Znanosti in Umetnosti & Društvo radiologije in onkologije & Organisation of European Cancer Institutes

SPONZORJI

AbbVie Biofarmacevtska družba d. o. o.

Amgen zdravila d. o. o.

Astellas Pharma, trženje in distribucija farmacevtskih izdelkov d. o. o

AstraZeneca UK Limited, Podružnica v Sloveniji

Eli Lilly, farmacevtska družba, d. o. o.

Ewopharma d. o. o.

Labormed d.o.o.

Lenis d. o. o.

Mediline d. o. o.

MERCK SHARP & DOHME, inovativna zdravila d. o. o.

Merck, d. o. o.

Modra zavarovalnica d. d.

Novartis Pharma Services Inc., Podružnica v Sloveniji

Pfizer, podružnica za svetovanje s področja farmacevtske dejavnosti

Roche farmacevtska družba d. o. o.

Snow Monkey, SAVIN d.o.o.

Stada d. o. o.

Swixx Biopharma d. o. o.

KAZALO VSEBINE

PROGRAM 5

SEZNAM PRISPEVKOV 9

SEZNAM POVZETKOV 11

PRISPEVKI 17

POVZETKI 59

INDEKS AVTORJEV 137

SPONZORJI 141

PROGRAM

PROGRAM

Četrtek, 8. oktober 2026

8:00 - 8:25 **Prijava udeležencev**

8:25 - 8:30 **Pozdravni nagovor**
Maja Čemažar, Onkološki inštitut Ljubljana
Gregor Serša, Slovenska Skademija Znanosti in Umetnosti, Onkološki inštitut Ljubljana

1. del

Moderator: Erika Matos

8:30 - 9:00 **Real-World Evidence Generation: Best Practices and Prospects**
Rodrigo Dienstmann, Vall d'Hebron Institute of Oncology, Spain, ESMO Real-World Data and Digital Oncology
Vabljeno predavanje

9:00 - 9:20 **Clinical Cancer Registries for Real-World Evidence: From Quality of Care to Clinical Trials**
Vesna Zadnik, Institute of Oncology Ljubljana, Slovenia

9:20 - 9:40 **From Registries to the Clinic: Using Real-World Data to Make Predictions of Survival in Unresectable Melanoma**
Toby Hackmann, 4D PICTURE Consortium

9:40 - 10:00 **How Patient Partnership can Shape the Future of Cancer Care: An Irish Cancer Society Perspective**
Claire Kilty , Irish Cancer Society, Republic of Ireland

10:00 - 10:30 **Odmor**

2. del

Moderator: Mateja Krajc

10:30 - 10:45 **From consortium participation to international guideline initiative: the ALL-IC REL 2016 experience in relapsed childhood acute lymphoblastic leukaemia**
Tomaž Prelog, University Medical Centre Ljubljana, Slovenia

PROGRAM

10:45 - 11:00 **Multi-omic and single-cell approaches to understanding chronic lymphocytic leukemia heterogeneity**
Blaž Oder, Karolinska Institutet, Kraljevina Švedska

11:00 - 11:15 **Od bolniške postelje do bolnikovega doma: dve desetletji paliativne oskrbe s podatki iz realnega sveta**
Maja Ebert Moltara, Onkološki inštitut Ljubljana

11:15 - 11:30 **Podatki iz resničnega sveta v ginekološki onkologiji: od kliničnih raziskav do vsakdanje prakse**
Milena Mikluš, Univerzitetni klinični center Maribor

11:30 - 11:45 **Metode izolacije, detekcije in karakterizacije cirkulirajočih tumorskih celic in njihovo povezanost s preživetjem pri epitelijskem raku jajčnikov: pregledna analiza področja**
Simona Miceska, Onkološki inštitut Ljubljana

11:45 - 12:00 **Personalizirani tumorski avatarji razkrivajo terapevtski potencial trametiniba pri metastatskem glioblastomu: prikaz kliničnega primera**
Tina Kolenc Milavec, Nacionalni inštitut za biologijo

12:00 - 13:00 **Kosilo**

3. del

Moderator: Barbara Perić

13:00 - 13:15 **Rak dojk in T-DM1 po neoadjuvantni dvojni anti-HER2 blokadi: učinkovitost in prenosljivost v realnem kliničnem okolju**
Erika Matos, Tanja Ovčariček, Onkološki inštitut Ljubljana

13:15 - 13:30 **Dokazi iz realnega sveta: dedni rak dojk, rezultati desetletne genetske obravnave bolnic in bolnikov z rakom dojk na Onkološkem inštitutu Ljubljana**
Mateja Krajc, Onkološki inštitut Ljubljana

13:30 - 13:45 **Dokazi iz realnega sveta: PETER, presejanje za raka prostate**
Janka Čarman, Onkološki inštitut Ljubljana

13:45 - 14:00 **Obvladovanje simptomov zgornjih prebavil po odpredpisovanju zaviralcev protonske črpalke med diagnostiko pljučnega raka**
Nuša Japelj, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo

PROGRAM

14:00 - 14:15 **Perioperativna kemoimunoterapija resektabilnega nedrobnoceličnega raka pljuč v klinični praksi: primerjava z adjuvantnim zdravljenjem**
Ana Geltar, Univerzitetna klinika Golnik

14:15 - 14:45 **Odmor, ogled posterjev**

4. del

Moderator: Tanja Marinko

14:45 - 15:00 **Dokazi iz realnega sveta: rak rektuma**
Vaneja Velenik, Onkološki inštitut Ljubljana

15:00 - 15:15 **Elektrokemoterapija v kombinaciji z radioterapijo pri tumorjih glave in vratu: podatki iz podatkovne zbirke InspECT**
Gregor Serša, Onkološki inštitut Ljubljana

15:15 - 15:30 **Elektrokemoterapija bazalnoceličnega karcinoma pri starejših bolnikih – slovenske izkušnje in dokazi iz realnega sveta**
Maša Omerzel, Onkološki inštitut Ljubljana

15:30 - 15:45 **Zamujeni ambulantni pregledi pri onkoloških bolnikih zdravljenih z obsevanjem: raziskava pojavnosti, vzrokov in predlogov za izboljšanje**
Helena Barbara Zobec Logar, Peter Kus, Onkološki inštitut Ljubljana

Zaključno predavanje

15:45 - 16:00 **Zaključek srečanja**
Tanja Marinko in Maja Čemažar, Onkološki inštitut Ljubljana

SEZNAM PRISPEVKOV

SEZNAM PRISPEVKOV

1 OD BOLNIŠKE POSTELJE DO BOLNIKOVEGA DOMA: DVE DESETLETJI PALIATIVNE OSKRBE S PODATKI IZ REALNEGA SVETA
Maja Ebert Moltara *18*

2 FROM CONSORTIUM PARTICIPATION TO INTERNATIONAL GUIDELINE INITIATIVE: THE ALL-IC REL 2016 EXPERIENCE IN RELAPSED CHILDHOOD ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKAEMIA
Tomaž Prelog **25**

3 DOKAZI IZ REALNEGA SVETA V PODPORO KLINIČNEMU IN EKONOMSKEMU ODLOČANJU V ONKOLOGIJI
Marko Jeran **30**

4 PODATKI IZ RESNIČNEGA SVETA V GINEKOLOŠKI ONKOLOGIJI: OD KLINIČNIH RAZISKAV DO VSAKDANJE PRAKSE
Milena Mikluš **35**

5 MEROSLOVJE ZA PRECIZNO OBRAVNAVO RAKA: RAZVOJ REFERENČNIH MERILNIH POSTOPKOV IN REFERENČNIH MATERIALOV ZA GENOMSKO PROFILIRANJE RAKA
Mojca Milavec **41**

6 ELEKTROKEMOTERAPIJA BAZALNOCELIČNEGA KARCINOMA PRI STAREJŠIH BOLNIKIH: SLOVENSKE IZKUŠNJE IN DOKAZI IZ REALNEGA SVETA
Maša Omerzel **46**

7 DOKAZI IZ REALNEGA SVETA: RAK REKTUMA
Vaneja Velenik **50**

8 ZAMUJENI AMBULANTNI PREGLEDI PRI ONKOLOŠKIH BOLNIKIH , ZDRAVLJENIH Z OBSEVANJEM: RAZISKAVA POJAVNOSTI, VZROKOV IN PREDLOGOV ZA IZBOLJŠANJE
Helena Barbara Zobec Logar **54**

SEZNAM POVZETKOV

SEZNAM POVZETKOV

p1 **VLOGA PROTEINA MAGE C2 PRI CELIČNI ADHEZIJI GLIOBLASTOMSKE CELIČNE LINIJE LN-229**
Nika Banovšek **60**

p2 **GENSKI ELEKTROPRENOS PLAZMIDNE DNA Z ZAPISOM ZA INTERLEVKIN-12 V MEZENHIMSKE MATIČNE CELICE ZA LOKALNO INTRATUMORSKO TERAPIJO**
Tim Božič **62**

p3 **RAZVOJ IN FUNKCIONALNO VREDNOTENJE PLAZMIDOV, KI IZRAŽAJO BAKTERIJSKE TOKSINE, ZA CEPLJENJE PROTI RAKU *IN SITU***
Maja Cvetanoska **63**

p4 **DOKAZI IZ REALNEGA SVETA: PETER, PRESEJANJE ZA RAKA PROSTATE**
Janka Čarman **65**

p5 **HETEROGENI FUNKCIONALNI IN TRANSKRIPTOMSKI ODZIVI NA CO_2 PNEVMOPERITONEJ V MODELIH RAKA MATERNIČNEGA VRATU IN ENDOMETRIJA**
Helena Čelešnik **67**

p6 **REAL-WORLD EVIDENCE GENERATION: BEST PRACTICES AND PROSPECTS**
Rodrigo Dienstmann **69**

p7 **VLOGA MOLEKULARNE DIAGNOSTIKE PRI KOMPLEKSNIH HEMATOLOŠKIH NOVOTVORBAH**
Panna Dora **71**

p8 **LENNERTOVI LIMFOMI VEČINOMA PREDSTAVLJAJO nTFH-SKUPINO ZRELIH PERIFERNIH T-CELIČNIH LIMFOMOV**
Panna Dora **72**

p9 **SUBSTANCA P PREKO RECEPTORJA NK1R URAVNAVA ZUNAJCELIČNO AKTIVNOST CISTEINSKIH KATEPSINOV V MAKROFAGIH THP-1**
Ana Ercegovič Rot Peternelj **74**

p10 **PREMAGOVANJE ODPORNOSTI GLIOBLASTOMA: POVEČANJE UČINKOVITOSTI STANDARDNE IN NK-CELIČNE TERAPIJE Z INHIBICIJO POTI TGF-β**
Simona Katrin Galun **76**

p11 **PERIOPERATIVNA KEMOIMUNOTERAPIJA RESEKTABILNEGA NEDROBNOCELIČNEGA RAKA PLJUČ V KLINIČNI PRAKSI: PRIMERJAVA Z ADJUVANTNIM ZDRAVLJENJEM**
Ana Geltar **78**

p12 FROM REGISTRIES TO THE CLINIC: USING REAL-WORLD DATA TO MAKE PREDICTIONS OF SURVIVAL IN UNRESECTABLE MELANOMA
Toby Hackmann **79**

p13 OBVLADOVANJE SIMPTOMOV ZGORNJIH PREBAVIL PO ODPREDPISOVANJU ZAVIRALCEV PROTONSKE ČRPALKE MED DIAGNOSTIKO PLJUČNEGA RAKA
Nuša Japelj **80**

p14 VZPOSTAVITEV CELIČNE LINIJE IZ CIRKULIRAJOČIH TUMORSKIH CELIC MIŠJEGA MODELA RAKA DOJK 4T1 IN KARAKTERIZACIJA NJENEGA TRANSKRIPTOMA
Tanja Jesenko **82**

p15 VPLIV ELEKTROKEMOTERAPIJE (ECT) NA IZRAŽANJE MIOKINA IL-6 MED MIOGENEZO CELIC C2C12 *IN VITRO*
Mihaela Jurdana **83**

p16 SARKOPENIČNA DEBELOST PRI BOLNIKIH Z RAKOM
Mihaela Jurdana **84**

p17 VLOGA MELANOMSKEGA ANTIGENA MAGEC2 V GLIOBLASTOMU IN PROTITUMORSKEM IMUNSKEM ODZIVU
Vesna Jurjevič **85**

p18 SOČASNA ELEKTROPORACIJA ZA KOMBINIRANO ELEKTROKEMOTERAPIJO IN GENSKI ELEKTROPRENOS IL-12 KOT PRISTOP K *IN SITU* VAKCINACIJI TUMORJEV
Urška Kamenšek **87**

p19 HOW PATIENT PARTNERSHIP CAN SHAPE THE FUTURE OF CANCER CARE: AN IRISH CANCER SOCIETY PERSPECTIVE
Claire Kilty **89**

p20 KLASIFIKACIJA PRIMARNIH DIFUZNIH VELIKOCELIČNIH B-CELIČNIH LIMFOMOV DOJKE: ALI SODIJO MED LIMFOME IMUNOLOŠKO PRIVILEGIRANIH MEST?
Marjeta Kokelj **90**

p21 PERSONALIZIRANI TUMORSKI AVATARJI RAZKRIVAJO TERAPEVTSKI POTENCIAL TRAMETINIBA PRI METASTATSKEM GLIOBLASTOMU
Tina Kolenc Milavec **92**

p22 DOKAZI IZ REALNEGA SVETA: DEDNI RAK DOJK, REZULTATI DESETLETNE GENETSKE OBRAVNAVE BOLNIC IN BOLNIKOV Z RAKOM DOJK NA ONKOLOŠKEM INŠTITUTU LJUBLJANA
Mateja Krajc **93**

p23 VZDRŽEVALNO ZDRAVLJENJE Z OLAPARIBOM V PRVI LINIJI PRI BOLNICAH Z NAPREDOVALIM RAKOM JAJČNIKOV: PODATKI IZ NAŠE KLINIČNE PRAKSE
Maja Krajec **95**

p24 VPLIV RADIOTERAPIJE NA MIOGENEZO IN SIGNALIZIRANJE MIOKINA IL-6 V MIŠIČNI CELIČNI LINIJI C2C12
Katja Kramberger **97**

p25 VZPOSTAVITEV SPEKTRALNE PRETOČNE CITOMETRIJE ZA VISOKODIMENZIONALNO PROFILIRANJE IMUNSKEGA ODZIVA PO ELEKTROKEMOTERAPIJI TUMORJEV, PREDKLINIČNI MODEL
Simona Kranjc Brezar **98**

p26 OPTIMIZACIJA ELEKTROKEMOTERAPIJE ZA ZDRAVLJENJE OSTEOSARKOMA V PODKOŽNEM IN ORTOTOPIČNEM MODELU
Saša Kupčič **99**

p27 PREDKLINIČNO OVREDNOTENJE DEBIO 1143 V KOMBINACIJI Z ELEKTROKEMOTERAPIJO PRI PLOŠČATOCELIČNEM KARCINOMU USTNE VOTLINE
Urša Lampreht Tratar **100**

p28 VZPOSTAVITEV PREDKLINIČNIH ENDOTELIJSKIH MODELOV Z MUTACIJO PIK3CA-H1047R ZA PREUČEVANJE UČINKA BEST
Barbara Lisec **101**

p29 POVEZAVA POLIMORFIZMOV PON1 S POJAVOM NEŽELENIH UČINKOV OBSEVANJA NA KOŽI PRI DCIS
Maja Marinčič **103**

p30 RAK DOJK IN T-DM1 PO NEOADJUVANTNI DVOJNI ANTI-HER2 BLOKADI: UČINKOVITOST IN PRENOSLJIVOST V REALNEM KLINIČNEM OKOLJU
Erika Matos **104**

p31 METODE IZOLACIJE, DETEKCIJE IN KARAKTERIZACIJE CIRKULIRAJOČIH TUMORSKIH CELIC IN NJIHOVA POVEZANOST S PREŽIVETJEM PRI EPITELIJSKEM RAKU JAJČNIKOV: PREGLEDNA ANALIZA PODROČJA
Simona Miceska **105**

p32 OPTIMIZACIJA PROTOKOLA ZA PRIPRAVO CELIČNIH BLOKOV IZ MALOCELULARNIH VZORCEV TANKOIGELNIH ASPIRACIJSKIH BIOPSIJ Z UPORABO HISTOGELA
Simona Miceska **107**

p33 PREVALENCA VISOKORIZIČNIH GENOTIPOV HPV PRI HC2+ ŽENSKAH, VKLJUČENIH V NACIONALNI PRESEJALNI PROGRAM ZA RAKA MATERNIČNEGA VRATU IN TRIAŽIRANIH NA ONKOLOŠKEM INŠTITUTU LJUBLJANA
Simona Miceska **108**

p34 POPOLNA GENOTIPIZACIJA VISOKORIZIČNIH GENOTIPOV HPV V VZORCIH, ODVZETIH S TANKOIGELNO BIOPSIJO POVEČANIH BEZGAVK PRI BOLNIKIH S SUMOM NA PLOŠČATOCELIČNI KARCINOM OROFARINKSA
Simona Miceska **109**

p35 PREVALENCA SOMATSKEGA MOZAICIZMA V GENU APC PRI SLOVENSKIH BOLNIKIH Z 10 ALI VEČ ADENOMATOZNIMI POLIPI DEBELEGA ČREVESA IN DANKE
Aleksander Novaković **110**

p36 MULTI-OMIC AND SINGLE-CELL APPROACHES TO UNDERSTANDING CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA HETEROGENEITY
Blaž Oder **111**

p37 DOLOČANJE OBČUTLJIVOSTI MIŠJIH MODELOV MELANOMA B16-F10 IN KOLOREKTALNEGA KARCINOMA CT26 NA ELEKTROKEMOTERAPIJO S CISPLATINOM
Živa Pišljar **113**

p38 T-CELIČNI LIMFOM, POVEZAN Z ENTEROPATIJO V SLOVENIJI
Anja Prijatelj **114**

p39 PROSTORSKA TRANSKRIPTOMSKA ANALIZA ZA RAZLIKOVANJE MED PRIMARNIM HOLANGIOKARCINOMOM IN METASTATSKIM ADENOKARCINOMOM TREBUŠNE SLINAVKE V JETRIH
Uršula Prosenc Zmrzljak **116**

p40 TRACE ELEMENT RATIOS AS POTENTIAL PREDICTIVE AND PROGNOSTIC BIOMARKERS IN BILIARY TRACT CANCERS (BTCS) PATIENTS
Martina Reberšek **117**

p41 ELEKTROKEMOTERAPIJA V KOMBINACIJI Z RADIOTERAPIJO PRI TUMORJIH GLAVE IN VRATU: PODATKI IZ PODATKOVNE ZBIRKE INSPECT
Gregor Serša **118**

p42 PROTEOMSKA ANALIZA DECELULARIZIRANEGA ZUNAJCELIČNEGA MATRIKSA DEBELEGA ČREVESA KOT ORODJE ZA SISTEMATIČNO ODKRIVANJE BIOOZNAČEVALCEV V BLATU PRI ZGODNJEM NASTANKU TUMORJEV
Tea Sinožić **119**

p43 KARAKTERIZACIJA MEHANIZMOV CELIČNE SMRTI PO ELEKTROKEMOTERAPIJI Z BLEOMICINOM *IN VITRO* TER *IN VIVO*
Lara Snoj **120**

p44 OCENA PRAVILNOSTI PODAJANJA DIAGNOZ RAKA V DRUŽINAH S SUMOM NA PRISOTNOST SINDROMA DEDNEGA RAKA DOJK IN/ALI JAJČNIKOV: REZULTATI PROSPEKTIVNE RAZISKAVE
Ksenija Strojnik **122**

p45 DINAMIKA CIRKULIRAJOČIH TUMORSKIH CELIC IN NJIHOVIH SKUPKOV V PREDKLINIČNIH MIŠJIH MODELIH METASTATSKEGA RAKA DOJKE 4T1
Veronika Škrjanc **126**

p46 TRANSCRIPTIONAL PROFILING OF IMMUNE CHECKPOINT AND SIGNALLING BIOMARKERS IN CANINE ORAL MUCOSAL MELANOMA: A RETROSPECTIVE COHORT STUDY
Urša Štrancar **125**

p47 CELOTNO BREME AKTIVNOSTI KOT ZANESLJIVEJŠI LONGITUDINALNI SLIKOVNI BIOOZNAČEVALEC OD TARČNEGA TUMORSKEGA VOLUMNA PRI [^{177}Lu]Lu-PSMA SPECT/CT
Anja Štrok **127**

p48 COMPARATIVE EVALUATION OF TWO DNA BISULFITE CONVERSION PROTOCOLS FOR OPTIMIZING METHYLATION TESTING OF ARCHIVED DNA SAMPLES IN CERVICAL CANCER SCREENING
Tajda Tavčar Kunstič **128**

p49 INTRATUMORSKI GENSKI ELEKTROPRENOS TRANS-POMNOŽUJOČIH mRNA KOT PLATFORMA ZA GENSKO TERAPIJO RAKA
Katja Uršič Valentinuzzi **129**

p50 DOLOČANJE PRISOTNOST VIRUSA EPSTEIN-BARR V CITOLOŠKIH VZORCIH BOLNIKOV S SUMOM NA LIMFOMOM Z MOLEKULARNIM PCR TESTOM ALLPLEX MENINGITIS V1
Asja Volk **131**

p51 NOVA GENERACIJA GENSKE TERAPIJE RAKA - ELEKTROPRENOS SISTEMA GOLIH TRANS-POMNOŽUJOČIH mRNA NA CELICAH MIŠJEGA MELANOMA B16-F10
Jaka Vrevc Žlajpah **132**

p52 CLINICAL CANCER REGISTRIES FOR REAL-WORLD EVIDENCE: FROM QUALITY OF CARE TO CLINICAL TRIALS
Vesna Zadnik **135**

PRISPEVKI

OD BOLNIŠKE POSTELJE DO BOLNIKOVEGA DOMA: DVE DESETLETJI PALIATIVNE OSKRBE S PODATKI IZ REALNEGA SVETA

Maja Ebert Moltara

Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za akutno paliativno oskrbo, Ljubljana, Slovenija
Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Ljubljana, Slovenija

Elektronski naslov: mebert@onko-i.si

Izvleček

V prispevku predstavljajmo zgodbo Andreja in njegova vprašanja v življenju z neozdravljivo boleznijo. Pri 67 letih je kot mož in oče dveh hčera, od katerih ena ravnokar pričakuje otroka, zbolel za metastatskim rakom trebušne slinavke z obsežnimi zasevki v jetrih, z več pridruženimi boleznimi, z zelo slabimi izvidi in splošnim stanjem. Na multidisciplinarnem konziliju je bila sprejeta odločitev, da specifično onkološko zdravljenje ni indicirano in da naj se nadaljnja obravnava usmeri v paliativno oskrbo.

Uvod

Na ravni klinične odločitve je zapis jasen. Toda za Andreja in njegovo družino se pomembnejši del zgodbe šele začne.

Kaj v dejanskem življenju pomeni »paliativna oskrba«? Kdo ga bo obravnaval, kdaj, kako? Ali bo moral prihajati v bolnišnico ali bo pomoč lahko prejel doma? Kdo bo pomagal njegovi ženi in hčerkama? Kaj se bo zgodilo ob poslabšanju in kje bo preživel zadnje obdobje življenja?

To so vprašanja enega bolnika, enega trenutka zgodbe, a v resničnem svetu je celotna slika vedno širša od zgodbe posameznika. Je tudi zgodba njegovih bližnjih ter vseh zdravstvenih in nezdravstvenih sopotnikov v njegovi obravnavi. Vsak od njih vidi le del poti. Podatki, ki na tej poti nastajajo v vsakodnevni klinični praksi, pa nam omogočajo, da posamezne delčke zgodb povežemo in pogledamo, kako sistem dejansko deluje. Prav v tem je vrednost podatkov iz realnega sveta (real-world data, RWD) in dokazov, ki jih z njihovo analizo pridobimo (real-world evidence, RWE): klinična priporočila in organizacijski modeli povedo, kaj naj bi se zgodilo, podatki iz realnega sveta pa pokažejo, kaj se z bolnikom dejansko zgodi.

Od oddelka do integriranega sistema

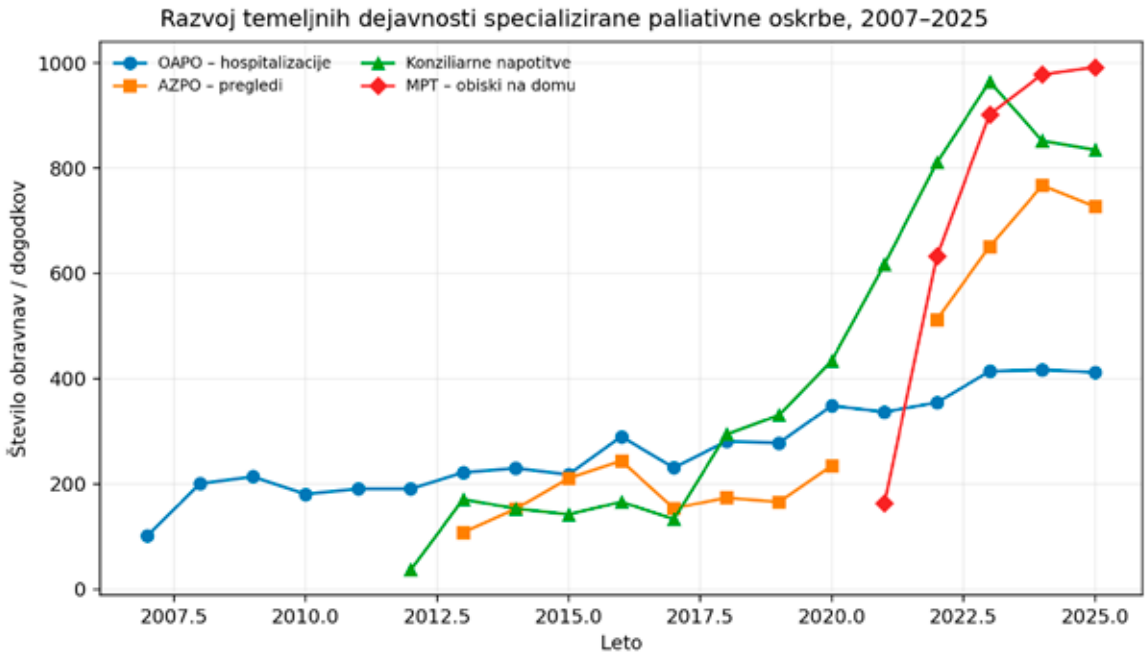
Razvoj specializirane paliativne oskrbe na Onkološkem inštitutu Ljubljana (OI Ljubljana) ponuja skoraj dve desetletji dolg pogled v to preobrazbo. Januarja 2007 je bil ustanovljen Oddelek za akutno paliativno oskrbo (OAPO) s šestimi posteljami. V prvem letu smo hospitalno obravnavali 102 bolnika (Slika 1). Že začetni model ni bil zasnovan samo kot skrb za hospitaliziranega bolnika, saj je vključeval bližnje, interdisciplinarno sodelovanje, komunikacijo, povezovanje z drugimi službami in načrtovanje nadaljnje oskrbe. Osrednja točka specializirane paliativne oskrbe pa je bila sprva vendarle bolniška postelja.

V naslednjih letih se je model postopoma širil. Razvili smo konziliarno dejavnost, ustanovili ambulanto za zgodnjo paliativno oskrbo (AZPO), koordinacijo in telefonsko podporo, leta 2021 pa še mobilni paliativni tim (MPT) z obiskovanjem bolnikov na domu. Spremenil se ni le obseg dela, temveč predvsem organizacijski model paliativne oskrbe.

Tabela 1. Ključne razvojne prelomnice specializirane paliativne oskrbe na OI Ljubljana.

Leto	Razvojni mejnik	Premik v modelu oskrbe
2007	Ustanovitev OAPO	Vzpostavitev specializirane bolnišnične paliativne oskrbe
2013	Razvoj AZPO	Premik proti zgodnejši ambulantni integraciji
2021	Vzpostavitev MPT	Specializirana paliativna oskrba vstopi tudi v bolnikov dom

Število hospitalizacij na OAPO je s 102 leta 2007 naraslo na 412 leta 2025, povprečna ležalna doba pa se je skrajšala s približno 7–8 dni v prvih letih na 4,3 dni leta 2025. Še izrazitejša rast aktivnosti je vidna izven bolnišničnega oddelka. AZPO je v prvih letih opravila približno 100–200 pregledov letno; leta 2022 je bilo opravljenih 513, leta 2023 651, leta 2024 767 in leta 2025 727 pregledov. Za leto 2021 celoletni podatek ni na voljo; med septembrom in decembrom je bilo evidentiranih 148 pregledov, zato tega podatka ni smiselno ekstrapolirati na celo leto. Izrazito se je povečalo tudi število napotitev v specializirano paliativno oskrbo: 433 leta 2020, 617 leta 2021, 811 leta 2022 in 964 leta 2023, nato pa 852 leta 2024 in 835 leta 2025 (Slika 1). Sistem se je tako iz pretežno bolnišnično organizirane dejavnosti postopoma razvil v mrežo različnih, med seboj povezanih oblik obravnave.



Slika 1. Razvoj temeljnih dejavnosti specializirane paliativne oskrbe na OI Ljubljana. Pri AZPO celoletni podatek za 2021 ni na voljo; MPT je bil uveden septembra 2021.

Dostop: ali je Andrej sploh deležen specializirane paliativne oskrbe?

Prvo vprašanje RWE je vprašanje dostopa. Mednarodni podatki jasno kažejo, da niti v dobro razvitih onkoloških centrih integracija paliativne oskrbe ni samoumevna. V raziskavi 152 ESMO Designated Centres of Integrated Oncology and Palliative Care je imelo 90 % centrov bolnišnične konziliarne time, 89 % ambulantno paliativno dejavnost, 71 % namenske paliativne postelje, le polovica pa tudi paliativno oskrbo v skupnosti. Ocenjeni delež bolnikov z napredovalim rakom, ki so bili pred smrtjo vključeni v paliativno oskrbo, je bil med centri zelo različen (1).

Razvoj OI Ljubljana kaže izrazito povečevanje števila poti, po katerih je bolnik lahko vključen: hospitalizacija, ambulanta, konziliarna služba, telefonska obravnava in MPT. A zavedati s moramo, da rast storitev sama po sebi še ne odgovori na pomembnejše vprašanje: koliko bolnikov, ki bi specializirano paliativno oskrbo potrebovali, jo tudi dejansko dobi?

Čas: ali Andreja dosežemo dovolj zgodaj?

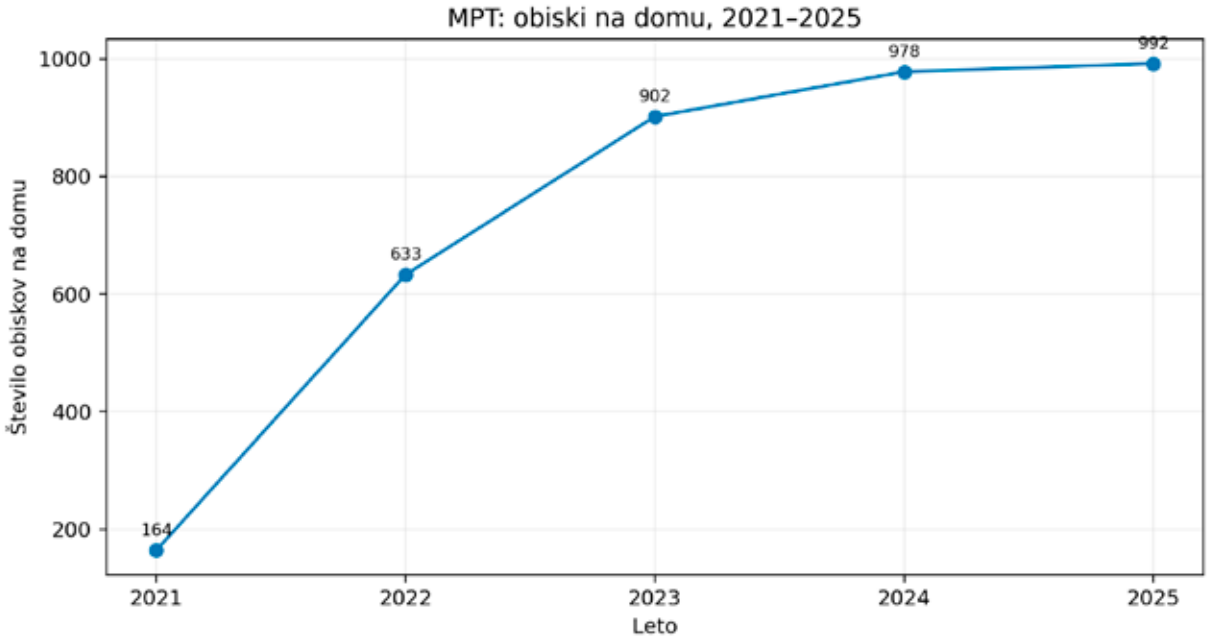
Drugo vprašanje je pravočasnost. V retrospektivni kohorti bolnikov z napredovalim rakom je bila vključitev paliativne oskrbe več kot tri mesece pred smrtjo povezana z manj obiski urgentne službe, manj hospitalizacijami in manj smrtmi v bolnišnici v zadnjem mesecu življenja. Podobno je bila prva obravnava v ambulantni paliativni službi povezana z manj agresivno obravnavo ob koncu življenja kot prva vključitev šele med hospitalizacijo (2).

Ta ugotovitev podpira razvojni premik na OI Ljubljana od paliativne oskrbe, vezane predvsem na akutno hospitalizacijo, k zgodnejši ambulantni integraciji. Starejši interni podatki OAPO kažejo tudi podaljševanje časa od vključitve v paliativno oskrbo do smrti: mediana je znašala 42 dni v obdobju 2007–2009, 51 dni v obdobju 2010–2012 in 61 dni v obdobju 2013–2015. Ker se je način zbiranja podatkov skozi čas spreminjal, je treba te podatke razlagati previdno, vendar nakazujejo smer razvoja.

Sodobni koncept »timely palliative care« zato ne govori le o zgodnji vključitvi glede na čas od diagnoze ali pričakovano preživetje, temveč o pravočasni vključitvi glede na potrebe posameznega bolnika in v okolju, kjer je pomoč najbolj smiselna (3).

Mesto: mora Andrej priti k nam ali lahko mi pridemo k njemu?

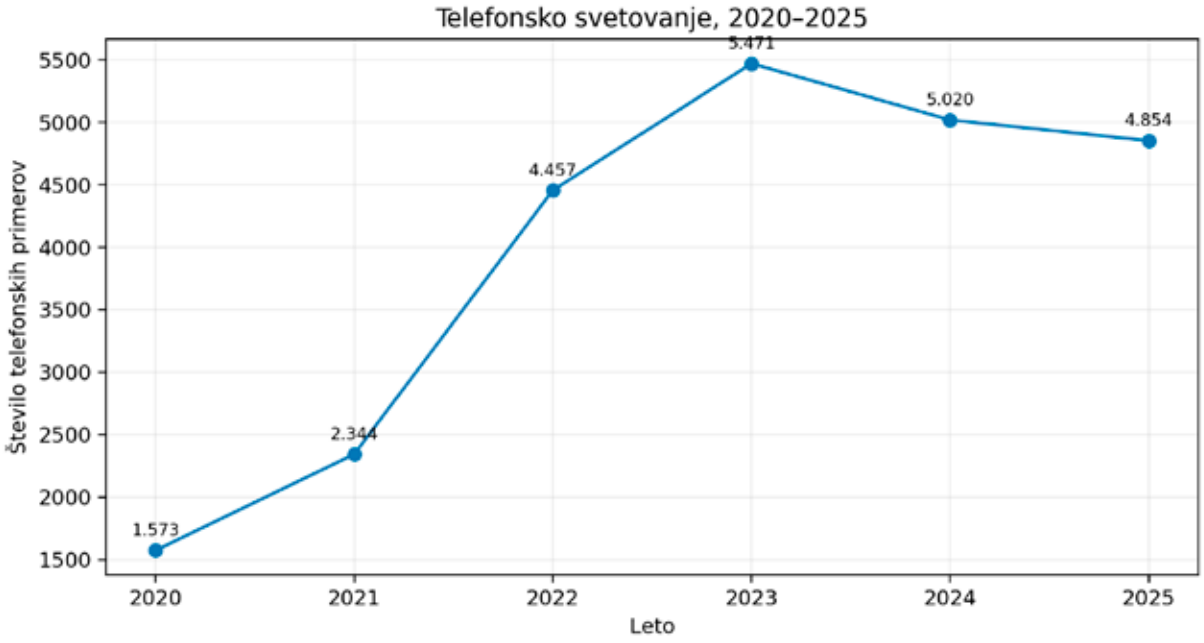
Leta 2021 se je zgodil naslednji pomemben organizacijski premik. Z vzpostavitvijo MPT je bila obstoječemu sistemu paliativne obravnave v bolnišnici dodana možnost obiska bolnika na domu. V zadnjih štirih mesecih leta 2021 je bilo opravljenih 164 obiskov na domu, leta 2022 633, leta 2023 902, leta 2024 978 in leta 2025 992 (Slika 2). Za Andreja to pomeni bistveno spremembo: ni več nujno, da bolnik pride do paliativne oskrbe; paliativna oskrba lahko pride do bolnika.



Slika 2. Število obiskov bolnikov na domu v okviru MPT. Podatek za 2021 zajema obdobje september–december.

Mednarodni RWE podatki podpirajo takšen razvoj. V populacijski kanadski kohorti 54.743 umrlih bolnikov z rakom v Ontariu je bila paliativna zdravstvena nega na domu v primerjavi s standardno oskrbo na domu povezana z nižjo stopnjo urgentnih obiskov v zadnjih šestih mesecih življenja (4).

Pomemben del kontinuitete pa se dogaja tudi med posameznimi obiski. Na OI Ljubljana se je število evidentiranih telefonskih primerov povečalo s 1.573 leta 2020 na 2.344 leta 2021, 4.457 leta 2022 in 5.471 leta 2023; nato se je obseg stabiliziral na približno 5.000 primerov letno (Slika 3). Velik del sodobne paliativne oskrbe se torej dogaja med formalnimi pregledi in obiski.

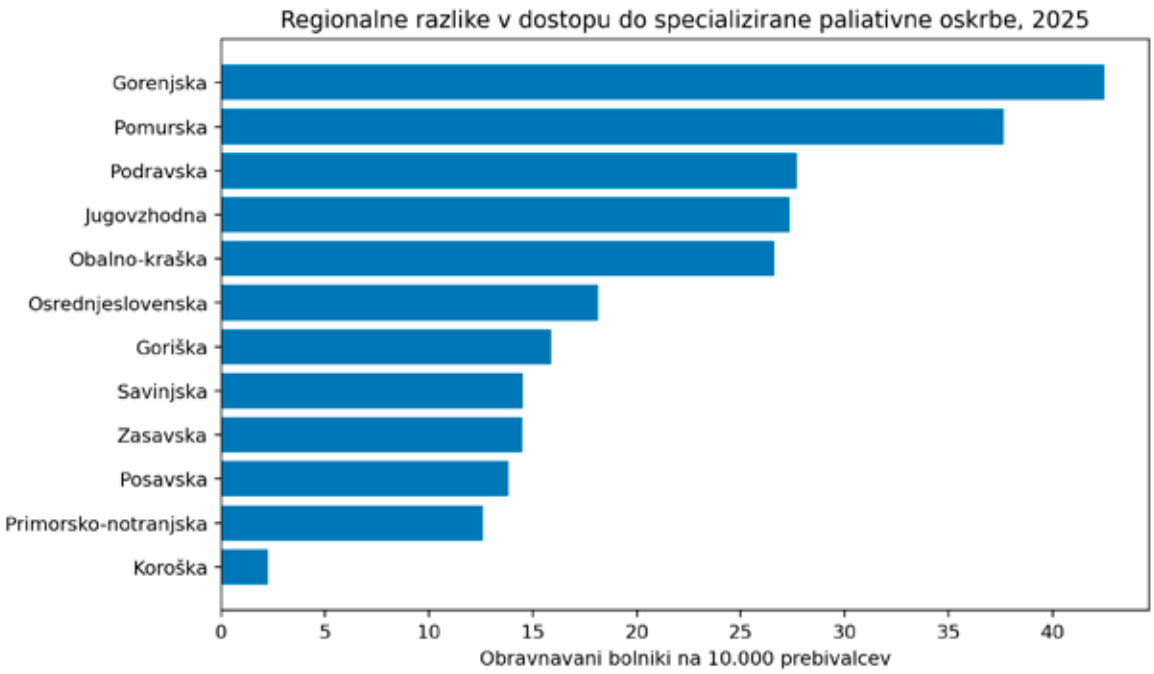


Slika 3. Evidentirani telefonski primeri s svetovalno vsebino, 2020–2025.

Geografija: ali Andrejeva poštna številka določa njegovo oskrbo?

Možnost obravnave na domu odpira še eno pomembno vprašanje RWE: ali je dostop do specializirane paliativne oskrbe enak ne glede na kraj bivanja? Nacionalno poročilo o izvajanju specializirane paliativne oskrbe za leto 2025 kaže, da se mreža mobilnih paliativnih timov širi, vendar ostajajo med regijami pomembne razlike v obsegu izvajanja, kadrovskih možnostih in dosegljivosti storitev. Posebej problematične so manjše regije, kjer je težje zagotavljati vse dejavnosti, vključno z daljšo telefonsko dosegljivostjo.

Razlike so vidne tudi v številu obravnavanih bolnikov glede na število prebivalcev. Leta 2025 se je število bolnikov, obravnavanih v specializirani paliativni oskrbi, gibalo od 2,26 bolnika na 10.000 prebivalcev na Koroškem do 42,52 bolnikov na 10.000 prebivalcev na Gorenjskem (Slika 4). Ti podatki ne merijo neposredno potreb in jih zato ne moremo razlagati kot merilo kakovosti posamezne regije, jasno pa opozarjajo, da sama prisotnost programa še ne pomeni enake dejanske dostopnosti.



Slika 4. Število bolnikov, obravnavanih v specializirani paliativni oskrbi, na 10.000 prebivalcev po regijah v letu 2025. Vir: nacionalno poročilo o izvajanju specializirane paliativne oskrbe 2025, podatki ZZZS.

Za Andreja je razlika zelo konkretna. Če živi v Ljubljani ali njeni okolici, je ena od možnih poti MPT OI Ljubljana; drugje mora biti njegova obravnava povezana z regionalno specializirano paliativno enoto in lokalno mrežo osnovne paliativne oskrbe. Dva bolnika z enakimi potrebami ne bi smela prejeti različne oskrbe zgolj zaradi kraja bivanja. Geografska pravičnost dostopa mora zato postati eden od kazalnikov RWE (5).

KAM PO POMOČ?	
1.	Izbrani osebni zdravnik ali lečeči specialist – ocena potreb in po potrebi napotitev.
2.	Specializirani paliativni tim v regiji, kjer bolnik živi.
3.	Projekt Metulj – www.paliativnaoskrba.si: informacije za bolnike in bližnje ter smerokaz do izvajalcev paliativne oskrbe.

Projekt Metulj je razvit kot vseslovenski informacijski vir za bolnike, bližnje in zdravstvene delavce. Njegova vloga v sodobnem sistemu ni nadomestiti strokovne obravnave, temveč zmanjševati informacijske ovire: pomagati razumeti paliativno oskrbo, prepoznati možnosti podpore in poiskati pravo vstopno točko v lokalnem okolju (6).

Izid: ali drugačen sistem spremeni bolnikovo pot?

Najpomembnejše vprašanje ni, koliko storitev opravimo, ampak ali sprememba organizacije spremeni tudi pot bolnika. Retrospektivna analiza vseh bolnikov, napotenih v specializirano paliativno oskrbo OI Ljubljana med 1. septembrom 2021 in 31. avgustom 2025, je zajela 4.103 bolnike in več kot 27.000 evidentiranih intervencij. Med umrlimi bolniki je bilo približno 40 % obravnavanih tudi z MPT; v obdobju raziskave je bilo opravljenih 3.045 obiskov na domu. Bolniki z vsaj enim obiskom MPT so pogosteje umrli doma oziroma v hospicu in redkeje v bolnišnici kot bolniki, obravnavani zgolj institucionalno. Tega zaradi opazovalne zasnove ni mogoče interpretirati kot dokaz vzročnosti. Na mesto smrti vplivajo bolezen, funkcionalno stanje, želje bolnika, podpora bližnjih, dostopnost

primarnega zdravstva in številni drugi dejavniki. Kljub temu je ugotovljena povezava skladna z mednarodnimi podatki o pomenu zgodnejše ambulantne in paliativne oskrbe v domačem okolju (2,4).

RWE hkrati pokaže tudi vrzeli. Del napotenih bolnikov ostaja brez neposrednega kliničnega stika s specializirano paliativno službo. Povečevanje števila obiskov MPT je po prvih letih doseglo ustaljeno raven, kar odpira vprašanje, ali gre za doseženo potrebo ali predvsem za mejo razpoložljivih kadrovskih in organizacijskih kapacitet.

Kaj nam RWE pokaže, česar obletnica ne pokaže?

Če bi skoraj dve desetletji razvoja opisovali samo z rastjo dejavnosti, bi lahko povedali zgodbo uspeha: več hospitalnih obravnav, razvoj ambulante, skoraj tisoč obiskov na domu letno in več tisoč telefonskih obravnav. Prava vrednost RWE pa je v tem, da pokaže tudi šibke točke sistema.

Ali bolnike vključujemo dovolj zgodaj? Kateri napoteni bolniki nikoli ne pridejo do neposredne klinične obravnave? Ali je dostop do oskrbe na domu enak ne glede na kraj bivanja? Koliko hospitalizacij ali urgentnih obravnav bi bilo mogoče preprečiti? In predvsem: ali merimo izide, ki so res pomembni za bolnika in njegove bližnje? Vprašati se moramo tudi, ali na bolnikovo paliativno pot vpliva njegova poštna številka in ali lahko RWE dovolj zgodaj zazna območja z manjšo dejansko dostopnostjo.

Mednarodne analize integracije onkologije in paliativne oskrbe opozarjajo, da sama prisotnost storitev še ne pomeni njihove optimalne integracije; spremljati je treba strukturo, procese in izide (7). Naslednja razvojna faza RWE na OI Ljubljana zato ne bi smela meriti le, koliko in kje oskrbujemo, temveč tudi breme simptomov, kakovost življenja bolnikov, potrebe in izkušnjo bližnjih, želje o mestu oskrbe ter skladnost dejansko izvedene oskrbe s cilji posameznega bolnika. Prihodnost RWE v paliativni oskrbi zato ni v nadomeščanju klinične presoje z algoritmi, temveč v tem, da zdravniku in timu omogočimo boljši vpogled v bolnikovo pot. Rutinske zdravstvene podatke moramo dopolniti s PROMs in drugimi podatki, ki povedo, kako bolnik svojo bolezen in oskrbo dejansko doživlja. Sodobna analitika in umetna inteligenca pa nam lahko pomagata te podatke povezovati, prepoznavati vzorce in opozarjati na spremembe, vendar morata ostati orodje v rokah zdravstvenega strokovnjaka. Podatek lahko pokaže, da se je nekaj spremenilo; zdravnik in tim morata skupaj z bolnikom razumeti, kaj ta sprememba pomeni in kaj je treba storiti (8, 9).

Nazaj k Andreju

Če bi Andrej zbolel leta 2007, bi bila specializirana paliativna oskrba na OI Ljubljana zanj predvsem povezana z bolnišnično obravnavo. Leta 2025 mu sistem lahko ponudi zgodnjo ambulantno paliativno obravnavo, konziliarno podporo, hospitalizacijo na OAPO, telefonsko svetovanje in obravnavo MPT na domu. To je pomemben razvoj. Toda število storitev samo po sebi še ni merilo dobre paliativne oskrbe. Resnično uspešno merilo je, ali Andrej in njegova družina dobijo pravo pomoč ob pravem času in na pravem mestu. Prav pri odgovoru na to vprašanje lahko podatki iz realnega sveta pokažejo največjo razliko.

Opomba k prikazom: podatki izvirajo iz internih strokovnih poročil OAPO/SPO in Registra SPO. Način zbiranja podatkov se je skozi obdobje spreminjal; Register SPO se vodi od 1. 9. 2021, zato vsi kazalniki niso neposredno primerljivi skozi celotno obdobje. Regionalni podatki za leto 2025 izvirajo iz nacionalnega poročila o izvajanju specializirane paliativne oskrbe in podatkov ZZZS.

Literatura

1. Hui D, et al. The 'critical mass' survey of palliative care programme at ESMO designated centres of integrated oncology and palliative care. Ann Oncol. 2017;28(9):2057–2066. doi:10.1093/annonc/mdx280
2. Hui D, et al. Impact of timing and setting of palliative care referral on quality of end-of-life care in cancer patients. Cancer. 2014;120(11):1743–1749. doi:10.1002/cncr.28628
3. Hui D, Heung Y, Bruera E. Timely Palliative Care: Personalizing the Process of Referral. Cancers (Basel). 2022;14(4):1047. doi:10.3390/cancers14041047
4. Sutradhar R, et al. Palliative homecare is associated with reduced high- and low-acuity emergency department visits at the end of life: a population-based cohort study of cancer decedents. Palliat Med. 2017;31(5):448–455. doi:10.1177/0269216316663508
5. Ministrstvo za zdravje Republike Slovenije. Paliativna oskrba: izvajanje specializirane paliativne oskrbe 2025. Ljubljana: Ministrstvo za zdravje Republike Slovenije.
6. Zavratnik B, et al. Projekt Metulj: priprava informativnih vsebin s področja paliativne oskrbe v slovenskem jeziku. V: Ebert Moltara M, ed. V luči dostojanstva življenja: zbornik. Ljubljana: Onkološki inštitut Ljubljana; 2015. p. 56–57.
7. Hui D, et al. Indicators of integration at ESMO Designated Centres of Integrated Oncology and Palliative Care. ESMO Open. 2018;3(5):e000372. doi:10.1136/esmoopen-2018-000372
8. Katharaki M, et al. Patient-reported outcome measures in palliative care: a systematic review to inform health policy and health system performance. Health Policy. 2026;172:105688. doi:10.1016/j.healthpol.2026.105688
9. Antunes B, et al. EUROIMPACT. Implementing patient-reported outcome measures in palliative care clinical practice: a systematic review of facilitators and barriers. Palliat Med. 2014;28(2):158–175. doi:10.1177/0269216313491619

FROM CONSORTIUM PARTICIPATION TO INTERNATIONAL GUIDELINE INITIATIVE: THE ALL-IC REL 2016 EXPERIENCE IN RELAPSED CHILDHOOD ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKAEMIA

Janez Jazbec[1,2], Marko Kavčič[1,2], Neža Salobir[1], Tomaž Prelog[1]

[1] *University Medical Centre Ljubljana, Department of Paediatric Haematology and Oncology, Ljubljana, Slovenia*
[2] *University of Ljubljana, Faculty of Medicine, Ljubljana, Slovenia*

Elektronski naslov: tomaz.prelog@kclj.si

Abstract

Relapse remains the leading cause of cancer-related death in childhood acute lymphoblastic leukaemia (ALL) despite first-line survival rates exceeding 90%. Within the ALL-IC BFM consortium, which predominantly serves middle-income European and South American countries, no standardised salvage protocol existed before 2016, producing wide outcome variability, with five-year post-relapse survival ranging from 20% to 63% across national study groups.

We describe the background, design and implementation of the ALL-IC REL 2016 current best practice guidance for first relapse of childhood ALL, developed by the ALL-IC study group steering committee, and summarise primary outcome data from two prospective registry analyses: Kavčič et al. (Pediatr Blood Cancer 2025), covering overall salvage outcomes, and Hazar et al. (Leuk Lymphoma 2026), covering central nervous system (CNS) - specific relapse.

Among 370 patients enrolled under ALL-IC REL 2016 guidance (November 2017–December 2021), 46.8% were classified as standard risk (SR) and 53.2% as high risk (HR). Five-year overall survival was 74% (SR) and 32% (HR). In a dedicated CNS relapse analysis of 97 children, two-year overall survival was 49.4%. Very early relapse, T-cell immunophenotype and female sex independently predicted poor outcome.

The ALL-IC REL 2016 initiative shows that collaborative, registry-based guideline development within a multinational cooperative group can reduce outcome heterogeneity in relapsed paediatric ALL and generate prospective evidence in subgroups too small for single-centre analysis. Real-world evidence from cooperative group registries remains the primary driver of progress in rare paediatric cancers.

INTRODUCTION

Since the 1960s, when childhood acute lymphoblastic leukaemia (ALL) was uniformly fatal, five-year overall survival has risen to over 90% in high-income countries and now approaches similar rates across the European and South American ALL-IC BFM network (1,2). This progress reflects not randomised trials with placebo comparators — neither feasible nor ethical in childhood leukaemia — but cooperative group registries and successive protocol iterations that embed real-world evidence generation into routine practice, exemplified by the BFM cooperative group and its international consortium ALL-IC BFM (3,4).

Relapse nonetheless occurs in 10–20% of children treated on first-line protocols and remains the leading cause of cancer-related mortality in paediatric oncology; overall survival after first relapse ranges from approximately 40–60% in favourable subgroups to below 20% in high-risk presentations such as very early bone marrow relapse or T-cell ALL relapse (5,6,7). Before 2016, the ALL-IC consortium had no standardised salvage protocol: data from the ALL-IC BFM 2002 trial revealed more than 20 distinct relapse protocols across centres, with five-year post-relapse survival ranging from 20% to 63% across national study groups (Figure 1) — variability reflecting differences in salvage

intensity, transplantation access and supportive care rather than patient biology (8,9).

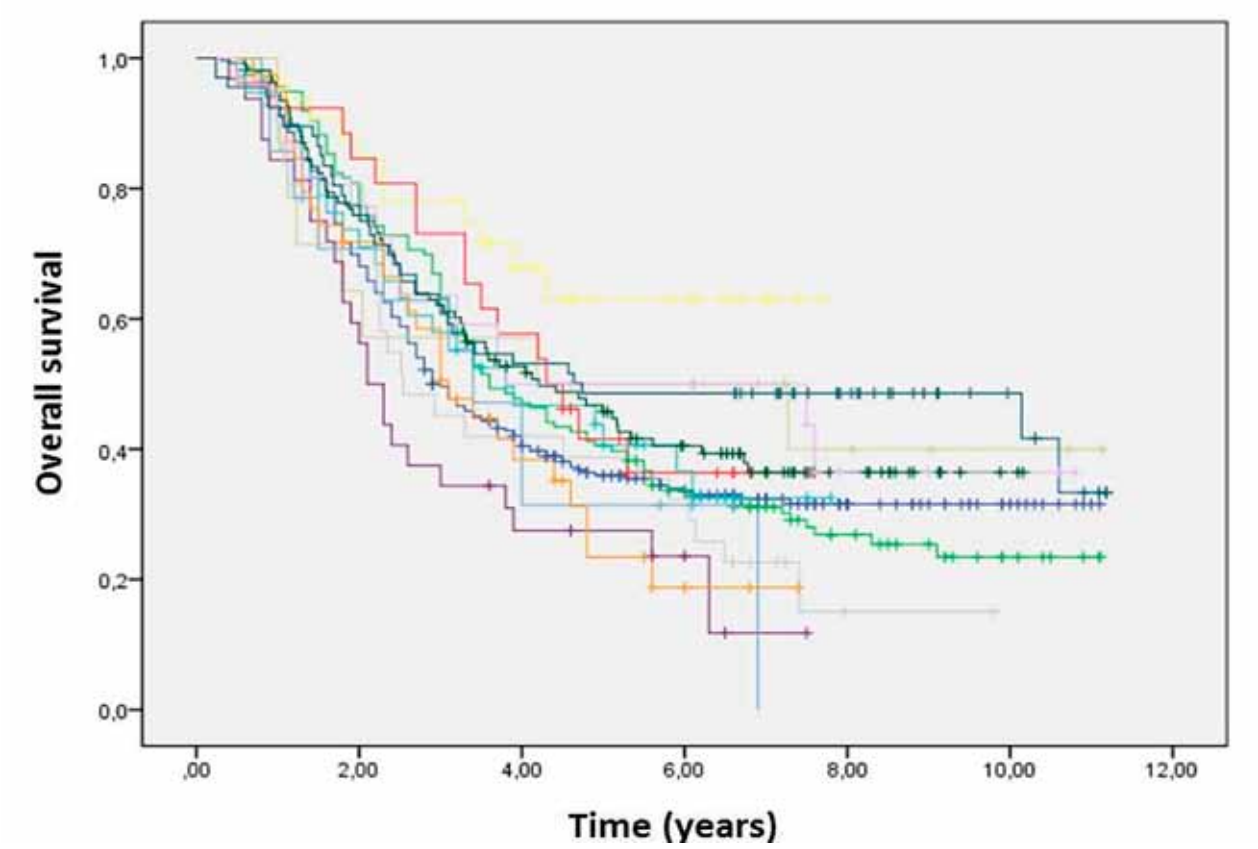


Figure 1. Overall survival after first relapse on the ALL-IC BFM 2002 trial, stratified by national study group, showing five-year survival ranging from approximately 20% to 63% — heterogeneity that motivated the ALL-IC REL 2016 guidance.

Several smaller ALL-IC member centres, with sustained registry experience from the ALL-IC BFM 2002 and 2009 trials (3,4), motivated the ALL-IC study group steering committee to develop a common current best practice guidance for first ALL relapse. The resulting ALL-IC REL 2016 guidance was adopted across more than ten countries and evaluated in two prospective outcome publications (8,9). Here we describe its background, design and primary results, and discuss what the experience shows about the role of smaller consortium centres in international guideline development.

MATERIALS AND METHODS

Consortium, registry infrastructure and background

The Acute Lymphoblastic Leukaemia Inter-Continental (ALL-IC) study group operates within the Berlin-Frankfurt-Münster cooperative framework, covering centres predominantly in Eastern Europe, Turkey and South America. The consortium has run two successive frontline protocols — ALL-IC BFM 95 and ALL-IC BFM 2002 — with minimal residual disease (MRD)-based risk stratification by flow cytometry, and centres have maintained continuous prospective registries since the 1990s. Data from the ALL-IC BFM 2002 registry, reported by Kavčič et al. (8), documented more than 20 distinct salvage protocols across centres and five-year post-relapse survival ranging from 20% to 63% (Figure 1), providing the quantitative motivation for a standardised guidance document.

Design and rationale

The ALL-IC REL 2016 guidance was developed by the ALL-IC study group steering committee (chair: J. Jazbec, Slovenia; with D.J. Erdélyi, Hungary; V. Hazar, Turkey; S. Polychronopoulou, Greece; M. Makiya, Argentina; J. Tordecilla, Chile), with input from national representatives; version 1.0 was finalised in September 2017. It was designed as a current best practice document rather than a randomised trial, reflecting small patient numbers per centre, the ethical imperative to offer best available salvage therapy, and heterogeneous consortium resources; all chemotherapy components are established agents already in use across the consortium.

Risk stratification and treatment

Patients are classified as standard risk (SR) or high risk (HR) at relapse; HR assignment requires any T-cell ALL relapse involving the bone marrow, any very early relapse (<18 months from diagnosis), any early isolated bone marrow relapse (18–30 months), relapse after prior allogeneic stem cell transplantation (allo-SCT), or defined high-risk cytogenetics — remaining patients are SR. Allo-SCT eligibility comprises all HR patients, SR patients with bone marrow MRD ≥0.1% by flow cytometry on day 29 of re-induction, and selected genetic subgroups. SR patients receive re-induction and 7 consolidation blocks followed by maintenance if MRD-negative at day 29; HR patients receive an intensified re-induction block, consolidation and proceed to allo-SCT when a donor is available and remission achieved. Backbones include dexamethasone, vincristine, PEG-asparaginase, anthracyclines and purine analogues, with intrathecal therapy for CNS prophylaxis or treatment. Dose reductions and supportive-care adaptation are allowed at centres with limited intensive care capacity.

Prospective outcome evaluation

All patients enrolled under ALL-IC REL 2016 guidance are registered prospectively through the existing ALL-IC data infrastructure. Two outcome analyses have been published: Kavčič et al. reported overall salvage outcomes across the full cohort — risk-group distribution, treatment adherence, response rates, transplantation rates and survival — and Hazar et al. reported prognostic factors and outcomes specific to first CNS relapse, the first prospective multinational dataset in this subgroup (8, 9).

RESULTS

Adoption of the ALL-IC REL 2016 guidance

The guidance was adopted by national study groups across more than ten countries, including Slovenia, Hungary, Turkey, Greece, Romania, Bulgaria, Chile and Argentina, enabled by dose-adaptation provisions and resource-sensitive supportive-care recommendations that allowed implementation across centres with very different intensive-care and pharmacy infrastructure. Patients were enrolled prospectively from November 2017 to December 2021.

Overall salvage outcomes (Kavčič et al., Pediatr Blood Cancer 2025)

Among 370 patients, 173 (46.8%) were SR and 197 (53.2%) HR; mean age at relapse was 9 years and 33.2% were female (8). The initial frontline protocol was ALL-IC BFM 2009 in 90.5% of patients. Complete remission rates post-induction were 84% (SR) and 56% (HR); MRD below 0.1% at end of induction was achieved by 53% of SR and 29% of HR patients. Five-year event-free survival was 64.5% ± 3.7% (SR) versus 26.9% ± 3.2% (HR, $p < 0.001$), and five-year overall survival was 74.0% ± 3.5% (SR) versus 32.0% ± 3.4% (HR, $p < 0.001$). Allo-SCT was performed in 43.4% of SR and 46.7% of HR patients; among transplanted HR patients, five-year overall survival was 54.6% ± 5.4% versus 10.0% ± 3.0% in non-transplanted HR patients ($p < 0.001$).

CNS relapse outcomes (Hazar et al., Leuk Lymphoma 2026)

The dedicated CNS relapse analysis enrolled 97 children (aged 1.1–18.2 years): 43 with isolated CNS relapse (i-CNS) and 54 with combined systemic and CNS relapse (c-CNS) (9). Two-year event-free survival was 40.0% and two-year overall survival 49.4%, closely matching international outcomes; survival was comparable across i-CNS and c-CNS subgroups, though induction failure was more frequent with c-CNS. Multivariable analysis identified three independent predictors of poor outcome: female sex (hazard ratio 1.96, 95% CI 1.15–3.35 for EFS; hazard ratio 1.95, 95% CI 1.00–3.52 for OS; p=0.014 and 0.027), T-cell immunophenotype (hazard ratio 2.51, 95% CI 1.29–4.8 for OS; p=0.007), and very early relapse (hazard ratio 4.34, 95% CI 2.00–9.45 for EFS; hazard ratio 3.05, 95% CI 1.31–7.11 for OS; both p<0.01).

2

DISCUSSION

The ALL-IC REL 2016 experience illustrates principles relevant to real-world evidence generation in oncology. First, cooperative group registries in paediatric oncology are, in most cases, the primary evidence base rather than mere complements to trials: patient numbers are small, clinical urgency precludes extensive randomisation, and equipoise is hard to sustain once evidence favours one arm. Even the largest cooperative studies in relapsed childhood ALL — the ALL-REZ BFM trials and IntReALL 2010 — rely mainly on registry-based outcome ascertainment rather than internal randomisation (6,7).

Second, common guidelines can standardise outcomes faster than any single experimental intervention: ALL-IC REL 2016 replaced the heterogeneous salvage practices described above with a resource-adapted but structurally coherent protocol. The resulting SR outcomes (five-year OS 74%) are comparable to the control arm of the IntReALL 2010 SR study (10), confirming that risk-adapted salvage therapy delivered consistently across resource-heterogeneous settings can approach top-tier outcomes. HR outcomes remain poor (five-year OS 32%), consistent with the global challenge of very early and T-cell relapses, underscoring the need for novel agents such as blinatumomab and inotuzumab ozogamicin.

Third, the initiative challenges the assumption that influential research originates only from high-volume centres: it was led by a steering committee drawn predominantly from smaller consortium centres, showing that sustained registry continuity and cooperative engagement can translate into guideline leadership regardless of centre volume, and ensuring the guidance was designed for real-world rather than idealised high-resource implementation. The CNS relapse analysis further illustrates the value of cooperative infrastructure in generating actionable evidence in subgroups too small for single-centre analysis — notably the unexpected finding of female sex as an adverse prognostic factor, alongside the expected role of very early relapse and T-cell immunophenotype.

Limitations include the lack of a randomised control arm, which limits causal inference, and inconsistent access to flow-cytometry-based MRD assessment and novel therapies such as haploidentical SCT and total body irradiation, which may have disproportionately affected HR outcomes (8,9). Future work includes sub-analyses of high-risk biological subgroups, prospective evaluation of blinatumomab and inotuzumab ozogamicin as bridges to transplantation, and an expanded cohort study of isolated extramedullary relapses, in preparation.

CONCLUSIONS

The ALL-IC REL 2016 guidance demonstrates that collaborative, registry-based guideline development within a multinational cooperative group can substantially reduce outcome heterogeneity in relapsed paediatric ALL, and that smaller consortium centres — through sustained registry continuity and cooperative engagement — can drive international clinical practice rather than simply contribute patient numbers to larger programmes. In rare paediatric cancers, where randomised

controlled trials remain largely unfeasible, real-world evidence of this kind is not a compromise — it is the standard.

References

1. Hunger SP, Mullighan CG. Acute lymphoblastic leukemia in children. N Engl J Med. 2015;373:1541–52. doi: 10.1056/NEJMra1400972
2. Möricke A, et al. Risk-adjusted therapy of acute lymphoblastic leukemia can decrease treatment burden and improve survival: treatment results of 2169 unselected pediatric and adolescent patients enrolled in the trial ALL-BFM 95. Blood. 2008;111:4477–89. doi: 10.1182/blood-2007-09-112920
3. Stary J, et al. Effective treatment of pediatric acute lymphoblastic leukemia in middle-income countries: results of the randomized study ALL-IC BFM 2002. J Clin Oncol. 2014;32:3304–12. doi: 10.1200/JCO.2013.54.4539
4. Campbell M, et al. Childhood acute lymphoblastic leukemia: results of the randomized ALL IC-BFM 2009 trial. J Clin Oncol. 2023;41:1997–2009. doi: 10.1200/JCO.21.02400
5. Bhojwani D, Pui CH. Relapsed childhood acute lymphoblastic leukaemia. Lancet Oncol. 2013;14:e205–17. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70580-6
6. Eckert C, et al. Use of allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation based on minimal residual disease response improves outcomes for children with relapsed acute lymphoblastic leukemia in the ALL-REZ BFM 2002 trial. J Clin Oncol. 2013;31:4439–47. doi: 10.1200/JCO.2013.51.1580
7. Parker C, et al. Effect of mitoxantrone on outcome of children with first relapse of acute lymphoblastic leukaemia (ALL R3): an open-label randomised trial. Lancet. 2010;376:2009–17. doi: 10.1016/S0140-6736(10)62002-8
8. Kavčič M, et al. Bridging the Gap in Pediatric Relapsed Acute Lymphoblastic Leukemia Treatment: Insights and Outcomes From the ALL-IC REL 2016 Guidelines. Pediatr Blood Cancer. 2025;72(12):e32063. doi: 10.1002/pbc.32063. PMID: 41041698
9. Hazar V, et al. Prognostic factors and survival outcomes of first CNS relapse in childhood acute lymphoblastic leukemia: results from the ALL-IC REL 2016 study. Leuk Lymphoma. 2026;67(2):416–422. doi: 10.1080/10428194.2025.2598861. PMID: 41400973
10. von Stackelberg A, et al. Outcomes of children with relapsed or refractory acute lymphoblastic leukemia treated with blinatumomab or chemotherapy: a post hoc analysis of the IntReALL 2010 study. Leukemia. 2021;35:2762–72. doi: 10.1038/s41375-021-01222-6

Abbreviations:

ALL-acute lymphoblastic leukemia; ALL-IC - Acute lymphoblastic leukemia Intercontinental study group; ALL IC BFM - Intercontinental acute Lymphoblastic Leukemia Berlin -Frankfurt-Munster study group; ALL-IC REL - Acute lymphoblastic leukemia Intercontinental Relapse study group; allo-SCT - allogeneic stem cell transplantation; c-CNS – combined central nervous system relapse; CI - confidence interval; CNS - central nervous system; EFS – event free survival; HR- high risk; i-CNS – isolated central nervous system relapse; MRD - minimal residual disease; OS – overall survival; PEG – polyethylene glycol; SR- standard risk

Acknowledgements

The authors thank all participating ALL-IC REL 2016 study group members, data managers and national coordinators for their contributions to data collection and protocol implementation, and the patients and families who consented to participation in the registry. Funding for the primary outcome analyses was provided by the Ministry of Innovation and Technology of Hungary (National Research, Development and Innovation Fund, Grant No. OTKA K-139139) to D.J. Erdélyi.

Ethics statement

The ALL-IC BFM 2002 registry data depicted in Figure 1 were collected under national ethics approvals at each participating centre as part of the standard ALL-IC BFM 2002 trial infrastructure. The ALL-IC REL 2016 guidance is a current best practice document, not a formal clinical trial; enrolled patients are treated according to guidelines approved by the ethics committee at each participating centre. Ethical approval for the primary outcome analyses was obtained from local medical research ethics committees at all sites, as described in the original publications. Informed consent was secured from patients or their guardians in accordance with local regulations.

DOKAZI IZ REALNEGA SVETA V PODPORO KLINIČNEMU IN EKONOMSKEMU ODLOČANJU V ONKOLOGIJI

Luka Irenej Pečan[1], Julija Vodenik[2], Gašper Tavčar[3], Marko Jeran[3,]

[1] *BioStratexa, Zdravstvena ekonomika in dostop do trga, Piran, Slovenija*
[2] *University of Trieste, Department of Life Sciences, Trieste, Italy*
[3] *Institut Jožef Stefan, Odsek za anorgansko kemijo in tehnologijo, Ljubljana, Slovenija*

E-mail: marko.jeran@ijs.si

Izvleček

Randomizirane kontrolirane klinične raziskave ostajajo temelj presoje učinkovitosti in varnosti onkološkega zdravljenja, vendar zaradi izbranih populacij in nadzorovanih pogojev ne odgovorijo na vsa vprašanja, ki se pojavijo po uvedbi zdravil v vsakodnevno klinično prakso. Podatki iz realnega sveta (angl. real-world data, RWD), pridobljeni iz elektronskih zdravstvenih zapisov, registrov raka, administrativnih podatkovnih zbirk, podatkov o zdravilih in izidov, o katerih poročajo bolniki, lahko ob ustrezni raziskovalni zasnovi postanejo dokazi iz realnega sveta (angl. real-world evidence, RWE).

Njihova vrednost v onkologiji ni le v spremljanju izidov zdravljenja pri širših in bolj heterogenih skupinah bolnikov, temveč tudi v ugotavljanju, kako se zdravljenje dejansko uporablja, koliko časa traja ter kakšne posledice ima za porabo zdravstvenih virov in stroške. S tem lahko RWE dopolnjujejo farmakoekonomske analize, zmanjšujejo negotovost v modelih stroškovne učinkovitosti in analizah finančnih učinkov ter omogočajo ponovno presojo zdravil po uvedbi v klinično prakso.

Povezovanje kliničnih izidov, izidov, pomembnih za bolnike, ter porabe virov je pomembno tudi za zdravstveno obravnavo, temelječo na vrednosti. Verodostojnost takšnih analiz pa je neposredno odvisna od kakovosti podatkov in metodološke strogosti. Dokazi iz realnega sveta zato ne nadomeščajo randomiziranih raziskav, temveč skupaj z njimi omogočajo celovitejšo presojo klinične in ekonomske vrednosti onkološkega zdravljenja.

Od klinične raziskave do vsakodnevne klinične prakse

Odločanje o onkološkem zdravljenju se ne konča z dokazom, da je zdravilo učinkovito v klinični raziskavi. Po njegovi uvedbi se pojavijo nova vprašanja: ali primerljive rezultate dosega tudi pri bolnikih, ki v raziskavah niso bili dobro zastopani, kako dolgo zdravljenje dejansko traja, kako pogosto ga je treba prilagajati ali prekiniti ter kakšni so dolgoročni izidi in breme zdravljenja. Prav na ta vprašanja lahko odgovorijo podatki iz realnega sveta.

Podatki iz realnega sveta so zdravstveni podatki, ki nastajajo zunaj tradicionalnih randomiziranih kliničnih raziskav. Dokazi iz realnega sveta pa nastanejo šele, ko so ti podatki z ustrezno raziskovalno zasnovo uporabljeni za odgovor na jasno opredeljeno vprašanje (1–3). Velika količina podatkov torej sama po sebi še ni dokaz.

Med najpomembnejše vire sodijo elektronski zdravstveni zapisi, registri raka, administrativne podatkovne zbirke, podatki o uporabi zdravil ter izidi, o katerih poročajo bolniki (1–3). Posamezni viri odgovarjajo na različna vprašanja. Registri omogočajo spremljanje populacij in dolgoročnih izidov, elektronski zdravstveni zapisi vsebujejo podrobnejše klinične informacije, administrativni podatki pa so zlasti uporabni za spremljanje zdravstvenih storitev in stroškov. Njihova največja vrednost se pokaže, kadar je mogoče te vire povezati in s tem združiti podatke o značilnostih bolnika, zdravljenju, izidih in porabi zdravstvenih virov (3,4).

Takšni podatki dopolnjujejo predvsem vrzel med populacijo klinične raziskave in bolniki iz

vsakodnevne prakse. Starejši, krhki in multimorbidni bolniki so v raziskavah pogosto slabše zastopani, čeprav predstavljajo pomemben delež onkološke populacije (4,5). V populacijski raziskavi starejših bolnikov z metastatskim pljučnim rakom je bilo na primer 53,4 % bolnikov opredeljenih kot netipičnih za klinične raziskave, najpogosteje zaradi slabšega stanja zmogljivosti, srčno-žilnih bolezni ali predhodne maligne bolezni (6).

RWE tako ne odgovarjajo nujno na enako vprašanje kot randomizirane raziskave. Njihova vloga je predvsem pokazati, kako je zdravljenje uspešno v širši populaciji, kako se uporablja v praksi in ali se pričakovane koristi ohranijo tudi zunaj nadzorovanih raziskovalnih pogojev. Pri redkih rakih in ozko molekularno opredeljenih skupinah so lahko podatki iz realnega sveta uporabljeni tudi kot zunanja primerjalna skupina za enokrake raziskave, vendar le ob zadostni primerljivosti populacij, izidov in obdobja spremljanja (7). RWE zato randomizacije ne nadomeščajo, temveč jo smiselno dopolnjujejo (8).

Od klinične koristi do ekonomske vrednosti zdravljenja

Ko je ugotovljeno, da zdravljenje bolniku prinaša korist, se za zdravstveni sistem pojavi naslednje vprašanje: kakšna je ta korist glede na sredstva, potrebna za njeno doseganje?

To vprašanje je v onkologiji vse pomembnejše zaradi hitrega razvoja novih zdravljenj, njihove vse večje kompleksnosti in visokih stroškov. Ekonomsko vrednotenje pri tem ni namenjeno preprostemu iskanju najcenejšega zdravljenja. Njegov namen je primerjati dodatne zdravstvene koristi z dodatnimi stroški in s tem podpreti odločanje o smiselni razporeditvi omejenih zdravstvenih virov.

Pri ekonomskem vrednotenju zdravil je pomembno razlikovati med dvema povezanima, vendar različnima vidikoma. Farmakoekonomska analiza, zlasti analiza stroškovne učinkovitosti ali stroškovne koristnosti, primerja dodatne stroške zdravljenja z dodatnimi zdravstvenimi izidi glede na ustrezno primerjalno možnost. Analiza finančnih učinkov pa ocenjuje, kako uvedba novega zdravljenja vpliva na izdatke plačnika v določenem časovnem obdobju, pri čemer upošteva velikost upravičene populacije, pričakovano uporabo zdravljenja, njegovo trajanje ter spremembe v porabi drugih zdravstvenih virov. Pristopa se zato dopolnjujeta: prvi prispeva k presoji razmerja med stroški in doseženimi zdravstvenimi izidi, drugi pa pokaže pričakovane finančne posledice uvedbe zdravljenja za zdravstveni sistem.

Prav pri vhodnih podatkih za takšne analize imajo RWE pomembno vlogo. Ob prvi presoji novega onkološkega zdravila podatki pogosto izhajajo predvsem iz kliničnih raziskav. Toda trajanje zdravljenja, pogostost prilagoditev odmerkov, prekinitve, uporaba nadaljnjih terapij, obravnava neželenih učinkov, hospitalizacije in dolgoročno preživetje se lahko v vsakodnevni praksi razlikujejo od raziskovalnih protokolov (9–12).

Posebej pomembna je negotovost glede dolgoročnih izidov. Ob prihodu novega zdravila je spremljanje v kliničnih raziskavah pogosto še prekratko, zato morajo modeli stroškovne učinkovitosti dolgoročno preživetje ekstrapolirati. V sistematičnem pregledu onkoloških vrednotenj britanskega NICE je bilo prav ocenjevanje dolgoročnega preživetja najpogostejši namen uporabe podatkov iz realnega sveta in je predstavljalo 41,5 % vrednotenj, v katerih so bili takšni podatki uporabljeni (10). Vprašanje je posebej pomembno pri molekularno tarčnih in tumorsko neodvisnih zdravljenjih, kjer so raziskovalne populacije pogosto majhne ali heterogene, zato je začetna negotovost glede dolgoročne klinične koristi in stroškovne učinkovitosti večja (11).

RWE lahko pomembno spremenijo tudi oceno finančnih posledic zdravljenja. Če bolniki zdravilo v praksi prejemajo krajši čas, kot je bilo predvideno v raziskavi, so stroški lahko nižji, drugačna pogostost hospitalizacij, neželenih učinkov ali nadaljnjih terapij pa jih lahko tudi poveča. Pri zaviralcih PD-1 za napredovali melanom je bilo na primer opisano krajše trajanje zdravljenja v realnem svetu, kot bi ga bilo mogoče pričakovati na podlagi raziskovalnih protokolov (13).

Bistvo RWE v zdravstveni ekonomiki zato ni nadomestitev modeliranja, temveč postopno

zmanjševanje negotovosti. Model, oblikovan ob prihodu zdravila, je mogoče z novimi podatki preverjati in posodabljati. Farmakoekonomska presoja tako postane proces, ki spremlja zdravilo tudi po njegovi uvedbi, namesto da ostane enkratna ocena ob začetku financiranja (10,14).

Od ekonomske vrednosti do vrednosti za bolnika

Stroškovna učinkovitost je le eden od vidikov vrednosti zdravljenja. Poleg preživetja in drugih kliničnih izidov je pomembno, kako zdravljenje vpliva na bolnikovo funkcionalno stanje, kakovost življenja, neželene učinke in celotno breme zdravljenja. Celovita presoja vrednosti mora zato vključevati tudi izide, ki so pomembni za bolnika.

Na tem izhodišču temelji na vrednosti temelječa zdravstvena obravnava. Njeno bistvo ni zniževanje stroškov, temveč izboljševanje izidov, pomembnih za bolnika, glede na sredstva, ki so za to potrebna. V onkologiji to pomeni povezovanje preživetja, neželenih učinkov, funkcionalnega stanja, kakovosti življenja in bremena zdravljenja s celotno porabo zdravstvenih virov (4,15).

Dokazi iz realnega sveta so pri takšni presoji pomembni, saj omogočajo spremljanje izidov med celotnim potekom zdravljenja. Posebno vlogo imajo izidi, o katerih poročajo bolniki, saj dopolnjujejo klinične podatke z informacijami o simptomih, kakovosti življenja in bremenu zdravljenja. Elektronsko spremljanje simptomov lahko omogoči njihovo zgodnejše prepoznavanje in pravočasnejše ukrepanje. V raziskavi PRO-TECT je tedensko elektronsko spremljanje simptomov odložilo poslabšanje telesnega delovanja, simptomov in kakovosti življenja ter zmanjšalo uporabo urgentnih služb, medtem ko razlike v celokupnem preživetju niso ugotovili (16,17).

Podatki, ki jih sporočajo bolniki, lahko zajamejo tudi finančno breme zdravljenja, ki je povezano s slabšo kakovostjo življenja ter slabšim telesnim, duševnim in socialnim počutjem (18). S tem se vrednotenje zdravljenja razširi preko tradicionalnih kliničnih izidov in vključuje tudi bolnikovo dejansko izkušnjo bolezni in zdravljenja.

Dobri podatki še niso nujno dobri dokazi

Ena od prednosti dokazov iz realnega sveta je, da odražajo zdravljenje v heterogenih populacijah in vsakodnevni klinični praksi. Vendar večja podobnost klinični praksi sama po sebi še ne zagotavlja zanesljivejših dokazov. Ker zdravljenje v opazovalnih raziskavah ni dodeljeno naključno, se lahko primerjane skupine bolnikov že ob začetku spremljanja pomembno razlikujejo glede prognoze, pridruženih bolezni, stanja zmogljivosti in drugih značilnosti.

Poseben metodološki izziv predstavljajo moteči dejavniki. Izbira zdravljenja je v klinični praksi pogosto povezana z bolnikovim zdravstvenim stanjem, zato opaženih razlik v izidih ni vedno mogoče pripisati samemu zdravljenju. Bolniki, ki prejmejo določeno zdravljenje, so lahko na primer že izhodiščno v boljšem splošnem stanju od bolnikov v primerjalni skupini. Če teh razlik v analizi ne upoštevamo ustrezno, je lahko ocena učinka zdravljenja izkrivljena. Pomembni viri pristranskosti so tudi selekcijska pristranskost, manjkajoči podatki ter napake pri opredelitvi in merjenju izidov (19).

Pri raziskavah, ki analizirajo čas do dogodka, je treba posebno pozornost nameniti pristranskosti zaradi t. i. nesmrtnega časa (angl. immortal time bias). Ta lahko nastane, kadar mora bolnik preživeti določeno obdobje, da je lahko razvrščen v skupino, ki prejme proučevano zdravljenje. Če začetek spremljanja in čas prejema zdravljenja v analizi nista ustrezno usklajena, je lahko korist zdravljenja precenjena. Tveganje je mogoče zmanjšati z ustreznimi časovno odvisnimi analizami ter z metodami, ki posnemajo zasnovo vnaprej opredeljene ciljne randomizirane raziskave (angl. target trial emulation) (20,21).

Verodostojni dokazi iz realnega sveta zato zahtevajo jasno raziskovalno vprašanje, vnaprej opredeljeno raziskovalno populacijo in začetek spremljanja, ustrezno primerjalno skupino ter vnaprej določen načrt analize. Analitične metode morajo ustrezno upoštevati moteče dejavnike in manjkajoče podatke, z analizami občutljivosti pa je treba preveriti, kako različne predpostavke vplivajo na rezultate. K

preglednejšemu in doslednejšemu načrtovanju ter poročanju raziskav dokazov iz realnega sveta v onkologiji prispevajo tudi smernice ESMO GROW (22).

Metodološka doslednost je še posebej pomembna, kadar dokazi iz realnega sveta niso namenjeni zgolj opisu klinične prakse, temveč naj bi podpirali oceno primerjalne učinkovitosti zdravljenja, farmakoekonomsko vrednotenje ali odločitve o financiranju.

Vrednotenje zdravila se z uvedbo v prakso ne konča

Če podatki iz realnega sveta omogočajo preverjanje, ali se pričakovani klinični in ekonomski izidi uresničujejo, jih je smiselno uporabljati v celotnem življenjskem ciklu zdravila.

Pred odobritvijo lahko RWE v izbranih okoliščinah dopolnjujejo razvoj zdravila in zunanje primerjalne podatke. Po odobritvi pa postanejo pomembni za druga vprašanja: kako se zdravilo uporablja, kakšni so njegovi izidi v širši populaciji, kakšna je dejanska poraba virov in ali se negotovosti, prisotne ob prvotni odločitvi, sčasoma zmanjšujejo (14,23).

To je pomembno tudi zato, ker regulatorni organi in organi za vrednotenje zdravstvenih tehnologij ne odgovarjajo na povsem enako vprašanje. Regulatorno vrednotenje je usmerjeno predvsem v razmerje med koristmi in tveganji zdravila, pri odločitvah o vključitvi v zdravstveni sistem pa je treba poleg primerjalne klinične učinkovitosti upoštevati še stroške, finančne posledice in posledice izbire za razpoložljiva sredstva zdravstvenega sistema (23).

Takšen pristop zahteva podatkovno infrastrukturo, ki omogoča longitudinalno spremljanje bolnika. Registri raka postanejo zato bistveno uporabnejši, če so povezani s kliničnimi zapisi, podatki o zdravilih, administrativnimi zbirkami, podatki o umrljivosti in izidi, o katerih poročajo bolniki (24,25).

To je posebej relevantno za manjše evropske zdravstvene sisteme, kjer lahko populacijski registri zajamejo velik delež bolnikov. Njihov potencial pa je odvisen od popolnosti in pravočasnosti podatkov. Evropski registri se še vedno precej razlikujejo glede zajema podatkov o zdravljenju, biooznačevalcih, ponovitvah bolezni in izidih bolnikov (24–26). Za njihovo učinkovito uporabo so zato potrebni standardizirano zbiranje podatkov, varno povezovanje podatkovnih zbirk in sodelovanje med kliniki, registri, plačniki ter drugimi odločevalci.

Zaključek

Klinične raziskave, dokazi iz realnega sveta in ekonomsko vrednotenje odgovarjajo na različna, vendar med seboj povezana vprašanja. Randomizirane raziskave zagotavljajo najzanesljivejšo oceno učinka zdravljenja v opredeljenih pogojih. RWE pokažejo, kaj se z zdravljenjem dogaja po uvedbi v širšo klinično prakso, farmakoekonomsko in zdravstvenoekonomsko vrednotenje pa te izide poveže s porabo omejenih zdravstvenih virov.

Največja vrednost RWE zato ni v nadomeščanju obstoječih dokazov, temveč v povezovanju kliničnega raziskovanja z vsakodnevno prakso in odločanjem v zdravstvenem sistemu. Omogočajo preverjanje predpostavk o dolgoročnem preživetju, trajanju zdravljenja, stroških in finančnih posledicah ter s tem tudi ponovno presojo zdravila, ko je o njegovi dejanski uporabi znanega več.

Ob kakovostnih podatkih, ustrezni metodologiji in povezani podatkovni infrastrukturi lahko dokazi iz realnega sveta prispevajo k natančnejšemu kliničnemu odločanju, bolj utemeljenemu ekonomskemu vrednotenju ter zdravstveni obravnavi, ki poleg klinične koristi upošteva tudi izide, pomembne za bolnika, in dolgoročno vzdržnost zdravstvenega sistema.

Zahvala

Prispevek je nastal v okviru raziskovalnega programa P1-0045, ki ga financira Javna agencija za znanstvenoraziskovalno in inovacijsko dejavnost Republike Slovenije (ARIS).

Literatura

1. Khozin S, et al. Real-world data for clinical evidence generation in oncology. J Natl Cancer Inst. 2017;109(11).
2. Saesen R, van Hemelrijck M, Bogaerts J, Booth CM, Cornelissen JJ, Dekker A, et al. Defining the role of real-world data in cancer clinical research: the position of the European Organisation for Research and Treatment of Cancer. Eur J Cancer. 2023;186:52–61.
3. Penberthy LT, et al. An overview of real-world data sources for oncology and considerations for research. CA Cancer J Clin. 2022;72(3):287–300.
4. Tang M, et al. Harnessing real-world evidence to advance cancer research. Curr Oncol. 2023;30(2):1844–1859.
5. Sedrak MS, et al. Older adult participation in cancer clinical trials: a systematic review of barriers and interventions. CA Cancer J Clin. 2021;71(1):78–92.
6. Tang M, et al. Are clinical trial eligibility criteria representative of older patients with lung cancer? A population-based data linkage study. J Geriatr Oncol. 2021;12(6):930–936.
7. Yap TA, et al. Application of real-world data to external control groups in oncology clinical trial drug development. Front Oncol. 2022;11:695936.
8. Eichler HG, et al. Randomized controlled trials versus real world evidence: neither magic nor myth. Clin Pharmacol Ther. 2021;109(5):1212–1218.
9. Petracci F, et al. Use of real-world evidence for oncology clinical decision making in emerging economies. Future Oncol. 2021;17(22):2951–2960.
10. Tunaru F, et al. Use of real-world data and real-world evidence in NICE (UK) health technology appraisals of new therapeutics in oncology: a systematic review. BMJ Open. 2025;15(9):e102769.
11. Frisell O, et al. A conceptual health economic modelling framework to assess the cost-effectiveness of molecular target-driven treatment regimens in oncology. Acta Oncol. 2026;65:141–147.
12. Ginés Rubió J, et al. Healthcare resource utilization and associated costs among patients with advanced non-small-cell lung cancer receiving chemotherapy or immunotherapy in Spain: a single-center, real-world, exploratory study. Cancers. 2024;16(11):2068.
13. Jansen YJL, et al. Discontinuation of anti-PD-1 antibody therapy in the absence of disease progression or treatment limiting toxicity: clinical outcomes in advanced melanoma. Ann Oncol. 2019;30(7):1154-1161.
14. Bharmal M, et al. Real-world evidence in the reassessment of oncology therapies: payer perceptions from five countries. Future Oncol. 2024;20(21):1467-1478.
15. Gorostiza A, et al. Basing healthcare decisions on value: patient-reported outcomes for patients diagnosed with breast cancer in a European cohort. Eur J Public Health. 2025;35(5):835-843.
16. Basch E, et al. Effect of electronic symptom monitoring on patient-reported outcomes among patients with metastatic cancer: a randomized clinical trial. JAMA. 2022;327(24):2413-2422.
17. Basch E, et al. Symptom monitoring with electronic patient-reported outcomes during cancer treatment: final results of the PRO-TECT cluster-randomized trial. Nat Med. 2025;31(4):1225-1232.
18. Pangestu S, Rencz F. Comprehensive score for financial toxicity and health-related quality of life in patients with cancer and survivors: a systematic review and meta-analysis. Value Health. 2023;26(2):300-316.
19. Pfaffenlehner M, et al. Methodological challenges using routine clinical care data for real-world evidence: a rapid review utilizing a systematic literature search and focus group discussion. BMC Med Res Methodol. 2025;25(1):8.
20. Duchesneau ED, et al. The timing, the treatment, the question: comparison of epidemiologic approaches to minimize immortal time bias in real-world data using a surgical oncology example. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2022;31(11):2079-2086.
21. Kuehne F, et al. Causal analyses with target trial emulation for real-world evidence removed large self-inflicted biases: systematic bias assessment of ovarian cancer treatment effectiveness. J Clin Epidemiol. 2022;152:269-280.
22. Castelo-Branco L, et al. ESMO Guidance for Reporting Oncology real-World evidence (GROW). ESMO Real World Data Digit Oncol. 2023;1:100003.
23. Sagkriotis A. Bridging evidence worlds: policy and practice pathways for integrating clinical trials and real-world data in drug development and HTA. Front Pharmacol. 2026;17:1786017.
24. Pisana A, et al. Challenges and opportunities with routinely collected data on the utilization of cancer medicines: perspectives from health authority personnel across 18 European countries. Front Pharmacol. 2022;13:873556.
25. Lima B, et al. Optimizing data linkage for maximizing the potential of Luxembourg's national cancer registry: a comprehensive scoping review. Front Oncol. 2025;15:1679408.
26. Giusti F, et al. Cancer treatment data available in European cancer registries: where are we and where are we going? Front Oncol. 2023;13:1109978.

PODATKI IZ RESNIČNEGA SVETA V GINEKOLOŠKI ONKOLOGIJI: OD KLINIČNIH RAZISKAV DO VSAKDANJE PRAKSE

Milena Mikluš[1], Iztok Takač[1,2], Jure Knez[1,2]

[1] *Univerzitetni klinični center Maribor, Klinika za ginekologijo in porodništvo,Maribor, Slovenija*

[2] *Univerze v Mariboru, Medicinska fakulteta, Katedra za ginekologijo in porodništvo, Maribor, Slovenija*

Elektronski naslov: milenarmus4@gmail.com

Izvleček

Randomizirane kontrolirane raziskave (angl. randomized controlled trials, RCT) so temelj ocenjevanja učinkovitosti in varnosti zdravljenja v ginekološki onkologiji. Naključna razporeditev bolnic v skupine zmanjšuje vpliv motečih dejavnikov in omogoča zanesljivejše sklepanje o učinkih zdravljenja. Vendar dolgotrajno izvajanje raziskav in stroga vključitvena merila omejujejo pravočasnost rezultatov ter njihovo prenosljivost na vse bolnice v vsakdanji praksi. Podatki iz prakse (angl. real-world data, RWD) so podatki o zdravstvenem stanju in zdravstveni oskrbi, ki se rutinsko zbirajo iz različnih virov. Z njihovo analizo pridobivamo dokaze iz prakse (angl. real-world evidence, RWE) o uporabi, koristih in tveganjih zdravljenja (1). V prispevku predstavljamo njihovo vlogo pri najpogostejših ginekoloških rakih in pri redkejših rakih zunanjega spolovila in nožnice.

Podatki iz prakse pri raku jajčnikov

Zdravljenje raka jajčnikov se je z razvojem citoreduktivne kirurgije, molekularnega testiranja in tarčnega zdravljenja vse bolj prilagodilo značilnostim posamezne bolnice in njenega tumorja. Pomembno vlogo imajo zaviralci poli(ADP-riboze) polimeraze (PARP). RWD omogočajo spremljanje njihove uporabe in izidov zdravljenja v rutinski klinični praksi (2).

Viri RWD vključujejo elektronsko zdravstveno dokumentacijo, institucionalne in nacionalne registre ter podatke o obračunanih zdravstvenih storitvah (1). Pri raku jajčnikov jih lahko povezujemo tudi z genomskimi podatki ter tako proučujemo izbiro zdravljenja glede na biomarkerje in dolgoročne izide (2).

Pri vzdrževalnem zdravljenju z zaviralci PARP so RWD uporabni za oceno izbire bolnic, trajanja in prekinitev zdravljenja ter izidov glede na spremembe v genih *BRCA1/2* in okvaro homologne rekombinacije (angl. homologous recombination deficiency, HRD). Raziskave iz prakse tako dopolnjujejo podatke o učinkovitosti, pridobljene v RCT (2).

Richardson in sod. so leta 2024 analizirali ameriško klinično-genomsko bazo, ki povezuje elektronsko zdravstveno dokumentacijo iz približno 280 onkoloških ambulant s podatki o genomskem profiliranju (2). Vključili so 673 bolnic z napredovalim rakom jajčnikov, zdravljenih s kemoterapijo (KT), ki vključuje platino, v prvi liniji; 160 jih je prejemalo vzdrževalno zdravljenje z zaviralci PARP, 513 pa vzdrževalnega zdravljenja ni prejemalo.

Pri bolnicah s pozitivnim genomskim podpisom HRD je bilo vzdrževalno zdravljenje povezano z daljšim preživetjem brez napredovanja bolezni, ocenjenim iz podatkov rutinske oskrbe (angl. real-world progression-free survival, rwPFS); razmerje ogroženosti (angl. hazard ratio, HR) je znašalo 0,36 (95-odstotni interval zaupanja 0,24–0,55). Povezava je bila prisotna tudi pri bolnicah brez sprememb BRCA1/2 s pozitivnim podpisom HRD (HR 0,40; 95-odstotni interval zaupanja 0,22–0,72). Pri negativnem podpisu HRD statistično značilne razlike niso ugotovili (2).

Rezultati kažejo uporabnost povezovanja kliničnih in genomskih podatkov. Nanašajo se na uporabljeni genomski podpis HRD in opazovalno zasnovo; odsotnost statistično značilne razlike zato

ne dokazuje odsotnosti koristi pri vseh bolnicah z negativnim izvidom drugih testov HRD (2).

Chan in sod. so v analizi 705 bolnic po zaključeni KT prve linije primerjali 166 bolnic na vzdrževalnem zdravljenju z zaviralcem PARP s 539 bolnicami, ki so bile aktivno spremljane (3). Vzdrževalno zdravljenje je bilo povezano z daljšim časom do naslednjega zdravljenja ali smrti, ki so ga uporabili kot približek rwPFS. Delež bolnic, ki so prejele zaviralec PARP, se je povečal s 6 % leta 2017 na 53 % leta 2021. Raziskava prikazuje uvajanje zdravljenja v prakso, pri primerjavi izidov pa je treba upoštevati nerandomizirano izbiro zdravljenja in različno trajanje spremljanja.

Raziskava RESPONSE, objavljena leta 2022, je zajela 1.119 bolnic z novoodkritim napredovalim visokogradusnim seroznim ali endometrioidnim rakom jajčnikov iz osmih zahodnih držav (4). Šlo je za opazovalno raziskavo z retrospektivnim zbiranjem podatkov iz zdravstvene dokumentacije. Primarno citoreduktivno operacijo je opravilo 40,8 % bolnic, intervalno pa 39,3 %. Med operiranimi po primarnem pristopu pri 55,5 % ni bilo vidnega ostanka bolezni, po intervalni operaciji pa pri 63,9 %. Ti podatki opisujejo dejansko uporabo različnih strategij zdravljenja; zaradi razlik pri izboru bolnic neposredno ne dokazujejo prednosti enega kirurškega pristopa.

Pri vrednotenju kirurških izidov iz prakse je treba poleg vrste posega upoštevati razširjenost bolezni, splošno stanje bolnice in izbor za operacijo. Primerjave med centri so zato smiselne le ob ustreznem upoštevanju razlik v njihovih populacijah (4).

Cheeseman in sod. so leta 2023 v okviru mednarodnega konzorcija Ovarian Real-World International Consortium (ORWIC) analizirali 3.344 bolnic z epitelijskim rakom jajčnikov, diagnosticiranim med letoma 2012 in 2018, v sedmih centrih iz šestih evropskih in azijskih držav (5). Rutinsko zbrane podatke so uskladili s skupnim podatkovnim modelom. Analize so izvedli lokalno, med centri pa so primerjali združene rezultate, brez prenosa podatkov o posameznih bolnicah.

Med centri je delež bolnic z boleznijo v stadiju III–IV po klasifikaciji Mednarodne zveze za ginekologijo in porodništvo (FIGO) znašal od 62 % do 84 %. Centri z mlajšimi bolnicami in boljšim splošnim stanjem so pogosteje izvajali citoreduktivne operacije. KT, ki vključuje platino, se je dosledno uporabljala v prvi liniji, večje razlike pa so bile prisotne pri nadaljnjih linijah in vzdrževalnem zdravljenju. Pri nekaterih bolnicah so zabeležili do 11 linij sistemskega zdravljenja. Raziskava ORWIC zato ponazarja možnost proučevanja celotnega zaporedja zdravljenja, tudi poznih linij, za katere je podatkov iz RCT manj, ter izvedljivost mednarodnega sodelovanja ob uporabi skupnih opredelitev podatkov (5).

Podatki iz prakse pri raku maternične telesa

Pri raku endometrija RWD omogočajo ocenjevanje uvajanja molekularne klasifikacije, izbire sistemskega zdravljenja in posledic zdravljenja za kakovost življenja. Slovenske raziskave prispevajo podatke o uporabi molekularne ocene tveganja v kliničnem okolju (6).

Molekularna klasifikacija opredeljuje tumorje s patogeno mutacijo eksonukleazne domene gena POLE (POLEmut), z okvaro popravljanja neujemanja baz v DNA (angl. mismatch repair deficiency, MMRd), z nenormalnim vzorcem izražanja p53 (p53abn) in brez specifičnega molekularnega profila (angl. no specific molecular profile, NSMP). Vključevanje teh podatkov v kliničnopatološko oceno omogoča natančnejšo razvrstitev bolnic v skupine glede na tveganje za ponovitev bolezni (6).

Knez in sod. so v prospektivno kohortno raziskavo v Univerzitetnem kliničnem centru Maribor vključili 45 bolnic z biopsijsko potrjenim rakom endometrija, zdravljenih med januarjem 2020 in februarjem 2021 (6). Status POLE so določili s sekvenciranjem po Sangerju, MMRd in p53abn pa z imunohistokemičnim pregledom. Šest tumorjev z značilnostmi več molekularnih skupin so analizirali ločeno. Med preostalimi 39 tumorji je bilo 22 NSMP (56,4 %), 13 MMRd (33,3 %), trije p53abn (7,7 %) in en POLEmut (2,6 %). Vključitev molekularnih podatkov je spremenila razvrstitev v skupino tveganja pri štirih od 39 bolnic (10,3 %). Ker je izbira dopolnilnega zdravljenja odvisna tudi od te razvrstitve, bi sprememba lahko vplivala na terapevtsko odločitev.

Raziskava kaže, da lahko molekularna opredelitev tumorja spremeni oceno tveganja pri posamezni bolnici. Pri heterogeni skupini NSMP ostaja potreba po dodatnih biomarkerjih, ki bi omogočili natančnejše napovedovanje poteka bolezni (6).

Mevius in sod. so leta 2025 objavili retrospektivno kohortno raziskavo primarno napredovalega ali ponovljenega raka endometrija v Nemčiji v obdobju 2015–2021 (7). Uporabili so anonimizirane podatke zdravstvenega zavarovanja iz Saške in Turingije. Vključenih je bilo 466 bolnic, ki so začele sistemsko zdravljenje; povprečna starost je bila 68 let. Najpogosteje uporabljeni zdravili v prvi liniji sta bili karboplatin (45,7 %) in paklitaksel (43,1 %), zdravljenje druge linije pa je prejelo 32,8 % bolnic. Mediana celotnega preživetja je znašala 47,5 meseca, ocenjeno petletno preživetje pa 46,2 %. Pri 18,5 % bolnic je bilo zabeleženo testiranje tumorskega tkiva z imunohistokemijo ali verižno reakcijo s polimerazo. Raziskava opisuje takratno prakso in omejeno zabeleženo uporabo tumorskega testiranja. Podatkov iz obdobja 2015–2021 ne moremo neposredno prenesti na današnjo uporabo molekularne klasifikacije in novih sistemskih zdravljenj.

Sobočan in sod. so pri bolnicah, zdravljenih zaradi raka endometrija v Univerzitetnem kliničnem centru Maribor med letoma 2016 in 2019, ovrednotili slovenski prevod vprašalnika EORTC QLQ-EN24 Evropske organizacije za raziskovanje in zdravljenje raka (8). Simptome in funkcioniranje, o katerih so poročale bolnice, so povezali s kliničnimi značilnostmi in zdravljenjem. Pogostejše prebavne težave, mišične bolečine in bolečine v hrbtu so bile povezane s slabšimi rezultati na drugih ocenjevanih področjih. Spolne in vaginalne težave so bile povezane s slabšo telesno samopodobo; 39 % bolnic je poročalo o spolni aktivnosti v zadnjih štirih tednih. Raziskava poudarja pomen izidov, o katerih poročajo bolnice, za prepoznavanje dolgoročnih posledic zdravljenja. Takšni podatki dopolnjujejo preživetje in ponovitev bolezni kot merili uspešnosti oskrbe. V širšem okviru RWD jih obravnavamo glede na način zbiranja: ta raziskava je uporabila namenski vprašalnik med bolnicami po zdravljenju.

Podatki iz prakse pri obravnavi raka materničnega vratu

Pri raku materničnega vratu RWD omogočajo ocenjevanje dostopnosti sistemskega zdravljenja in deleža bolnic, ki prejmejo posamezne linije zdravljenja (9). Pri lokalno napredovali bolezni so uporabni tudi za spremljanje izvedbe obsevanja in sočasne KT, kar podrobneje prikazujejo v nadaljevanju opisane raziskave.

Denschlag in sod. so retrospektivno analizirali 503 bolnice s ponovljenim ali metastatskim rakom materničnega vratu, diagnosticiranim med letoma 2018 in 2022, v 31 nemških centrih (9). KT z zdravljenjem s protitelesi je prejelo 55 % bolnic, samo KT 22 %, brez sistemskega zdravljenja pa jih je bilo 22 %. Preostalih šest bolnic je prejelo samo imunoterapijo. Pri 283 bolnicah je bolezen napredovala, od teh jih je 176 (62 %) prejelo sistemsko zdravljenje druge linije. Mediana celotnega preživetja je bila 25 mesecev ob KT z zdravljenjem s protitelesi, 17 mesecev ob sami KT in 3,6 meseca brez sistemskega zdravljenja. Razlik ne moremo pripisati zgolj zdravljenju, saj skupine niso bile randomizirane in so se lahko razlikovale v splošnem stanju ter značilnostih bolezni. Raziskava izpostavlja velik delež bolnic, ki sistemskega zdravljenja ne prejmejo ali ne preidejo na naslednjo linijo.

Randomizirana raziskava KEYNOTE-826 je pokazala daljše preživetje brez napredovanja bolezni in celotno preživetje ob dodatku pembrolizumaba KT z bevacizumabom ali brez njega pri perzistentnem, ponovljenem ali metastatskem raku materničnega vratu (10). V prispevku jo navajamo kot primer randomiziranega dokaza, ne kot raziskavo RWD. Raziskave iz prakse lahko nato ocenijo, pri katerih bolnicah se takšno zdravljenje dejansko uporablja, kako ga prenašajo in kakšni so izidi v rutinski oskrbi.

Jääskeläinen in sod. so retrospektivno ocenili 112 bolnic z lokalno napredovalim rakom materničnega vratu, zdravljenih z radikalnim obsevanjem v Univerzitetni bolnišnici v Kuopiu med letoma 2009 in 2018 (11). Skladnost zdravljenja s smernicami so ocenjevali glede na sočasno KT, zdravljenje zasevkov

v bezgavkah, odmerek obsevanja primarnega tumorja in skupno trajanje zdravljenja. Vse bolnice so prejele magnetnoresonančno vodeno brahiterapijo.

Petletno celotno preživetje je znašalo 60,1 %, preživetje brez bolezni 57,0 %, lokalni nadzor bolezni pa 85,7 %. Zdravljenje je bilo ustrezno skladno s smernicami pri 76,8 % bolnic. V tej skupini je bilo petletno celotno preživetje 67 % v primerjavi z 39 % pri bolnicah z večjimi odstopanji; preživetje brez bolezni je znašalo 62 % v primerjavi z 42 %, nadzor bolezni v bezgavkah pa 84 % v primerjavi z 61 %. Manj kot trije cikli sočasne KT so bili povezani s slabšimi izidi. Ugotovitve poudarjajo pomen izvedbe zdravljenja, vendar je treba povezave razlagati ob upoštevanju razlik v značilnostih bolnic in bolezni med skupinama (11).

Registrski podatki omogočajo tudi spremljanje uporabe brahiterapije pri lokalno napredovalem raku materničnega vratu. Zgodovinska ameriška analiza je pokazala upad njene uporabe kljub takratnim priporočilom (12).

Bagshaw in sod. so iz registra Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) vključili 12.300 bolnic, zdravljenih z definitivnim obsevanjem med letoma 1988 in 2010 (12). Delež bolnic, ki so prejele zunanje obsevanje skupaj z brahiterapijo, se je zmanjšal z 68 % na 45 %, uporaba samega zunanjega obsevanja pa se je povečala. To je primer razkrivanja odstopanj od priporočenega zdravljenja na ravni populacije; podatki opisujejo navedeno zgodovinsko obdobje, ne sedanje pogostosti uporabe brahiterapije.

Thompson in sod. so v devetih radioterapevtskih oddelkih Novega Južnega Walesa analizirali zdravljenje z brahiterapijo v letu 2003 (13). V oddelkih z večjim številom obravnavanih bolnic je bil pogosteje dosežen v raziskavi uporabljeni odmerni kazalnik kakovosti: skupni odmerek zunanjega obsevanja in brahiterapije v točki A najmanj 80 Gy (58 % v primerjavi s 14 %). Zdravljenje je bilo zaključeno v osmih tednih pri 66 % bolnic v oddelkih z večjim obsegom dela in pri 35 % v oddelkih z manjšim obsegom dela. Gre za zgodovinski kazalnik, vezan na takratno načrtovanje obsevanja; ne predstavlja samostojnega priporočila za odmerjanje sodobne slikovno vodene brahiterapije.

Takšne analize pomagajo prepoznati organizacijske in izvedbene pomanjkljivosti oskrbe, ki jih raziskave s strogo določenim protokolom zdravljenja težje zajamejo (13).

Podatki iz prakse pri obravnavi raka zunanjega spolovila in nožnice

Pri redkih rakih zunanjega spolovila in nožnice so velike RCT težje izvedljive, zato pomemben del znanja prispevajo retrospektivne serije in opazovalne kohorte. Nekateri terapevtski pristopi se opirajo tudi na izkušnje pri raku materničnega vratu (14).

Registri in večcentrične zbirke podatkov omogočajo opisovanje značilnosti bolnic, načinov zdravljenja in izidov. Zaradi majhnih in pogosto neprimerljivih skupin pa je pri sklepanju o razlikah v učinkovitosti zdravljenja potrebna previdnost (14).

Leung in sod. so retrospektivno analizirali 688 bolnic iz Britanske Kolumbije, pri katerih je bil med letoma 2000 in 2017 diagnosticiran rak zunanjega spolovila (560 bolnic) ali nožnice (128 bolnic); mediana starosti je bila 68 let (14). Primerjali so izide kirurškega zdravljenja, radioterapije in kemoradioterapije. Pri bolnicah, zdravljenih z definitivnim obsevanjem, dodatek sočasne KT pri nobeni od obeh vrst raka ni bil povezan s statistično značilno daljšim celotnim preživetjem. Ta rezultat zaradi retrospektivne zasnove in možnih razlik med skupinami ne dokazuje enakovrednosti pristopov ali odsotnosti koristi KT. Raziskava ponazarja, kako lahko večje kohorte dopolnijo omejene podatke pri redkih rakih.

Slovenska retrospektivna raziskava Univerzitetnega kliničnega centra Maribor je vključila 124 bolnic z rakom zunanjega spolovila, zdravljenih med letoma 1994 in 2017 (15). Opisala je kliničnopatološke značilnosti, načine zdravljenja in podatke o okužbi s humanimi papilomavirusi. Takšne serije omogočajo vpogled v obravnavo redke bolezni skozi daljše obdobje.

V raziskavi raka nožnice v severovzhodni Sloveniji so v obdobju 1995–2017 zabeležili 33 bolnic; ploščatocelični karcinom je predstavljal 78 % primerov (16). Majhno število bolnic tudi v 23-letnem obdobju kaže potrebo po povezovanju podatkov med ustanovami za zanesljivejše analize.

Vivod in sod. so na Onkološkem inštitutu Ljubljana primerjali 11 bolnic z izolirano ponovitvijo raka zunanjega spolovila, zdravljenih z elektrokemoterapijo, in 15 bolnic, zdravljenih s široko lokalno ekscizijo (17). V 12 mesecih spremljanja niso ugotovili statistično značilne razlike v lokalnem nadzoru tumorja, elektrokemoterapija pa je bila povezana s krajšim posegom in krajšim bolnišničnim bivanjem. Nerandomizirana primerjava kaže možnost manj invazivne obravnave izbranih bolnic, vendar majhen vzorec in kratko spremljanje ne omogočata sklepa o enakovrednosti zdravljenj. Ker je bila elektrokemoterapija v tej raziskavi uvedena in spremljana prospektivno, gre za primer dopolnilnih kliničnih podatkov pri redki bolezni, ki ga je treba razlikovati od analize izključno rutinsko zbranih RWD.

Zaključek

RWD dopolnjujejo RCT z informacijami o uporabi zdravljenja in izidih v vsakdanji ginekološko-onkološki praksi. Pri raku jajčnikov omogočajo proučevanje vzdrževalnega zdravljenja in zaporedja terapij, pri raku endometrija uvajanja molekularne klasifikacije ter posledic zdravljenja za kakovost življenja, pri raku materničnega vratu pa dostopnosti in kakovosti izvedbe zdravljenja. Pri redkih rakih zunanjega spolovila in nožnice lahko povezovanje podatkov med ustanovami izboljša poznavanje bolezni in obravnave.

Pri razlagi RWE je treba upoštevati izbor bolnic, moteče dejavnike, manjkajoče podatke in razlike v opredelitvah izidov. Povezava med zdravljenjem in boljšim preživetjem v opazovalni raziskavi sama po sebi ne dokazuje vzročnega učinka. Prav tako vsaka nerandomizirana ali prospektivna raziskava ni nujno raziskava RWD; pomemben je izvor podatkov in način njihovega zbiranja.

Za nadaljnji razvoj so pomembni kakovostni registri, povezovanje kliničnih in molekularnih podatkov ter sistematično vključevanje izidov, o katerih poročajo bolnice. Skupne opredelitve in standardizirano zbiranje podatkov omogočajo primerjave med centri ter podpirajo strokovne odločitve o izboljšanju oskrbe.

Literatura

1. U.S. Food and Drug Administration. Real-world evidence [Internet]. Silver Spring (MD): FDA; [citirano 19. 9. 2026]. https://www.fda.gov/science-research/science-and-research-special-topics/real-world-evidence
2. Richardson DL, et al. Effectiveness of PARP inhibitor maintenance therapy in ovarian cancer by BRCA1/2 and a scar-based HRD signature in real-world practice. Clin Cancer Res. 2024;30(20):4644-53. doi:10.1158/1078-0432.CCR-24-1225. Erratum in: Clin Cancer Res. 2025;31(16):3599. doi:10.1158/1078-0432.CCR-25-2196
3. Chan JK, et al. Real-world outcomes associated with poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor monotherapy maintenance in patients with primary advanced ovarian cancer. Am J Clin Oncol. 2023;46(7):314-22. doi:10.1097/COC.0000000000001010
4. Marth C, et al. Real-life data on treatment and outcomes in advanced ovarian cancer: an observational, multinational cohort study (RESPONSE trial). Cancer. 2022;128(16):3080-9. doi:10.1002/cncr.34350
5. Cheeseman S, et al. Ovarian Real-World International Consortium (ORWIC): a multicentre, real-world analysis of epithelial ovarian cancer treatment and outcomes. Front Oncol. 2023;13:1114435. doi:10.3389/fonc.2023.1114435
6. Knez J, et al. Pre-treatment risk assessment of women with endometrial cancer: differences in outcomes of molecular and clinical classifications in a Slovenian patient cohort. Radiol Oncol. 2022;56(1):76-82. doi:10.2478/raon-2021-0036
7. Mevius A, et al. Epidemiology, real-world treatment patterns, and patient outcomes of primary

advanced or recurrent endometrial cancer in Germany between 2015 and 2021. Oncol Res Treat. 2025;48(3):92-101. doi:10.1159/000542773
8. Sobočan M, et al. Evaluation of patient-reported symptoms and functioning after treatment for endometrial cancer. Curr Oncol. 2022;29(8):5213-22. doi:10.3390/curroncol29080414
9. Denschlag D, et al. Evaluation of baseline characteristics and therapeutic management strategies in metastatic cervical cancer in Germany: a multicentric retrospective longitudinal observational study: a quality assurance initiative of the AGO-Study Group and AGO-OK Uterus. Geburtshilfe Frauenheilkd. 2025;85(5):520-32. doi:10.1055/a-2520-5736
10. Colombo N, et al. Pembrolizumab for persistent, recurrent, or metastatic cervical cancer. N Engl J Med. 2021;385(20):1856-67. doi:10.1056/NEJMoa2112435.
11. Jääskeläinen E, et al. Implementing treatment according to the guidelines is of paramount importance in locally advanced cervical cancer: a real-world study. Front Oncol. 2025;15:1562067. doi:10.3389/fonc.2025.1562067
12. Bagshaw HP, et al. Patterns of care with brachytherapy for cervical cancer. Int J Gynecol Cancer. 2014;24(9):1659-64. doi:10.1097/IGC.0000000000000276
13. Thompson SR, et al. Patterns of care study of brachytherapy in New South Wales: cervical cancer treatment quality depends on caseload. J Contemp Brachytherapy. 2014;6(1):28-32. doi:10.5114/jcb.2014.42022
14. Leung E, et al. Treatment patterns and outcomes of patients with locally advanced vulvar or vaginal cancer in British Columbia. Gynecol Oncol. 2023;175:107-13. doi:10.1016/j.ygyno.2023.06.013
15. Gavrič Lovrec V, et al. Clinicopathologic characteristics of patients with vulvar cancer treated between 1994 and 2017 at the University Medical Centre Maribor. Acta Med Biotech. 2021;14(1):27-33. doi:10.18690/actabiomed.211
16. Gavrić Lovrec V, et al. Clinicopathological characteristics of patients with vaginal cancer in the period 1995 to 2017. Acta Med Biotech. 2019;12(1):17-24. doi:10.18690/actabiomed.174
17. Vivod G, et al. Treatment of vulvar cancer recurrence with electrochemotherapy: a case-control study. Acta Oncol. 2024;63:351-7. doi:10.2340/1651-226X.2024.33241

MEROSLOVJE ZA PRECIZNO OBRAVNAVO RAKA: RAZVOJ REFERENČNIH MERILNIH POSTOPKOV IN REFERENČNIH MATERIALOV ZA GENOMSKO PROFILIRANJE RAKA

Mojca Milavec

Nacionalni inštitut za biologijo, Oddelek za biotehnologijo in sistemsko biologijo, Ljubljana, Slovenija

Elektronski naslov: mojca.milavec@nib.si

Izvleček

Zanesljivost genomskega profiliranja raka je odvisna od primerljivosti rezultatov med laboratoriji, metodami in analitskimi platformami. Pri hitrem razvoju sekvenciranja naslednje generacije je meroslovna podpora, ki bi pomembno prispevala k večji zanesljivosti rezultatov na tem področju, zelo omejena. Projekt GenomeMET je bil namenjen zapolnjevanju te vrzeli. Z razvojem referenčnih merilnih postopkov in referenčnih materialov ter s podporo zunanjemu ocenjevanju kakovosti smo partnerji projekta pomembno prispevali k večji zanesljivosti genomskega profiliranja raka. V prispevku predstavljamo razvoj in ovrednotenje potencialnih referenčnih merilnih postopkov na osnovi digitalnega PCR za izbrane označevalce raka na genih *PIK3CA, NRAS, MET, ESR1* in *TP53* ter njihovo uporabo pri dodeljevanju meroslovno sledljivih vrednosti referenčnim materialom in materialom za sheme zunanjega ocenjevanja kakovosti. Poseben poudarek je namenjen vzpostavljanju meroslovne sledljivosti v skladu z zahtevami ISO 17511. Rezultati projekta potrjujejo, da meroslovno utemeljeni pristopi predstavljajo pomemben predpogoj za zanesljivo uporabo genomskih podatkov pri zgodnjem odkrivanju raka, spremljanju bolezni in podpori precizni medicini.

Uvod

Napredek na področju genomskega profiliranja, ki ga omogočajo tehnologije, kot je sekvenciranje naslednje generacije (NGS), in vse večja uporaba novih metod za pridobivanje vzorcev, kot je tekočinska biopsija, spreminja zdravljenje bolnikov z rakom: omogoča zgodnejše in natančnejše diagnoze, usmerja izbire terapij ter spodbuja razvoj ciljno usmerjenih terapij, kar izboljšuje izide zdravljenja in učinkovitost zdravstvenega sistema. S hitrim razvojem in vse večjo uporabo NGS pa je primerljivost rezultatov genomskega profiliranja med laboratoriji, spletnimi platformami in vrstami testov pogosto nezadovoljiva. To je po eni strani posledica kompleksnega postopka od pridobivanja vzorca do bioinformatske analize, po drugi strani pa posledica slabše meroslovne infrastrukture in s tem pomanjkanja referenčnih merilnih postopkov (RMP) in referenčnih materialov (RM), ki so sicer uveljavljeni na drugih področjih laboratorijske medicine.

Potreba po meroslovni podpori se odraža tudi v zakonodaji, saj Uredba EU o *in vitro* diagnostičnih medicinskih pripomočkih (IVDR, EU 2017/746) (1) od proizvajalcev izrecno zahteva dokazano meroslovno sledljivost (skladno z ISO 17511) (2) vrednostim, ki so dodeljene referenčnim materialom.

Projekt *Metrology for genomic profiling to support early cancer detection and precision medicine, na kratko GenomeMET5* (Evropsko partnerstvo za metrologijo, sporazum 22HLT06, koordinator INRiM, Italija, s podporo NML pri LGC, Velika Britanija) (3), je bil zasnovan z namenom zapolnitve te vrzeli. V okviru projekta smo razvili in ovrednotili več potencialnih RMPjev za tarčno določanje označevalcev raka in jih uporabili pri vrednotenju referenčnih materialov in materialov za sheme zunanjega ocenjevanja kakovosti (*angl. External Quality Assessment - EQA*) na področju genomskega profiliranja.

Razvoj referenčnih merilnih postopkov (RMP)

RMP je po definiciji standarda ISO 151934 merilni postopek (4), uporabljen za pridobitev rezultatov, primernih za ocenjevanje točnosti vrednosti, dodeljenih z drugimi merilnimi postopki za isto veličino. RMP mora biti znanstveno utemeljen, tehnično validiran, merilna negotovost pa mora biti v celoti ovrednotena. Postopek mora biti tudi ustrezno dokumentiran, tako da je njegova izvedba neodvisno ponovljiva. Take postopke praviloma izvajajo nacionalni meroslovni inštituti, njihovo medsebojno primerljivost pa preverjajo študije Posvetovalnega odbora za množino snovi (*angl. Consultative Committee for Amount of Substance: Metrology in Chemistry and Biology - CCQM*) (5).

Za primarno metodologijo smo izbrali digitalni PCR (dPCR), ki omogoča absolutno kvantifikacijo tarčnih zaporedij brez uporabe umeritvenih krivulj. Podlagi za absolutno kvantifikacijo sta razporejanje tarčnih molekul v na tisoče posameznih reakcij in Poissonova statistika. Prednosti dPCR so meroslovna sledljivost do ravni ene molekule, visoka občutljivost za redke tarče (npr. < 0,1 % deleža variantnega alela, vAF) ter uporabnost tako za kvantifikacijo specifičnih označevalcev raka kot za določanje celokupne DNA. Trenutno je v bazi Skupega odbora za sledljivost v laboratorijski medicini (*angl. Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine – JCTLM*) (6) navedenih le 12 RMP-jev za označevalce raka, kar predstavlja kritično vrzel infrastrukture. V okviru projekta smo zato izbrali prioritetne označevalce in razvijali metode za njihovo kvantifikacijo (Tabela1). Potencialne RMP-je smo ovrednotili z več parametri, kot so linearnost, občutljivost, ponovljivost, vmesna natančnost in merilna negotovost.

Tabela 1: Prioritetni označevalci raka in stanje razvoja potencialnih referenčnih merilnih postopkov (RMP) za njihovo kvantifikacijo v projektu GenomeMET.

Označevalec	Stanje RMP ob zaključku projekta GenomeMET
PIK3CA, p.E545K	Kandidatni RMP ovrednoten; meja detekcije pri 0,10 % vAF, meja kvantifikacije pri 0,50 % vAF*; obnovljivost testirana v medlaboratorijski študiji CCQM-K189
PIK3CA, p.E542K	Potencialni RMP v vrednotenju
PIK3CA, p.H1047R	Potencialni RMP v vrednotenju
NRAS, p. Q61R	Potencialni RPM razvit in ovrednoten; meja detekcije pri 0,10 % vAF, meja kvantifikacije pri 0,50 % vAF (7)
MET, CNV	Potencialni RPM razvit in ovrednoten (8)
ESR1, p.Y537S	Potencialni RMP v vrednotenju; meja detekcije pri 0,12 % vAF, meja kvantifikacije pri 0,36 % vAF
ESR1, p.D538G	Potencialni RMP v vrednotenju; meja detekcije pri 0,65 % vAF, meja kvantifikacije pri 1,98 % vAF
TP53, p.R273C	Potencialni RPM v vrednotenju; meja detekcije pri 0,20 % vAF, meja kvantifikacije pri 0,50 % vAF

*vAF - Frekvenca variantnega alela (ang. allele frequency ali variant allele frequency)

Za uspešno genomsko profiliranje je pomembno, da za analizo uporabimo zadostno količino dovolj kvalitetne DNA. Široko uporabljane metode za določanje celokupne DNA so slabo primerljive (9), zato smo razvili tudi potencialni RMP za določanje celokupne DNA, ki temelji na sočasnem določanju količine petih referenčnih genov: *RPPH1* (ribonukleaza P, komponenta RNA H1; angl. ribonuclease P RNA component H1), *NR4Q* (deoksicitidin kinaza; angl. deoxycytidine kinase), *HBB1* (hemoglobin, podenota beta; angl. hemoglobin subunit beta), *22C3* (fosfomanomutaza 1;

angl. phosphomannomutase 1) in *2PR4* (ribosomski protein S27a; angl. ribosomal protein S27a) (10). Tak pristop omogoča nižjo merilno negotovost v primerjavi z uporabo enega referenčnega gena za kvantifikacijo celokupne DNA. Na tak način se izognemo tudi morebitni pristranskosti pri določanju variabilnosti števila kopij (*angl. copy number variations – CNV*).

Razvoj in vrednotenje referenčnih materialov

Poleg ustreznih RMP so za izboljšanje primerljivosti rezultatov med laboratoriji nujne ustrezne kontrole in referenčni materiali. V okviru projekta smo zato razvijali in/ali vrednotili primarne referenčne materiale in kontrole za genomsko profiliranje.

Primarni referenčni materiali

Z obstoječimi in novimi RMP-ji smo ovrednotili dva mednarodna standarda Svetovne zdravstvene organizacije (angl. WHO International Standard) in sicer 1st International Reference Panel for genomic KRAS codons 12 and 13 mutations (16/250) (11) in 1st International Standard for HCT 15 Cancer Genome (18/118) (12). Ovrednotili smo tudi potencialni mednarodni standard za različne variante EGFR v ctDNA in sodelovali pri razvoju standarda z variabilnim številom kopij. V postopku vrednotenja je tudi potencialni novi referenčni material, namenjen obogatitvi in genomski analizi tumorskih celic v krvnem obtoku (CTC) v vzorcih tekočinske biopsije. Gre za referenčni material, ki bo omogočil kontrolo kakovosti celotnega poteka dela, vključno s predanalitičnimi koraki, ki bistveno prispevajo k skupni merilni negotovosti pri testiranju tekoče biopsije.

Kontrole za genomsko profiliranje

Razvili smo različne material za kontrolo enega ali več korakov v postopku genomskega profiliranja. Razvita je bila zunanja kontrola za izolacijo cfDNA, ki omogoča ovrednotenje učinkovitosti izolacije. Za kontrolo postopkov pri tkivu pa smo uporabili 2D in 3D celične kulture, ki smo jih obravnavali kot klinične vzorce bolnikov z nedrobnoceličnim pljučnim rakom. Primerjali smo sveže zamrznjene vzorce celičnih kultur, z vzorci, fiksiranimi v formalinu 24 in 72 ur. Vzorce smo analizirali s spektrofotometričnimi in fluorimetričnimi metodami, z novo razvitim pet tarčnim dPCR za določanje celokupne DNA ter z NGS. Dobljeni rezultati bodo omogočili razvoj novih referenčnih materialov.

Hierarhija kalibracij in meroslovna sledljivost

Kalibracijska hierarhija ponazarja, kako se meroslovna sledljivost do mednarodnega sistema enot (SI) prenaša od primarnega RMP preko primarnega certificiranega referenčnega materiala (CRM) in sekundarnih oziroma delovnih materialov proizvajalca do končnega kliničnega rezultata bolnika, pri čemer se običajno pri vsakem koraku povečuje merilna negotovost (Tabela 2). Brez delujoče kalibracijske hierarhije rutinskih kliničnih rezultatov različnih platform ali laboratorijev ni mogoče zanesljivo primerjati niti preveriti njihove točnosti. V okviru projekta smo zato vzpostavili primer meroslovne sledljivosti za genomsko profiliranje v skladu z ISO 17511 (2). Obstoječe in nove RMP-je za smo uporabili za primer vzpostavitve meroslovne sledljivosti za vrednosti vAF za posamezne označevalce raka na genih *PIK3CA* in *KRAS*.

Za ta namen smo izbrali komercialni material proizvajalca SensID. Material je mešanica fragmentirane DNA dveh celičnih linij (normalna linija in linij kolorektalnega raka) pri različnih vrednostih vAF (~50 %, ~5 % in ~1 %). Uporaba RMP je omogočila vzpostavitev meroslovne sledljivosti, pri čemer je bila merilna negotovost ovrednotena tako pri razvoju RMP-jev kot pri določanju vFA vrednosti v analiziranem materialu. Tako ovrednoten material lahko služi kot sekundaren RM za določanje morebitnih odstopanj pri genomskem profiliranju z NGS.

Tabela 2: Ponazoritev kalibracijske hierarhije za genomsko merjenje deleža variantnega alela (vAF) na primeru KRAS p.G12D.

Nivo hierarhije	Opis	Merilna negotovost	KRAS p.G12D
1[a]. Primarni RMP	Najvišji nivo; uvrščen v JCTLM, izveden v nacionalnem meroslovnem inštitutu ali referenčnem laboratoriju	Najnižja	dPCR RMP za vAF
1[b]. Primarni CRM	Vrednost dodeljena s primarnim RMP; uvrščen v JCTLM	Nizka	50 % ± 0,5 % vAF (čista DNA)
2. Sekundarni RM proizvajalca	Vrednost dodeljena s primerjavo s CRM; zamenljivost	Srednja	50 % ± 1,0 % vAF (fragmentirana DNA)
3. Delovni kalibrator/ kontrola proizvajalca	Kontrola znotraj kompleta za NGS/qPCR	Visoka	5 % ± 1,5 % vAF (fragmentirana DNA)
4. Klinični rezultat (bolnik)	Rutinski NGS/qPCR rezultat v kliničnem laboratoriju	Najvišja (skupna)	4,8 % ± 1,9 % vAF

Sodelovanje pri zunanjem ocenjevanju kakovosti (EQA)

Sheme zunanjega ocenjevanja kakovosti (EQA) zagotavljajo neodvisno oceno delovanja laboratorijev. Temeljijo na distribuciji referenčnih vzorcev sodelujočim laboratorijem ter primerjavi rezultatov s pričakovanimi vrednostmi. EQA je tudi temelj akreditacije v skladu s standardom ISO 15189 (13).

Na področju genomskega testiranja raka so obstoječe sheme pretežno usmerjene v kvalitativno ocenjevanje in ne ocenjujejo kvantitativne variabilnosti (vAF). Zato sistematične napake, skupne več laboratorijem, ostanejo neodkrite. Za prenos teh spoznanj v rutinsko prakso EQA sta bila v konzorcij vključena tudi vodilna evropska ponudnika EQA shem, INSTAND (Nemčija) in GenQA (Velika Britanija). Tako smo lahko rezultate projekta uporabili za izboljšave shem EQA. Izboljšave smo dosegali na tri načine: (1) z zagotavljanjem meroslovno sledljivih vrednosti EQA materialom (uporaba dPCR RMP omogoča zaznavo naključne variabilnosti in sistematične pristranskosti), (2) s podporo pri razvoju nove sheme za testiranje ctDNA ter (3) z razvojem nove sheme za predanalitske dejavnike (izolacija cfDNA).

Konkreten primer podpore je nova shema "Molecular Genetics: ctDNA Tumour Panel EQA" (INSTAND, oznaka 752), pri kateri smo partnerji z RMP-ji določali vrednosti vAF variant BRAF V600E, EGFR T790M, KRAS (kodona 12 in 13), NRAS (kodon 61), ESR1 in PIK3CA v ctDNA. Med meroslovnimi inštituti smo ugotovili dobro ujemanje kvalitativnih rezultatov in vAF, medtem ko je bila variabilnost poročanih vAF visoka med ostalimi sodelujočimi laboratoriji. Pokazalo se je tudi, da so bile nižje vrednosti vAF (0,5–1 %) bistveno težje zaznavne, kar potrjuje potrebo po nadaljnji standardizaciji.

Zaključek

Projekt GenomeMET predstavlja pomemben prispevek k vzpostavljanju meroslovne infrastrukture za genomsko profiliranje raka. Razvoj in ovrednotenje RMP-jev na osnovi dPCR omogočata zanesljivejšo dodelitev meroslovno sledljivih vrednosti referenčnim materialom in podporo EQA shemam ter posledično izboljšanje primerljivosti rezultatov med laboratoriji, metodami in platformami. Rezultati potrjujejo praktično uporabnost takšnega pristopa, hkrati pa izpostavljajo potrebo po nadaljnji standardizaciji pri zaznavanju nizkih deležev vAF, kjer ostaja pomemben izziv variabilnost med rezultati laboratorijev.

Zahvala

Projekt GenomeMET je prejel finančna sredstva iz Evropskega partnerstva za meroslovje, ki ga sofinancirajo program Evropske unije za raziskave in inovacije Obzorje Evropa ter sodelujoče države.

Literatura

1. Regulation (EU) 2017/746 of the European Parliament and of the Council on *in vitro* diagnostic medical devices (IVDR). https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2017/746/oj/eng
2. ISO 17511:2020. *In vitro* diagnostic medical devices — Requirements for establishing metrological traceability of values assigned to calibrators, trueness control materials and human samples.
3. https://www.genomemet.org/
4. ISO 15193 *In vitro* diagnostic medical devices — Requirements for reference measurement procedures
5. https://www.bipm.org/en/committees/cc/ccqm
6. https://jctlm.org/home/
7. Petiti J, et al. New candidate reference measurement procedure for NRAS p.Q61R quantification by digital PCR, Methods, 2026, 254 (192-201), https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2026.07.005
8. Petiti J, et al. New Candidate Reference Measurement Procedures for MET CNV Detection and Quantification Using Digital PCR. Biol Proced Online. 2026, 28(1):10. https://doi.org/10.1186/s12575-026-00325-5
9. Ivanova S. Primerjava pristopov za vrednotenje različnih metod ekstrakcije nukleinskih kislin iz humane celične linije raka, 2025, magistrsko delo.
10. Yener D, et al. Multiplexed Digital PCR Reference Gene Measurement for Genomic and Cell-Free DNA Analysis. Cells. 2025;14(19):1544. doi: https://doi.org/10.3390/cells14191544
11. WHO Reference Panel, 1st International Reference Panel for genomic KRAS codons 12 and 13 mutations, NIBSC code: 16/250, Instructions for use (Version 3.0, Dated 16/03/2020) https://nibsc.org/documents/ifu/16-250.pdf
12. WHO International Standard, 1st International Standard 2019 for HCT 15 Cancer Genome, NIBSC code: 18/118, Instructions for use, (Version 1.0, Dated 16/03/2020) https://nibsc.org/documents/ifu/18-118.pdf
13. ISO 15189 Medical laboratories — Requirements for quality and competence.

ELEKTROKEMOTERAPIJA BAZALNOCELIČNEGA KARCINOMA PRI STAREJŠIH BOLNIKIH: SLOVENSKE IZKUŠNJE IN DOKAZI IZ REALNEGA SVETA

Aleš Grošelj[1], Maša Omerzel[1,2], Črt Jamšek[3], Simona Kranjc Brezar[1,2], Maja Čemažar[1,4], Gregor Serša[1,5]

[1] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za eksperimentalno onkologijo, Ljubljana, Slovenija*
[2] *Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Ljubljana, Slovenija*
[3] *Univerzitetni klinični center Ljubljana, Klinika za otorinolaringologijo in cervikofacialno kirurgijo, Ljubljana, Slovenija*
[4] *Univerza na Primorskem, Fakulteta za vede o zdravju, Izola, Slovenija*
[5] *Univerza v Ljubljani, Zdravstvena fakulteta, Ljubljana, Slovenija*

E-mail: momerzel@onko-i.si

Izvleček

Elektrokemoterapija (EKT) je lokalna metoda zdravljenja tumorjev, ki z električnimi pulzi poveča prepustnost celične membrane in s tem vstop citostatika v tumorske celice. Pri zdravljenju bazalnoceličnega karcinoma (BCC) je primerna predvsem za bolnike, pri katerih bi kirurško zdravljenje povzročilo večjo funkcionalno ali estetsko prizadetost, ter za starejše bolnike z več pridruženimi boleznimi. V prispevku bomo predstavili slovenske izkušnje z EKT pri zdravljenju BCC, s poudarkom na prilagoditvi odmerka bleomicina pri starejših bolnikih. Klinične raziskave so sprva proučevale farmakokinetiko bleomicina ter učinkovitost EKT s standardnim (15.000 IU/m^2) in zmanjšanim (10.000 IU/m^2) intravenskim odmerkom. Farmakokinetična analiza je pokazala počasnejše izločanje bleomicina pri starejših bolnikih, zgodnje klinične raziskave pa primerljivo učinkovitost obeh odmerkov. Zdravljenje BCC z elektrokemoterapijo je postalo del standardnega zdravljenja in je zapisano v Slovenske smernice zdravljenja BCC. Nadaljnje spremljanje bolnikov je pokazalo primerljivo tveganje za ponovitve bolezni predvsem v prvem letu, dolgoročna retrospektivna analiza, ki je vključila 116 bolnikov, starejših od 65 let, z 257 histološko potrjenimi BCC, pa je pri daljšem spremljanju zaznala več ponovitev bolezni po zmanjšanem odmerku. Danes na podlagi dokazov in izkušenj vemo, da je EKT učinkovita možnost lokalnega zdravljenja BCC pri starejših bolnikih. Zmanjšani odmerek bleomicina je smiselna individualizirana možnost pri skrbno izbranih starejših bolnikih z več pridruženimi boleznimi, pri bolnikih z daljšo pričakovano življenjsko dobo pa je treba upoštevati večje tveganje poznih lokalnih ponovitev.

Uvod

Bazalnocelični karcinom je najpogostejši maligni tumor kože. Čeprav praviloma raste počasi in zelo redko zaseva, lahko zaradi infiltracije v okoliška tkiva le-ta poškoduje. To je posebej pomembno pri tumorjih glave in vratu, kjer lahko obsežnejši kirurški posegi povzročijo funkcionalne in estetske posledice. Pri izbiri zdravljenja je zato poleg onkološke učinkovitosti treba upoštevati tudi lokalizacijo in velikost tumorja, predhodna zdravljenja, splošno stanje bolnika, pridružene bolezni in pričakovano življenjsko dobo.

EKT je lokalno ablativno zdravljenje, ki temelji na kombinaciji citostatika in elektroporacije. Z dovajanjem kratkih električnih pulzov na tumor prehodno povečamo prepustnost membrane tumorskih celic in s tem omogočimo bistveno učinkovitejši vstop slabo permeabilnih citostatikov, predvsem bleomicina, v celice. Poleg neposrednega citotoksičnega učinka ima EKT tudi žilne učinke ter lahko prispeva k aktivaciji lokalnega imunskega odziva.

V Sloveniji ima raziskovanje elektroporacije in EKT dolgo tradicijo, razvoj metode pa je potekal v tesnem sodelovanju predkliničnih raziskovalcev. Pomemben del slovenskih kliničnih raziskav je bil usmerjen v vprašanje, ali je mogoče pri starejših bolnikih zmanjšati odmerek bleomicina, ne da bi bistveno zmanjšali učinkovitost zdravljenja.

Od farmakokinetične klinične raziskave do individualiziranega zdravljenja

Pri EKT s sistemsko aplikacijo bleomicina se standardno uporablja intravenski odmerek 15 000 IU/m² telesne površine. Starostniki pa predstavljajo posebno populacijo, saj so pri njih pogostejše pridružene bolezni in zmanjšano ledvično delovanje, kar lahko vpliva na farmakokinetiko bleomicina (1).

V sodelovanju z Inštitutom Jožef Stefan smo v Sloveniji razvili metodo za določanje bleomicina v krvi in sicer na podlagi tekočinske kromatografije, sklopljeno z masno spektrometrijo visoke ločljivosti (2). Tako smo lahko izvedli prospektivno klinično študijo, v kateri smo opredelili terapevtsko okno EKT na podlagi farmakokinetike bleomicina pri bolnikih, starejših od 65 let. Po intravenskem bolusu bleomicina v odmerku 15 000 IU/m² smo bolnikom odvzemali vzorce krvi in določili koncentracijo bleomicina v serumu. Analiza je pokazala počasno, monofazno izločanje bleomicina iz seruma, z očistkom, manjšim od 500 ml/min, in razpolovnim časom približno 30 minut. Pri starejših bolnikih je terapevtsko okno za izvedbo EKT lahko daljše od običajno uporabljenega in lahko traja od 8 do 40 minut ali celo dlje po aplikaciji bleomicina. Podaljšana prisotnost terapevtskih koncentracij bleomicina v serumu pa ima lahko tudi klinične posledice. Daljša izpostavljenost lahko poveča tveganje za neželene učinke bleomicina, vključno s pljučno fibrozo, ter zaradi večjega privzema zdravila v elektroporirane tumorske celice prispeva k obsežnejši nekrozi tumorja. Ti podatki so bili osnova za nadaljevanje raziskav v smeri zmanjšanega odmerka bleomicina (1).

Prve klinične izkušnje z zmanjšanim odmerkom bleomicina

Sledila je nova klinična raziskava, ki je preučevala učinkovitost EKT z zmanjšanim odmerkom bleomicina pri starejših bolnikih z nemelanomskim kožnim rakom glave in vratu. Želeli smo ugotoviti, ali je mogoče standardni intravenski odmerek bleomicina 15 000 IU/m² zmanjšati na 10 000 IU/m², ne da bi s tem zmanjšali učinkovitost EKT (3).

V prospektivno raziskavo smo vključili 28 bolnikov, starejših od 65 let, s skupno 52 nemelanomskimi kožnimi tumorji glave in vratu. Dvanajst bolnikov s 24 tumorji je prejelo zmanjšani odmerek bleomicina (10 000 IU/m²), 16 bolnikov z 28 tumorji pa standardni odmerek (15 000 IU/m²). Večina tumorjev v obeh skupinah je bila BCC. Po intravenski aplikaciji bleomicina smo izvedli EKT po standardnem postopku. Rezultati so pokazali primerljivo učinkovitost EKT pri zmanjšanem in standardnem odmerku bleomicina, saj med skupinama ni bilo statistično značilnih razlik v lokalnem nadzoru tumorjev. Raziskava je tako pokazala, da lahko pri starejših bolnikih zmanjšanje odmerka bleomicina za približno tretjino ohrani dobro protitumorsko učinkovitost EKT. Iz klinične študije smo sklepali, da je odmerek 10 000 IU/m² bleomicina lahko učinkovita alternativa standardnemu odmerku 15 000 IU/m² pri starejših bolnikih z nemelanomskim kožnim rakom glave in vratu (3). Tak pristop bi lahko zmanjšal sistemsko izpostavljenost bleomicinu in s tem potencialno tudi tveganje za neželene učinke, kar je posebej pomembno pri starejših bolnikih. Že v zaključkih izsledkov, ki smo jih objavili, smo izpostavili, da so to preliminarni rezultati razmeroma majhne skupine bolnikov, in da je potrebno bolnike spremljati in ugotovitve potrditi na večjem številu bolnikov.

Raziskava je pokazala tudi, da se bleomicin pri bolnikih, mlajših od 65 let, iz plazme izloča hitreje kot pri starejših bolnikih, zato zmanjševanje standardnega odmerka 15 000 IU/m² pri mlajših bolnikih ni priporočljivo (4).

Dolgoročni rezultati zdravljenja BCC z EKT

Na podlagi rezultatov kliničnih raziskav in izkušenj je bila EKT kot možnost zdravljenja izbranih bolnikov z BCC leta 2018 vključena v slovenska priporočila za obravnavo bolnikov z BCC, ki so bila leta 2019 objavljena tudi v reviji Onkologija (5). Vključitev je sledila širšemu evropskemu razvoju, saj je britanski NICE že leta 2014 objavil priporočila za uporabo EKT pri primarnem BCC. Tudi aktualne evropske interdisciplinarne smernice za BCC navajajo EKT kot možnost pri izbranih bolnikih, kadar kirurgija ali radioterapija nista primerni oziroma izvedljivi (6). EKT tako ni zdravljenje prvega izbora za večino BCC, temveč pomembna lokalna alternativa predvsem pri tumorjih na lokacijah, kjer jih težje zdravimo, pri ponavljajočih se ali lokalno napredovalih tumorjih.

EKT je postala del vsakdanje klinične prakse, vendar smo bolnike še vedno spremljali, tudi v okviru mednarodne mreža za izmenjavo izkušenj in klinične prakse na področju elektrokemoterapije InspECT (International Network for Sharing Practices on Electrochemotherapy).

V raziskavi Jamšek in sod. smo primerjali dolgoročni odgovor na EKT pri 28 bolnikih, starejših od 65 let, z 52 nemelanomskimi kožnimi tumorji glave in vratu, ki so prejeli bodisi zmanjšani odmerek bleomicina 10 000 IU/m², bodisi standardni odmerek 15 000 IU/m². Med skupinama nismo ugotovili statistično značilne razlike v lokalnem nadzoru tumorjev, čeprav je bilo pri daljšem spremljanju v skupini z zmanjšanim odmerkom zaznati več ponovitev (39,0 % pri mediani spremljanja 28 mesecev) kot pri standardnem odmerku (15,4 % pri mediani 40 mesecev) (7).

Te ugotovitve smo dodatno ocenili v obsežnejši retrospektivni analizi Grošelj in sod. iz leta 2025. Analiza je zajela 116 bolnikov, starejših od 65 let, in 257 histološko potrjenih BCC, od katerih je bilo 175 zdravljenih z zmanjšanim in 82 s standardnim odmerkom bleomicina. Dolgoročni rezultati, z obdobjem spremljanja do 8,8 let, so pokazali primerljivo stopnjo ponovitve med skupinama predvsem v prvem letu po EKT, medtem ko so se pri zmanjšanem odmerku ponovitve kasneje pojavljale nekoliko pogosteje. Preživetje brez ponovitve bolezni je bilo zato mejno boljše pri standardnem odmerku ($p = 0{,}041$). Pomembno pa je, da je bila ob ponovitvi po zmanjšanem odmerku ponovna EKT s standardnim odmerkom bleomicina zelo učinkovita. Rezultati tako podpirajo individualizacijo odmerjanja: zmanjšani odmerek 10.000 IU/m² predstavlja utemeljeno možnost pri starejših in bolj krhkih bolnikih oziroma bolnikih s krajšo pričakovano življenjsko dobo, medtem ko je pri bolnikih s pričakovano daljšo življenjsko dobo zaradi boljšega dolgoročnega nadzora smiselnejša uporaba standardnega odmerka (8). Naši rezultati so skladni z nedavno objavljenimi dolgoročnimi podatki baze Insp-ECT, ki potrjujejo učinkovitost in trajnost odgovora BCC na zdravljenje z EKT (9).

Pomen dokazov iz realnega sveta

Razvoj EKT bazalnoceličnega karcinoma v Sloveniji je odličen primer postopnega prenosa raziskovalnih in farmakoloških spoznanj v vsakodnevno klinično prakso. Farmakokinetične raziskave so dokazale starostno pogojene razlike v izločanju bleomicina, sledile so raziskave zmanjšanega odmerka, nato pa analiza dolgoročnih rezultatov večje skupine bolnikov.

Takšni podatki so posebej pomembni pri starejših bolnikih, ki zaradi starosti, pridruženih bolezni ali funkcionalnega stanja pogosto niso popolnoma primerljivi s populacijami, vključenimi v klasične randomizirane klinične raziskave. Pri teh bolnikih cilj zdravljenja ni nujno samo maksimalna dolgoročna lokalna kontrola, temveč je treba upoštevati tudi breme zdravljenja, tveganje zapletov, kakovost življenja in pričakovano življenjsko dobo.

Rezultati kažejo, da zmanjšani odmerek bleomicina ni univerzalna zamenjava za standardni odmerek. Nasprotno, predstavlja možnost individualizacije zdravljenja. Pri bolniku z daljšo pričakovano življenjsko dobo je zaradi tveganja poznih ponovitev smiselna uporaba standardnega odmerka, če zanj ni kontraindikacij. Pri zelo starem ali bolniku z več pridruženimi boleznimi pa lahko zmanjšani odmerek predstavlja ustrezno ravnovesje med učinkovitostjo in intenzivnostjo zdravljenja.

Slovenske izkušnje tako kažejo, kako dokazi iz realnega sveta dopolnjujejo rezultate kliničnih raziskav ter omogočijo prilagajanje EKT starosti, pridruženim boleznim in pričakovani življenjski dobi posameznega bolnika.

Literatura

1. Grošelj A, et al. Bleomycin pharmacokinetics of bolus bleomycin dose in elderly cancer patients treated with electrochemotherapy. Cancer Chemotherapy and Pharmacology. 2016;77(5):939–947. doi:10.1007/s00280-016-3004-z
2. Plesnik H, et al. An effective validation of analytical method for determination of a polar complexing agent: the illustrative case of cytotoxic bleomycin. Anal Bioanal Chem. 2023;415:2737–2748. doi:10.1007/s00216-023-04675-x
3. Grošelj A, et al. Efficiency of electrochemotherapy with reduced bleomycin dose in the treatment

of nonmelanoma head and neck skin cancer: preliminary results. Head & Neck. 2018;40(1):120–125. doi:10.1002/hed.24991
4. Grošelj A, M et al. Bleomycin concentration in patients' plasma and tumors after electrochemotherapy: a study from InspECT Group. Pharmaceutics. 2021;13(9):1324.
5. Ahčan U, et al. Priporočila za obravnavo bolnikov z bazalnoceličnim karcinomom. Onkologija. 2019;23(1):74–94.
6. Peris K, et al. European consensus-based interdisciplinary guideline for diagnosis and treatment of basal cell carcinoma—update 2023. European Journal of Cancer, 2023; 192.
7. Jamšek Č, et al. Long term response of electrochemotherapy with reduced dose of bleomycin in elderly patients with head and neck non-melanoma skin cancer. Radiology and Oncology. 2020;54(1):79–85. doi:10.2478/raon-2020-0009
8. Grošelj A, et al. Long-term outcomes of reduced-dose bleomycin in electrochemotherapy for basal cell carcinoma in elderly patients. Scientific Reports. 2025;15:13688. doi:10.1038/s41598-025-93104-3
9. Groselj A, et al. Electrochemotherapy for basal cell carcinoma in the head and neck region: 5-year follow-up from the Insp-ECT registry. Radiol Oncol. 2025 Jun 21;59(2):233-243.

DOKAZI IZ REALNEGA SVETA: RAK REKTUMA

Manuel Ramanović, Vaneja Velenik

Onkološki inštitut Ljubljana, Sektor radioterapije, Ljubljana, Slovenija

E-mail: vvelenik@onko-i.si

Izvleček

Totalna neoadjuvantna terapija (TNT) predstavlja ključni koncept zdravljenja lokalno napredovalega raka rektuma, ki celotno zdravljenje premika v predoperativno obdobje. Namen prispevka je primerjava nedavno objavljenih rezultatov dveh raziskav na podlagi podatkov iz realnega sveta: velike mednarodne multicentrične študije in slovenske kohorte bolnikov z Onkološkega inštituta Ljubljana, z namenom ugotoviti reproducibilnost mednarodnih rezultatov v slovenski klinični praksi.

Analizirani so bili podatki dveh "real-world" raziskav. Mednarodna študija (International Real-World TNT Study Consortium, 2025) je vključevala 1.585 bolnikov iz 61 centrov v 21 državah, zdravljenih med letoma 2012 in 2023. Slovenska raziskava (Ramanović in sod., 2026) je obravnavala zaporedno kohorto 205 bolnikov, zdravljenih med letoma 2016 in 2023 po enotnem institucionalnem "sandwich" TNT-protokolu (indukcijska kemoterapija -> hipofrakcionirana IMRT-SIB kemoradioterapija -> konsolidacijska kemoterapija).

Srednja starost bolnikov je bila v obeh skupinah 61 let. Mednarodna kohorta je pokazala visoko heterogenost protokolov TNT (33,4 % RAPIDO-like, 17,7 % PRODIGE 23-like). Delež popolnih odgovorov (kliničnih in patoloških skupaj) je v mednarodni kohorti znašal 23,2 %, v slovenski pa 29,5 % (pCR 19,3 %; cCR 10,2 %). Skoraj popolni patološki odgovor smo beležili pri 37,6 % bolnikov. Delež radikalnih (R0) resekcij je bil 94,5 %, 5-letno skupno preživetje (OS) 81,1 % in preživetje brez ponovitve bolezni (DFS) 75,2 %. V program sledenja ("Watch&Wait") je vstopilo 12,1 % mednarodnih in približno 10 % slovenskih bolnikov s popolnim kliničnim odgovorom na zdravljenje. Ponovna lokalna rast v slovenski W&W skupini je znašala 33,3 % ob srednjem času sledenja petih let (5-letno TME-free preživetje 73,1 %), pri čemer je bila pri reševalni kirurgiji dosežena 100 % stopnja R0-resekcij.

Slovenski rezultati zdravljenja z enotnim "sandwich" TNT-protokolom so povsem skladni z mednarodno real-world izkušnjo. Raziskavi sta komplementarni in potrjujeta, da je mogoče koncept TNT uspešno in standardizirano implementirati v slovenskem terciarnem onkološkem okolju ter zagotoviti njegovo kakovostno izvedbo.

UVOD

Totalna neoadjuvantna terapija (TNT) je v zadnjih letih postala eden ključnih konceptov zdravljenja lokalno napredovalega raka rektuma. Randomizirane raziskave, kot so PRODIGE 23, RAPIDO in OPRA (1-3), so pokazale, da je mogoče celotno zdravljenje prestaviti v predoperativno obdobje ter s tem izboljšati izvajanje sistemskega zdravljenja in pri delu bolnikov povečati verjetnost popolnega odgovora.

Toda klinične raziskave ne povedo vsega. Bolniki, ki jih srečujemo v vsakodnevni klinični praksi, so starejši, bolj heterogeni, imajo več pridruženih bolezni in niso vedno zdravljeni po enem samem standardiziranem protokolu. Prav tako se med centri razlikujejo izbira in intenzivnost kemoterapije, zaporedje zdravljenja, radioterapevtske tehnike in kriteriji za vključitev v program sledenja brez kirurškega posega (W&W). Zato so podatki iz realnega sveta (real-world data, RWD) pomembno dopolnilo randomiziranim raziskavam (1-3).

Izpostaviti velja nedavno objavljene rezultate dveh študij. Prva je največja mednarodna real-world analiza TNT pri lokalno napredovalem raku rektuma, objavljena v JAMA Oncology leta 2025

in izvedena v okviru International Real-World TNT Study Consortium pod vodstvom Francesca Sclafanija (4). Vključevala je 1.585 bolnikov iz 61 centrov v 21 državah. Druga je slovenska raziskava Ramanovića in sod., objavljena leta 2026 v Cancers, ki je analizirala 205 zaporednih bolnikov, zdravljenih po enotnem sandwich TNT-protokolu na Onkološkem inštitutu Ljubljana (5). Primerjava obeh raziskav omogoča zanimiv vpogled v vprašanje: ali je mogoče rezultate TNT iz različnih zdravstvenih okolij reproducirati tudi v slovensko klinično prakso?

METODE

V pričujoči analizi sta primerjani dve real-world raziskavi, ki ponujata dve različni, a dopolnjujoči se perspektivi na implementacijo TNT.

Mednarodna raziskava Audisio et al. oziroma International Real-World TNT Study Consortium (4) je retrospektivno zajela 1.585 bolnikov, zdravljenih v 61 centrih 21 držav, med letoma 2012 in 2023. Ta kohorta primarno prikazuje heterogenost real-world zdravljenja na globalni ravni, kjer se znotraj vsakodnevne prakse prepleta več različnih terapevtskih pristopov.

Slovenska raziskava Ramanovića in sod. (5) je vključevala 205 zaporedno zdravljenih bolnikov na Onkološkem inštitutu Ljubljana med letoma 2016 in 2023. V nasprotju z mednarodno kohorto slovenska raziskava prikazuje, kaj je mogoče doseči z relativno homogenim in standardiziranim pristopom v enem samem terciarnem onkološkem centru. Vsi bolniki v slovenski kohorti so bili namreč zdravljeni po strogo določenem institucionalnem sandwich TNT-protokolu:

- indukcijska kemoterapija
- hipofrakcionirana IMRT-SIB kemoradioterapija
- konsolidacijska kemoterapija.

To pomeni, da lahko slovenska raziskava precej bolj neposredno ocenjuje učinek in izvedljivost konkretnega terapevtskega zaporedja. Prav zato se raziskavi ne izključujeta, ampak se dopolnjujeta.

REZULTATI

Primerjava terapevtskih protokolov in značilnosti kohort

V mednarodni kohorti TNT ni pomenil enega samega zdravljenja, saj so bili bolniki zdravljeni z različnimi strategijami, ki so posnemale uveljavljene klinične študije (4): PRODIGE 23-like (17,7 %); RAPIDO-like (33,4 %); OPRA induction-like (12,0 %); OPRA consolidation-like (16,2 %) ter drugi režimi (22,7 %). Mednarodna kohorta zato zelo dobro odraža dejansko stanje v sodobni onkologiji: TNT je postal standardni koncept, vendar ni enoten protokol. Nasproti temu stoji slovenska kohorta, ki je bila popolnoma homogena, saj so vsi bolniki prejeli omenjeni sandwich TNT protokol (5).

Glede demografskih in prognostičnih značilnosti je zanimivo, da je bila mediana starosti v obeh kohortah praktično enaka, in sicer 61 let (4,5). Vendar je mednarodna raziskava omogočila precej širši vpogled v heterogenost bolnikov, kjer je le 79,5 % bolnikov imelo vsaj eno značilnost visokega tveganja za ponovitev bolezni, kot so cT4, cN2, EMVI (ekstramuralna vaskularna invazija), ogrožena ali prizadeta mezorektalna fascija (MRF) oziroma lateropelvična limfadenopatija (4), v slovensko pa so bili vključeni taki bolniki (5).

Primerjava ključnih parametrov med mednarodno in slovensko real-world raziskavo je sistematično prikazana v spodnji tabeli (Tabela 1).

Tabela 1: Klinični parametri in primerjava izidov zdravljenja med mednarodno in slovensko kohorto bolnikov

Parameter	Mednarodna kohorta (4)	Slovenska kohorta (5)
Število bolnikov (n)	1.585 bolnikov	205 bolnikov
Mediana starosti	61 let	61 let
Zasnova protokola	Heterogena (33,4 % RAPIDO-like, 17,7 % PRODIGE-like, 28,2 % OPRA-like, 22,7% drugo)	Homogena (100 % institucionalni "sandwich" protokol)
Celotni popolni odgovor (cCR + pCR)	23,2 %	29,5 % (pCR: 19,3 %; cCR: 10,2 %)
Izrazit patološki odgovor	Ni natančno navedeno	37,6 %
Stopnja radikalnih R0-resekcij	Ni natančno opredeljeno, variira glede na center	94,5 %
Vključitev v program W&W	12,1 % (192 bolnikov)	10,2 % (21 bolnikov)
Lokalna ponovna rast (W&W)	Ni natančno opredeljeno, kratko spremljanje	33,3 % (ob srednjem času spremljanja ~5 let)
Uspešnost reševalne kirurgije	Ni konsolidirano	100 % R0-resekcija ob ponovni rasti
Dolgoročni izidi (5-letni)	Ni doseženo za celotno kohorto	OS: 81,1 %; DFS: 75,2 %; TME-free: 73,1 %

Stopnje tumorskega odgovora in kirurški izid

V mednarodni real-world kohorti je bil patološki ali klinični popolni odgovor dosežen pri 23,2 % bolnikov (4). V slovenski kohorti je bil celotni popolni odgovor višji in je znašal 29,5 %, pri čemer je bil patološki popolni odgovor (pCR) dosežen pri 19,3 %, klinični popolni odgovor (cCR) pa pri 10,2 % bolnikov (5). Skoraj popolni patološki smo beležili pri 37,6 % bolnikov. Na prvi pogled se zdi, da je slovenska kohorta dosegla boljši odgovor. Vendar bi bila neposredna primerjava preveč poenostavljena. Mednarodna kohorta je precej bolj heterogena, saj vključuje različne TNT-režime, različne centre in različne prakse ocenjevanja odgovora, medtem ko je bila slovenska kohorta zdravljena po enotnem institucionalnem protokolu. Zato je bolj pravilna interpretacija, da so slovenski rezultati skladni z mednarodno real-world izkušnjo in kažejo, da lahko tudi standardiziran sandwich TNT doseže visoko stopnjo popolnega odgovora.

Kirurški in dolgoročni rezultati znotraj slovenske izkušnje kažejo, da lahko enoten model zdravljenja doseže visoko stopnjo uspešnosti: stopnja radikalnih R0-resekcij je znašala 94,5 %, 5-letno skupno preživetje (OS) je bilo 81,1 %, 5-letno preživetje brez ponovitve bolezni (DFS) pa 75,2 % (5).

Strategija Watch & Wait

V mednarodni kohorti je po TNT 192 bolnikov (12,1 %) vstopilo v program W&W, dodatnih 30 bolnikov pa je bilo zdravljenih z lokalno ekscizijo (4). V slovenski kohorti je bilo v program W&W vključenih 21 bolnikov, kar predstavlja približno desetino celotne kohorte (5). V slovenski skupini je bila lokalna ponovna rast ugotovljena pri 33,3 % ob srednjem času spremljanja skoraj petih let. Petletno preživetje brez TME (totalne mezorektalne ekscizije) je bilo 73,1 %.

RAZPRAVA

Kaj nam mednarodni in slovenski podatki skupaj povedo o konceptu TNT in strategiji W&W? Obe raziskavi močno podpirata koncept, da lahko pomemben del bolnikov po intenzivnem neoadjuvantnem zdravljenju doseže odgovor, ki omogoča opustitev takojšnje kirurške TME (4,5). Vendar pa real-world podatki hkrati poudarjajo tri ključna dejstva: (i) program W&W je namenjen izključno skrbno izbranim bolnikom, (ii) klinični popolni odgovor (cCR) ne pomeni nujno trajnega nadzora bolezni, in (iii) možnost pravočasne reševalne kirurgije je sestavni in obvezni del celotne strategije.

Slovenska raziskava ima pri tem posebeno težo, saj je imela relativno dolgo spremljanje W&W skupine. Potrdila je lokalno ponovno rast pri približno tretjini bolnikov (5). Pomemben podatek slovenske kohorte je, da je bila pri vseh bolnikih, pri katerih je bila kasneje potrebna operacija zaradi ponovne rasti, dosežena radikalna R0-resekcija.

Če mednarodna raziskava odgovarja na vprašanje, kako se TNT uporablja po svetu, slovenska raziskava odgovarja na vprašanje, kaj lahko dosežemo z dobro opredeljenim TNT-protokolom v realni klinični praksi. V tem tiči bistvena razlika in moč obeh študij. Mednarodna raziskava črpa svojo moč iz velikega števila bolnikov, vključenosti 61 centrov iz 21 držav, ter izrazite raznolikosti terapevtskih strategij (4). Slovenska raziskava pa ima moč v enotnem protokolu, zaporedni kohorti, dolgem spremljanju, podrobnih MRI in patoloških podatkih ter natančni analizi W&W skupine (5). Zato slovenska raziskava ni samo »manjša različica« mednarodne analize, temveč je njena izrazito komplementarna raziskava.

Največja skupna vrednost obeh raziskav je morda v tem, da skupaj pokažeta dve strani istega vprašanja. Mednarodni RWD dokazujejo, da je koncept TNT v realnem svetu globalno izvedljiv, a heterogen ter povezan z različnimi stopnjami odgovora in adherence bolnikov (4). Slovenski RWD pa dokazujejo, da je mogoče znotraj enega zdravstvenega sistema uspešno standardizirati enoten TNT-protokol, doseči visok delež tumorskega odgovora, visoko stopnjo R0-resekcij, zagotoviti dolgoročno spremljanje bolnikov ter varno izvajati program W&W z možnostjo uspešnega reševalnega zdravljenja (5). To je izjemno pomembno tudi z vidika organizacije zdravstvenega sistema: ni namreč dovolj, da je določen protokol v teoriji ali v kliničnih študijah učinkovit – sistem mora biti v realnem svetu sposoben zagotoviti njegovo ponovljivo in kakovostno izvedbo.

ZAKLJUČEK

Slovenski rezultati niso v nasprotju z mednarodno real-world izkušnjo, temveč nasprotno – jasno kažejo, da je mogoče koncept TNT uspešno implementirati in reproducirati v slovenskem terciarnem onkološkem okolju. Uporaba standardiziranega sandwich protokola prinaša stabilne rezultate, primerljive z mednarodnimi centri, ter omogoča varno izvedbo sodobnih pristopov, vključno z ohranitvijo organa pri izbranih bolnikih.

Literatura

1. Conroy T, et al. Total neoadjuvant therapy with mFOLFIRINOX versus preoperative chemoradiotherapy in locally advanced rectal cancer (PRODIGE 23): a phase 3, randomised, open-label, multicentre trial. Lancet Oncol. 2021;22(5):702-715.
2. Bahadoer RR, et al. Short-course radiotherapy followed by chemotherapy before total mesorectal excision (TME) versus preoperative chemoradiotherapy, TME, and optional adjuvant chemotherapy in locally advanced rectal cancer (RAPIDO): a randomised, open-label, phase 3 trial. Lancet Oncol. 2021;22(1):29-42.
3. Garcia-Aguilar J, et al. Organ Preservation in Patients With Rectal Adenocarcinoma Treated With Total Neoadjuvant Therapy (OPRA): From a Multicenter, Randomized, Phase II Trial. J Clin Oncol. 2022;40(23):2546-2556.
4. Audisio H, et al. International Real-World TNT Study Consortium. International real-world analysis of total neoadjuvant therapy in locally advanced rectal cancer. JAMA Oncol. 2025;11(2):e240123.
5. Ramanović M, et al. Real-world outcomes of a standardized sandwich total neoadjuvant therapy protocol for locally advanced rectal cancer: a consecutive cohort analysis from a tertiary oncology center. Cancers. 2026;18(3):587.

ZAMUJENI AMBULANTNI PREGLEDI PRI ONKOLOŠKIH BOLNIKIH , ZDRAVLJENIH Z OBSEVANJEM: RAZISKAVA POJAVNOSTI, VZROKOV IN PREDLOGOV ZA IZBOLJŠANJE

Helena Barbara Zobec Logar, Peter Kus

Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za brahiradioterapijo, Ljubljana, Slovenija

Elektronski naslov: HLogar@onko-i.si

Izvleček

8

Predstavljena raziskava preučuje pogostost in vzroke za izpuščene ambulantne preglede pri bolnikih, zdravljenih z obsevanjem na Onkološkem inštitutu Ljubljana zaradi ginekološko-uroloških malignomov ali raka dojk. V analiziranem 13-mesečnem obdobju, od oktobra 2022 do oktobra 2023, je bilo od 16.315 načrtovanih terminov izpuščenih 1.210, kar predstavlja 7,4 % vseh obiskov. Na ravni posameznega bolnika je 15,6 % bolnikov izpustilo vsaj en načrtovani termin. Pri več kot 80 % izostankov razlog odsotnosti ni bil dokumentiran ali pa je bil sporočen prepozno, da bi bilo mogoče termin ponovno razporediti, kar kaže na težave v komunikaciji ter na neustrezne možnosti naročanja in prestavljanja terminov. Kljub univerzalni dostopnosti zdravstvenega varstva v Sloveniji so izostanki pogosti, pri analiziranih značilnostih pa ni bilo ugotovljenih statistično značilnih demografskih napovednih dejavnikov. Ocenjena finančna izguba za zdravstveno ustanovo presega 131.000 EUR, pri čemer je celotni finančni učinek verjetno podcenjen, saj ocena predstavlja le del vseh stroškov, ki nastanejo zaradi izpuščenih terminov. Tuje raziskave kažejo povezavo med neudeležbo in slabšimi zdravstvenimi izidi ter možnost zmanjšanja izostankov z usmerjenimi ukrepi, kot so avtomatizirani opomniki in prilagodljivo naročanje. Ugotovitve poudarjajo potrebo po sistemskih ukrepih za izboljšanje udeležbe in učinkovitejšo uporabo razpoložljivih zdravstvenih virov.

UVOD

V javnem zdravstvenem sistemu, ki si prizadeva za enakost in dostopnost, izpuščeni zdravstveni termini niso zgolj izolirani dogodki, temveč predstavljajo sistemski izziv. V Sloveniji, kjer je več kot 99 % prebivalstva vključenega v sistem obveznega zdravstvenega zavarovanja, je pravočasen dostop do specializiranih zdravstvenih storitev, kot je radioterapija, bistvenega pomena, zlasti pri bolnikih z malignimi boleznimi, katerih zdravljenje v celoti krije Zavod za zdravstveno zavarovanje Slovenije (ZZZS). Kljub temu pa se pomemben delež bolnikov ne udeleži načrtovanih pregledov, tako začetnih (prvih) kot tudi kontrolnih pregledov v okviru nadaljnjega spremljanja.

Neudeležba lahko povzroča zamude pri diagnostiki, zdravljenju in spremljanju ter zmanjšuje učinkovitost uporabe zdravstvenih virov. Izpuščeni termini lahko vplivajo tudi na organizacijo obravnave drugih bolnikov, saj jih zaradi pozne odpovedi pogosto ni mogoče zapolniti, kar vpliva na podaljševanje čakalnih vrst.

Čeprav slovenski sistem zagotavlja široko zdravstveno pokritost in varuje ranljive skupine s celotnim financiranjem onkološke oskrbe, trenutno nima ustreznih mehanizmov odgovornosti ali odvračilnih ukrepov za preprečevanje izpuščenih terminov ambulantnih pregledov. Takšna odsotnost odgovornosti odpira pomembna vprašanja o tem, kako uravnotežiti univerzalni dostop z osebno odgovornostjo pri uporabi zdravstvenih storitev. Ta prispevek analizira vzroke za izpuščanje terminov, opozarja na posledice neudeležbe v radioterapiji ter nakazuje možne strategije za obravnavo tega problema.

MATERIALI IN METODE

Usmerjena analiza je bila izvedena pri bolnikih, ki so imeli med 1. oktobrom 2022 in 31. oktobrom 2023 načrtovanega enega ali več ambulantnih pregledov v ambulantah ginekološko-uroloških in mamarnega tima Sektorja za radioterapijo na Onkološkem inštitutu Ljubljana (OI LJ).

Bolnikom smo naknadno poslali anketni vprašalnik za razjasnitev okoliščin in vzrokov njihove odsotnosti ter jih povprašali po predlogih za izboljšanje komuniciranja.

Statistična analiza je bila izvedena z uporabo programov Microsoft Excel in IBM SPSS Statistics, različica 28.0.1.0 (142). Normalnost porazdelitve spremenljivk je bila ocenjena s testoma Kolmogorov Smirnov in Shapiro Wilkinson. Ker večina spremenljivk ni sledila normalni porazdelitvi, je bil za primerjavo median uporabljen neparametrični Kruskal Wallisov test. Izračunana je bila tudi opisna statistika, vključno s frekvencami, povprečji in standardnimi odkloni. Razlike so bile obravnavane kot statistično značilne pri $p \leq 0,05$.

REZULTATI

Povprečna starost bolnikov je bila 67,5 ± 12,7 leta. Med njimi je bilo 491 moških (40,6 %) s povprečno starostjo 73,1 ± 7,6 leta in 719 žensk (59,4 %) s povprečno starostjo 63,7 ± 14,0 leta. Najpogostejši diagnozi sta bili rak dojke pri 532 bolnicah oziroma bolnikih (44,0 %; povprečna starost 63,4 ± 14,0 leta) in rak prostate pri 489 bolnikih (40,7 %; povprečna starost 73,1 ± 7,9 leta), pri preostalih bolnikih so bili diagnosticirani ginekološki raki – med njimi je bil najpogostejši rak endometrija (5,8 %) s povprečno starostjo (68,3 ± 8.0 leta).(Tabela 1).

Od 16.315 načrtovanih terminov je bilo izpuščenih 1.210, kar predstavlja 7,4 % vseh načrtovanih obiskov. Na ravni posameznega bolnika je 15,6 % bolnikov izpustilo vsaj en načrtovani termin. Večina izpuščenih terminov (82,9 %) je predstavljala kontrolne preglede, medtem ko je bilo 17,1 % začetnih (prvih) pregledov. Najpogosteje zabeležen razlog za izostanek je bil »neznan«, zaradi česar termina ni bilo mogoče ponovno razporediti ali uporabiti za drugega bolnika. Podrobne značilnosti preučevane skupine so prikazane v Tabeli 1.

Do 10. novembra 2023 je bilo znano, da je 67 naročenih bolnikov umrlo, kar predstavlja 5,5 % analizirane populacije. Glede na čas smrti in število načrtovanih terminov predstavlja smrt pomemben, vendar ne glavni razlog za izostanke. Med starostjo, regijo, spolom ali vrsto obiska in pojavnostjo izpuščenih terminov ni bilo ugotovljene statistično značilne povezave. Tudi mesečna porazdelitev ni pokazala jasnega obdobnega vzorca. Izpuščeni termini so se dogajali vse leto, največ jih je bilo avgusta in najmanj julija (Slika 1).

Rezultati ankete

Med 35 izpolnjenimi vprašalniki je bil najpogostejši razlog za odsotnost pozabljen termin pregleda (40,0 %), sledile so osebne oz. družinske obveznosti (20,0 %) in zdravstvene težave (17,1 %). Manj pogosto so bile navedene tudi težave s transportom, hospitalizacije v drugih ustanovah in primeri, ko bolniki kontrolnega termina naj ne bi prejeli.

Večina anketirancev (62,9 %) o odsotnosti ni obvestila ambulante. Med razloge so navedli nepoznavanje načina vzpostavitve stika, prepričanje, da obvestilo ni potrebno ter težave pri dostopnosti do ambulante. Najpogosteje predlagan način izboljšanja obveščanja je bil SMS-opomnik (57,1 %), sledila sta obvestilo po pošti (48,6 %) in telefonski klic (22,9 %). Rezultati kažejo, da bi lahko večkanalno obveščanje, zlasti SMS-opomniki, kot je to ustaljena praksa v drugih ustanovah, ugodno zmanjšali stopnjo neudeležbe.

Tabela 1. Podrobne značilnosti preučevane populacije

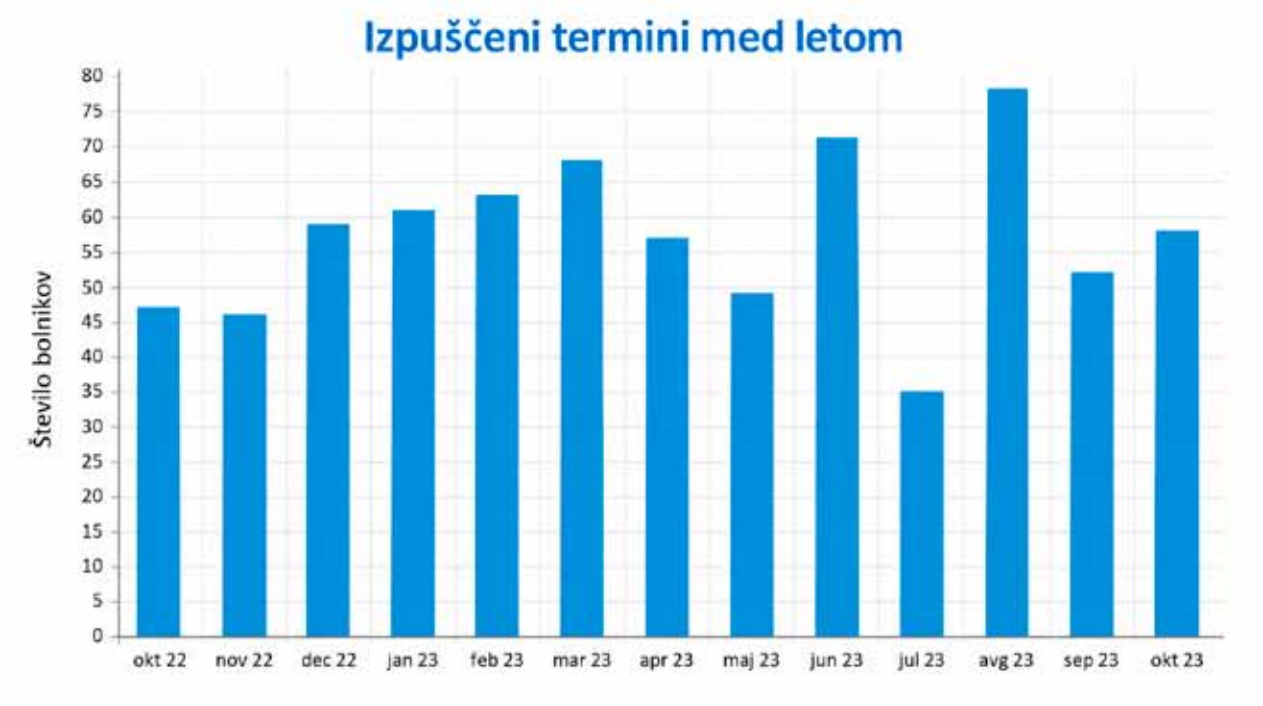
	N	%
Spol		
Moški	491	40,6
Ženske	719	59,4
Vrsta raka		
Rak prostate	489	40,4
Rak dojke	532	44,0
Drugo	189	15,6
Regija		
Osrednja Slovenija	515	42,6
Štajerska s Prekmurjem in Koroško	285	23,6
Gorenjska	115	9,5
Primorska	164	13,6
Dolenjska	117	9,7
Tujina	14	1,2
Vrsta obiska		
Prvi pregled	207	17,1
Kontrolni pregled	1003	82,9
Razlogi za odpoved termina		
Bolezen	55	4,5
Hospitalizacija v drugi bolnišnici	53	4,4
Dvojni termin / napačno naročilo/ konflikt pri razporejanju	228	18,8
Neznan razlog / pozna odpoved*	874	72,2

*Pozna odpoved pomeni vsako odpoved, ki je bila opravljena manj kot en teden pred načrtovanim terminom

Finančni vpliv

Zdravstvene storitve v javnem sistemu se obračunavajo po cenikih ZZZS. Če načrtovani pregled ni izveden, ga ni mogoče obračunati, poleg tega pa nastane oportunitetni strošek, ker termina pogosto ni mogoče dodeliti drugemu bolniku. Med analiziranimi izostanki je bilo 207 oziroma 17,1 % začetnih (prvih) pregledov, ki se glede na cenik ZZZS, vrednotijo s povprečno vrednostjo 173,50 EUR, medtem ko je bilo 1003 oziroma 82,9 % kontrolnih pregledov s povprečno vrednostjo 99,75 EUR. Skupna izguba prihodka v opazovanem obdobju, brez dodatnih storitev, ki se obračunavajo ločeno, kot so dodatne radiološke preiskave, laboratorijske preiskave in podobno, znaša najmanj 131.000 EUR. Ta ocena je konzervativna in je verjetno bistveno podcenjena zaradi vrednosti dodatnih storitev, ki zaradi izostankov niso bile izvedene.

Pomembno je poudariti, da naveden izpad prihodka predstavlja le del izgube Sektorja za radioterapijo, ki ga sestavlja 6 timov, in je zato le manjši delež celotne izgube prihodka zaradi izpuščenih terminov za zdravstveno ustanovo in širši zdravstveni sistem.



Slika 1. Porazdelitev izpuščenih terminov med letom

Napovedni dejavniki

Glede na tujo literaturo (1) sta največja dejavnika tveganja za izpustitev načrtovanega termina časovni razpon med naročilom zdravstvene storitve in izvedenim terminom ter že predhodno izpuščanje terminov pri posameznem bolniku. Med razlogi za izpustitev terminov (2) so najpogostejši: pozabljen termin (36 %), sledijo poklicne obveznosti, (17 %), pomanjkanje opomnikov, težave s prevozom, težave z zavarovanjem ter drugi razlogi, kot so bolezen in družinske ter druge nujne okoliščine.

Raziskava Knolhoff in sodelavci, ki so jo izvedli med 1. januarjem 2009 in 16. januarjem 2012 v ambulanti za bolezni dojk v ZDA, je pokazala, da je imelo 1.624 bolnikov skupno 21.648 načrtovanih terminov, od katerih je bilo 3.633 oziroma 16,8 % izpuščenih (3). V njihovi raziskavi status zavarovanja, dohodek, izobrazba in primarni jezik niso bili pomembni napovedni dejavniki izpuščenih terminov. Aktivni kadilci so izpustili več terminov kot nekadilci, 18,5 % v primerjavi s 16,1 %. Bolniki, ki so opravili presejalno mamografijo, so redkeje izpustili kontrolne termine. Drugi dejavniki tveganja za neudeležbo, ki so jih ugotovili raziskovalci, so: bolniki z nižjim socialno-ekonomskim statusom, bolniki z neurejenim zdravstvenim zavarovanjem, bolniki, ki živijo daleč od bolnišnice ter bolniki z različnimi psihiatričnimi motnjami ali odvisnostmi od psihoaktivnih snovi (3).

Na podlagi analiziranih podatkov naše raziskave je razlog za veliko večino izpuščenih terminov neznan oziroma je bil termin odpovedan prepozno, da bi ga bilo možno pravočasno uporabiti za drugega bolnika. To dejstvo ponovno kaže na sistemske težave ter neučinkovitost komunikacije in sodelovanja z bolniki. Kljub analizi različnih demografskih značilnosti bolnikov, vključno s starostjo, spolom, regijo, vrsto obiska in datumom, v naši raziskavi niso bili ugotovljeni statistično značilni napovedni dejavniki izpuščenih terminov. Tudi časovna (sezonska) porazdelitev izpuščenih terminov ne sledi jasnemu vzorcu. To kaže, da so lahko izpuščeni termini bolj povezani z drugimi sistemskimi dejavniki kot pa s posameznimi značilnostmi bolnikov. Večina bolnikov je bila moškega spola in starejših od

70 let, vendar pa so ti rezultati glede na izbor populacije pričakovani, zato samo ta dejavnika ne pojasnjujeta visoke stopnje neudeležbe.

Ukrepi za zmanjšanje izpuščenih terminov

Izpuščeni termini v ambulantni radioterapiji, ki so bili v tej raziskavi opaženi pri 15,6 % bolnikov, predstavljajo pomemben izziv tako za klinično učinkovitost kot za izide zdravljenja. Na podlagi ugotovitev je mogoče razviti ukrepe, s katerimi bi sistematično zmanjšali pojavnost odsotnosti. Čeprav veljavna pravila bolnikom omogočajo precejšnjo prilagodljivost pri prestavljanju terminov, visoka stopnja neudeležbe poudarja potrebo po bolj proaktivnih in strukturiranih ukrepih.

Po vzoru iz drugih ustanov in na podlagi povratnih informacij bolnikov so predlagani naslednji ukrepi za zmanjšanje števila neznanih ali poznih odpovedi:

- avtomatizirani opomniki, na primer sporočila SMS ali telefonski klici,
- dostopnejši postopki za prestavljanje terminov (spletna možnost izbora ustreznega termina, ki je še na voljo),
- boljše ozaveščanje bolnikov o pravilih (pravicah in dolžnostih) v primeru odsotnosti.

ZAKLJUČEK

Izpuščeni zdravstveni termini predstavljajo sistemski problem v zdravstvu, ki negativno vpliva na učinkovitost in uporabo virov zdravstvenih izvajalcev in posredno vpliva na podaljševanje čakalnih vrst, kar povzroča pomembno izgubo prihodka zdravstvene ustanove. Hkrati je neudeležba povezana s slabšimi zdravstvenimi izidi in manj uspešnim obvladovanjem rakavih in ostalih kroničnih bolezni pri bolnikih, ki redno izpuščajo načrtovane termine.

Za izboljšanje udeležbe so predlagani konkretni ukrepi, vključno z avtomatiziranimi opomniki, bolj prilagodljivimi možnostmi naročanja in prestavljanja terminov ter izobraževanjem bolnikov o pomenu redne udeležbe ambulantnih pregledov.

Literatura

1. Dantas LF, et al. No-shows in appointment scheduling - a systematic literature review. Health Policy. 2018 Apr;122(4):412-421. doi: 10.1016/j.healthpol.2018.02.002.
2. Alkomos MF, et al. Patients' reasons for missing scheduled clinic appointments and their solutions at a major urban-based academic medical center. J Community Hosp Intern Med Perspect. 2020 Sep 3;10(5):426-430. doi: 10.1080/20009666.2020.17969033.
3. Knolhoff JB, et al. Missed Appointments in a Breast Clinic: Patient-Related Factors. Am J Med Sci. 2016 Oct;352(4):337-342. doi: 10.1016/j.amjms.2016.07.003.

POVZETKI

VLOGA PROTEINA MAGE C2 PRI CELIČNI ADHEZIJI GLIOBLASTOMSKE CELIČNE LINIJE LN-229

Nika Banovšek[1], Metka Novak[1], Vesna Jurjevič[1], Klementina Fon Tacer[2,3], Barbara Breznik Vittori[1]

[1] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za onkološko klinično genetiko, Ljubljana, Slovenija*
[2] *Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Ljubljana, Slovenija*
[3] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za molekularno diagnostiko, Ljubljana, Slovenija*

Elektronski naslov: nika.banovsek@gmail.com

Glioblastom (GBM) je najpogostejši in najagresivnejši primarni možganski tumor pri odraslih. Zaradi svoje heterogenosti in pospešene invazije celic v centralnem živčnem sistemu je odporen na obstoječe oblike zdravljenja, kot so kirurška odstranitev, kemoterapija in radioterapija. Zaradi slabe prognoze želimo bolje razumeti napredovanje GBM in najti biološke označevalce in tarče, s katerimi bi izboljšali obravnavo bolnikov (1-2).

Zadnje raziskave kažejo, da predvsem družine genov z melanomom povezanih antigenov (angl. melanoma associated antigen, MAGE) v različnih kombinacijah zagotavljajo zaščito pred različnimi stresnimi dejavniki, potencialno tudi zaščito rakavih celic pred zdravljenjem s kemoterapijo in z obsevanjem (3-4). Namen raziskave je bil ugotoviti vpliv obsevanja in MAGE C2 na viabilnost, proliferacijo in adhezijo celic GBM ter oceniti njun vpliv na izražanje različnih adhezijskih molekul (CAM), proteinov zunajceličnega ogrodja (ECM) in citoskeleta, ki igrajo ključno vlogo pri napredovanju GBM.

Uporabili smo celični liniji GBM LN-229 s stabilnim izražanjem proteina MAGE C2 in kontrolni celični liniji brez izraženega MAGE C2. Prvi dan v tednu smo precepili celice, pri čemer je bila vsaka celična linija LN-229 gojena v dveh ločenih gojitvenih posodah. Prva gojitvena posoda je služila kot kontrola, druga posoda je bila vsak dan (od torka do petka) obsevana z 2,5 Gy (4 x 2,5 Gy, skupaj 10 Gy). Vpliv obsevanja in izražanje MAGE C2 smo ovrednotili s štetjem viabilnih celic ter kvantifikacijo adhezije celic po štiridnevnem frakcioniranem obsevanju glede na normalizacijo na neobsevano celično linijo LN-229 brez izraženega MAGE C2. S pomočjo prenosa po westernu in imunodetekcijo smo opazovali, kako obsevanje in MAGE C2 vplivata na izražanje proteinov CAM (N- in E-kadherin, α3 in β1 integrin), ECM (tenascin C in kolagen tipa I, III ter IV) in citoskeleta (vimentin). Analiza rezultatov je pokazala, da frakcionirano obsevanje zmanjša proliferacijo in povečajo adhezijo celic GBM glede na neobsevano celično linijo LN-229 brez izraženega MAGE C2. Prav tako je obsevanje v celicah vplivalo na zmanjšanje izražanja celokupnega N-kadherina in upad α1-verige glede na celokupen kolagen I in III. Izražanje MAGE C2 v celicah ni vplivalo na občutljivost celic GBM na obsevanje in na adhezijo celic, saj ni prišlo do spremenjene celične proliferacije po obsevanju ter celične adhezije v celicah z izraženim MAGE C2 v primerjavi s celicami brez MAGE C2. Celice z izraženim MAGE C2 so imele glede na celice brez izraženega MAGE C2 nižje ravni izražanja celokupnega N-kadherina in nižje razmerje cepljene in celokupne oblike ter α1-verige in celokupne oblike kolagena I in III. Statistične analize prenosa po westernu so pokazale, da obsevanje in MAGE C2 vplivata na raven izražanja N-kadherina ter kolagena I in III.

Rezultati nakazujejo, da MAGE C2 vpliva na izražanje proteinov ECM in CAM. MAGE C2 tako predstavlja potencialen dejavnik, ki lahko posredno vpliva na migracijo in invazijo celic GBM. V prihodnje bi bilo smiselno raziskati neposreden vpliv MAGE C2 na celično invazijo s testom invazije in utišanjem izražanja gena MAGEC2. Takšen pristop bi omogočil bolj poglobljeno razumevanje celičnih mehanizmov, s katerimi MAGE C2 vpliva na malignost GBM. Slednje bi omogočilo boljše ovrednotenje MAGE C2 kot terapevtske tarče.

Literatura:

1. Stoyanov GS, et al. Cell biology of glioblastoma multiforme: from basic science to diagnosis and treatment. Med Oncol. 2018 Jan 31;35(3):27.
2. Furnari FB, et al. Malignant astrocytic glioma: genetics, biology, and paths to treatment. Genes Dev. 2007 Nov 1;21(21):2683-710.
3. Fon Tacer K, et al. MAGE cancer-testis antigens protect the mammalian germline under environmental stress. Sci Adv. 2019 May 29;5(5):eaav4832.
4. Arora M, et al. Downregulation of Brain Enriched Type 2 MAGEs Is Associated With Immune Infiltration and Poor Prognosis in Glioma. Front Oncol. 2020 Dec 23;10:573378.

GENSKI ELEKTROPRENOS PLAZMIDNE DNA Z ZAPISOM ZA INTERLEVKIN-12 V MEZENHIMSKE MATIČNE CELICE ZA LOKALNO INTRATUMORSKO TERAPIJO

Tim Božič[1,2,5], Urška Kamenšek[1,2,3], Maja Čemažar[1,2,4], Urban Švajger[5,6]

[1] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za eksperimentalno onkologijo, Ljubljana, Slovenija*
[2] *Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Ljubljana, Slovenija*
[3] *Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Ljubljana, Slovenija*
[4] *Univerza na Primorskem, Fakulteta za vede o zdravju, Izola, Slovenija*
[5] *Zavod Republike Slovenije za transfuzijsko medicino, Oddelek za terapevtske storitve, Ljubljana, Slovenija*
[6] *Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Ljubljana, Slovenija*

Elektronski naslov: tim.bozic@ztm.si; tbozic@onko-i.si

p2

Mezenhimske stromalne celice (MSC) predstavljajo obetavno orodje za tarčno dostavo genov v tumorje zaradi nizke imunogenosti, ki omogoča alogeno aplikacijo, ter njihovega naravnega tropizma do tumorskega tkiva. Poleg tega so enostavne za gojenje in manipulacijo v celični kulturi, kar omogoča njihovo učinkovito pridelavo za terapevtske namene. Kljub široki uporabi virusnih vektorjev za gensko spreminjanje MSC, so varnostni pomisleki spodbudili zanimanje za nevirusne metode, med katerimi izstopa genski elektroprenos (GET).[1] Namen naše študije je bil optimizirati pogoje GET za transfekcijo MSC, preučiti njihovo biodistribucijo po aplikaciji *in vivo* ter oceniti terapevtsko učinkovitost MSC, transfeciranih z interlevkinom-12 (IL-12), na mišjem modelu melanoma.[2]

Človeške MSC smo izolirali iz popkovnic po etično odobrenih protokolih. Pogoje GET smo optimizirali z oceno učinkovitosti transfekcije in celične viabilnosti z uporabo fluorescenčnega poročevalskega gena. Biodistribucijo MSC smo analizirali po intravenski in intratumorski aplikaciji MSC, transfeciranih z luminiscentnim poročevalskim genom, na mišjih tumorskih modelih. Terapevtski potencial z IL-12-transficiranih MSC smo ovrednotili na singenem mišjem modelu melanoma B16F10.

Optimizirani GET protokol je omogočil do 80 % učinkovitost transfekcije ob 90 % ohranjeni celični viabilnosti. Študija biodistribucije je pokazala učinkovito zadrževanje MSC v tumorju po intratumorski aplikaciji, medtem ko so se po intravenski aplikaciji MSC akumulirale predvsem v pljučih. Intratumorska aplikacija z IL-12-transfeciranih MSC je pomembno zavrla rast tumorjev za pet dni v primerjavi s kontrolno skupino.

Naši rezultati potrjujejo, da optimizirani pogoji GET omogočajo visoko učinkovitost transfekcije ob ohranjeni vitalnosti MSC, kar potrjuje njihovo uporabnost kot vektorjev za gensko terapijo. Čeprav tropizma MSC do tumorskega tkiva nismo uspeli potrditi, študija poudarja potencial GET kot zanesljive nevirusne platforme za gensko modifikacijo MSC in izpostavlja terapevtsko učinkovitost z IL-12 modificiranimi MSC. Nadaljnji napredek na področju tarčne dostave in kombiniranih terapevtskih pristopov bo bistvenega pomena za uresničevanje kliničnega potenciala genske terapije na osnovi MSC.

Literatura

1. Kamenšek U, et al. Antitumor Efficacy of Interleukin 12-Transfected Mesenchymal Stem Cells in B16-F10 Mouse Melanoma Tumor Model. Pharmaceutics. 2025 Feb 20;17(3):278. doi: 10.3390/pharmaceutics17030278.
2. Švajger U, Kamenšek U. Interleukins and interferons in mesenchymal stromal stem cell-based gene therapy of cancer. Cytokine Growth Factor Rev. 2024 Jun;77:76-90. doi: 10.1016/j.cytogfr.2024.03.002.

RAZVOJ IN FUNKCIONALNO VREDNOTENJE PLAZMIDOV, KI IZRAŽAJO BAKTERIJSKE TOKSINE, ZA CEPLJENJE PROTI RAKU *IN SITU*

Maja Cvetanoska[1,2], Maja Čemažar[1,2,3], Gregor Serša[1,2,4], Urška Kamenšek[1,2,3]

[1] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za eksperimentalno onkologijo, Ljubljana, Slovenija*
[2] *Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Ljubljana, Slovenija*
[3] *Univerza na Primorskem, Fakulteta za vede o zdravju, Izola, Slovenija*
[4] *Univerza v Ljubljani, Zdravstvena fakulteta, Ljubljana, Slovenija*
[5] *Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Ljubljana, Slovenija*

Elektronski naslov: mcvetanoska@onko-i.si

Cepljenje proti raku *in situ* predstavlja obetavno strategijo za sproženje protitumorskega imunskega odziva neposredno v tumorskem mikrookolju s spodbujanjem sproščanja tumorskih antigenov in lokalne aktivacije imunskega sistema. V tej raziskavi razvijamo nov pristop cepljenja proti raku *in situ*, ki temelji na plazmidih in uporablja sekretorne oblike bakterijskih toksinov. Pristop združuje toksine, ki tvorijo pore (PFT; angl. *pore-forming toxins*), ki z nastajanjem por v celični membrani povzročijo lizo tumorskih celic in sproščanje antigenov, ter superantigene toksine (SAg), ki z močno stimulacijo limfocitov T okrepijo lokalno aktivacijo imunskega sistema. Namen raziskave je identificirati primerne kandidate med PFT in SAg za razvoj plazmidov, ki kodirajo za njihove sekretorne oblike, izdelati ustrezne plazmide ter ovrednotiti njihovo izražanje in biološko aktivnost *in vitro*.

Najobetavnejši plazmidi, ki kodirajo PFT in SAg, bodo izbrani za vrednotenje *in vivo* na mišjih tumorskih modelih, kjer jih bomo dostavili z intratumorskim genskim elektroprenosom (GEP). Kandidate za toksine smo identificirali na podlagi pregleda znanstvene literature, njihove kodirajoče sekvence pa smo kodonsko optimizirali za izražanje v sesalskih celicah. Sekrecijske signalne sekvence, pridobljene iz gena za perforin-1 in interlevkin-2, smo najprej ovrednotili z uporabo reporterskih plazmidov, ki kodirajo zeleni fluorescenčni protein (GFP).

Učinkovitost sekrecije smo ocenili na celični liniji mišjega melanoma B16-F10 po GEP s primerjavo znotrajcelične in zunajcelične fluorescence GFP ter z določanjem koncentracije GFP v celičnih supernatantih z metodo ELISA. Na podlagi teh poskusov smo izbrali sekrecijski signal za perforin-1, ki smo ga združili z geni za toksine. Konstrukte smo sintetizirali, klonirali v sesalski ekspresijski vektor ter potrdili njihovo pravilno zgradbo z restrikcijsko analizo in sekvenciranjem celotnega plazmida. Izražanje toksinov po GEP v B16F10 celice smo ovrednotili z metodo qRT-PCR. Biološko aktivnost konstruktov PFT trenutno preučujemo z uporabo testov citotoksičnosti (PrestoBlue in test klonogenosti) ter z merjenjem privzema propidijevega jodida za oceno prepustnosti celične membrane zaradi tvorjenja por. Aktivnost superantigenov vrednotimo v kokulturah imunskih celic z merjenjem izločanja izbranih imunostimulatornih citokinov (IFN-γ, IL-2 in TNF-α) z metodo ELISA ter s spremljanjem proliferacije limfocitov T z uporabo metode redčenja barvila CFSE. Uspešno smo pripravili plazmide, ki kodirajo šest kandidatnih PFT: citolizin A, šiga toksin 2, streptolizin O, aerolizin, alfa-hemolizin in sintetično nanoporo, ter tri kandidatne SAg: stafilokokna enterotoksina A in B ter toksin sindroma toksičnega šoka. Poskusi z reporterskimi konstrukti so pokazali prisotnost GFP v zunajceličnem prostoru po transfekciji, kar potrjuje delovanje izbranega sekrecijskega signala perforina-1. Transkripcijo toksinskih genov smo potrdili z metodo qRT-PCR. Funkcionalna karakterizacija sekretornih toksinov še poteka in bo omogočila določitev njihove citotoksične aktivnosti, sposobnosti povečevanja prepustnosti membran ter imunostimulacijskega potenciala.

Rezultati predstavljajo začetni dokaz uporabnosti plazmidne platforme za lokalno izražanje in izločanje bakterijskih toksinov kot mediatorjev cepljenja proti raku *in situ*. Za potrditev biološke

aktivnosti toksinov, izločenih iz transfeciranih tumorskih celic, bodo potrebne nadaljnje funkcionalne raziskave. Na podlagi teh analiz bomo izbrali po enega kandidata med PFT in SAg za validacijo *in vivo* na mišjih tumorskih modelih.

DOKAZI IZ REALNEGA SVETA: PETER, PRESEJANJE ZA RAKA PROSTATE

Janka Čarman, Blaž Grošelj[1,2], Miha Pukl[1,3], Rok Dežman[1,2], Maja Marolt Mušič[1,2], Boštjan Šeruga[1,2], Taja Ložar[1], Tomaž Smrkolj[2,4], Joško Osredkar[4,5], Katarina Lenart[1], Metka Volavšek[2], Mateja Kokalj Kokot[2,6], Andrejc Hribernik[1], Žiga Korelec[1], Ksenija Strojnik[1], Tit Albreht[3,7], Maruša Ahačič[1], Mojca Florjančič[1], Tine Jerman[1], Elizabeta Radelj Pepevnik[1], Urška Ivanuš

[1] *Onkološki inštitut Ljubljana, Ljubljana, Slovenija*
[2] *Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani*
[3] *Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru*
[4] *Univerzitetni klinični center Ljubljana*
[5] *Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani*
[6] *Zdravstveni dom Grosuplje*
[7] *Nacionalni inštitut za javno zdravje*

Elektronski naslov: jcarman@onko-i.si

p4

Pri raku prostate je stadij bolezni ob postavitvi diagnoze najpomembnejši napovedni dejavnik: petletno preživetje slovenskih bolnikov z lokalizirano boleznijo presega 98 %, medtem ko pri bolnikih z razsejano boleznijo znaša zgolj 29 %. Organizirano presejanje, ki temelji izključno na podlagi PSA, zmanjša umrljivost zaradi raka prostate in delež napredovalih stadijev bolezni, vendar predstavlja tveganje za prekomerno diagnostiko in zdravljenje klinično nepomembnih rakov. Rezultati 23-letnega spremljanja največje evropske randomizirane raziskave ERSPC (European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer), v katero je bilo vključenih 162.236 moških, starih od 55 do 69 let, so pokazali statistično značilno 13-odstotno relativno zmanjšanje specifične umrljivosti za rakom prostate. Podatki kažejo, da je bilo za preprečitev ene smrti zaradi bolezni potrebno na presejanje povabiti 456 moških oziroma pri 12-ih moških postaviti diagnozo raka prostate,; pri 16-letnem spremljanju je bilo potrebno povabiti 628 moških in diagnosticirati 18 moških, kar potrjuje, da se razmerje med koristmi in škodo presejanja z daljšim časom spremljanja, izboljšuje. V rotterdamski kohorti ERSCP raziskave s 42.376 vključenimi moškimi so bili rezultati po 21-letnem spremljanju še ugodnejši: na presejanje je bilo potrebno povabiti 246 moških in postaviti diagnozo pri 14-ih, da je bila preprečena ena smrt zaradi raka prostate. V nasprotju s tradicionalnimi raziskavami, kjer povišani vrednosti sledi biopsija prostate, sodobni presejalni algoritmi vključujejo dodatno oceno tveganja in magnetno resonančno slikanje (MR) prostate ter aktivno spremljanje; s tem se zmanjša diagnostika in zdravljenje klinično nepomembnih rakov. Glede na dokaze o učinkovitosti organiziranega presejanja in predvsem razširjenosti priložnostnega presejanja, je Svet Evropske unije decembra 2022 v priporočilih za presejanje države članice pozval, naj postopno, s pilotnim presejanjem in drugimi raziskavami, ocenijo izvedljivost in učinkovitost implementacije organiziranega presejanja za raka prostate na podlagi testiranja moških s PSA v kombinaciji z dodatnim slikanjem z MR.

V okviru projekta PETER (»Priprava strokovnih podlag za z dokazi podprto in vzdržno uvedbo organiziranega populacijskega PrEsejanja za raka prosTatE v Republiki Sloveniji, Peter«) multidisciplinarna strokovna skupina pripravlja izhodišča za uvedbo organiziranega presejanja za raka prostate v Sloveniji. Slednje poteka v skladu z navodili Državne komisije za presejalne programe ter v sodelovanju z Mednarodno agencijo za raziskave raka (IARC/WHO) in Erasmus MC Rotterdam v okviru projekta ICSIS (Improving Cancer Screening in Slovenia, TSI-SG-REFORM). V okviru projekta ProScreen (Co-Creating and Evaluating a Context-Adapted Risk-Stratified Population-Based Prostate Cancer Screening Pilot in Slovenia) trenutno v Sloveniji poteka prva prospektivna raziskava o organiziranem presejanju za raka prostate PRO-PETER (Načrtovanje in vrednotenje pilotnega organiziranega presejanja za raka prostate v Sloveniji na podlagi ocene tveganja).

Raziskava PRO-PETER vključuje naključno izbrane moške iz ciljne skupine, stare 50–69 let, in uporablja večstopenjski presejalni algoritem z individualno oceno tveganja, MR slikanjem ter fuzijsko biopsijo prostate - s ciljem zmanjšati število nepotrebnih biopsij ob ohranitvi visoke stopnje odkrivanja klinično pomembnega raka prostate (skupina ISUP ≥ 2). Raziskava bo pridobila kazalnike kakovosti po metodologiji PRAISE-U, ocenila vpliv presejanja na kakovost življenja vabljenih moških, identificirala ovire za udeležbo ter opredelila optimalno vrsto magnetnoresonančnega slikanja (multiparametrična ali biparametrična MRI) za uporabo v populacijskem presejanju. Analiza rezultatov bo izhodišče za načrtovanje varnega, učinkovitega, dostopnega in vzdržnega organiziranega populacijskega presejalnega programa za raka prostate v Sloveniji.

Slovenski pristop v okviru projektov PETER, ICSIS, ProScreen ter pilotne raziskave PRO-PETER sledi znanstvenim dokazom in mednarodnim priporočilom ter gradi strokovno in organizacijsko podlago za morebitno uvedbo nacionalnega organiziranega presejalnega programa za raka prostate. Organiziran program ima, v nasprotju s priložnostnim testiranjem, jasno opredeljeno ciljno skupino, standardizirano klinično pot, presejalni register, spremlja kakovost vseh storitev na klinični poti ter sistematično vrednoti razmerja med koristmi, škodo in stroški s presejalnim registrom.

p4

HETEROGENI FUNKCIONALNI IN TRANSKRIPTOMSKI ODZIVI NA CO_2 PNEVMOPERITONEJ V MODELIH RAKA MATERNIČNEGA VRATU IN ENDOMETRIJA

Helena Čelešnik[1,2], Boris Gole[1], Mario Gorenjak[1], Martina Krušič[1], Gregor Jezernik[1], Tea Lanišnik Rižner[3], Monika Sobočan[1,4], Iztok Takač[1,4], Uroš Maver[1], Uroš Potočnik[1,2,5], Jan Rožanc[1]

[1] *Univerza v Mariboru, Medicinska fakulteta, Maribor, Slovenija*

[2] *Univerza v Mariboru,Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Maribor, Slovenija*

[3] *Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Ljubljana, Slovenija.*

[4] *Univerzitetni klinični center Maribor, Klinika za ginekologijo in perinatologijo, Maribor, Slovenija*

[5] *Univerzitetni klinični center Maribor, Oddelek za znanstveno-raziskovalno delo, Maribor, Slovenija*

Elektronski naslov: jan.rozanc@um.si

Raziskava laparoskopskega pristopa k zdravljenju raka materničnega vratu LACC (angl. Laparoscopic Approach to Cervical Cancer) je pokazala slabše onkološke izide po minimalno invazivni kirurgiji pri zgodnjem raku materničnega vratu v primerjavi z odprto operacijo (1, 2); medtem ko pri raku endometrija podobnih ugotovitev niso potrdili (3,4). CO_2 pnevmoperitonej, ki je sestavni del laparoskopske in robotske kirurgije, je eden izmed možnih dejavnikov, ki prispevajo k slabšemu onkološkemu izidu, vendar učinki CO_2 pnevmoperitoneja v biologiji ginekoloških rakov na celični ravni še niso dobro opredeljeni. V tej študiji smo primerjali funkcionalne in transkriptomske odzive celičnih linij raka materničnega vratu in raka endometrija na simuliran CO_2 pnevmoperitonej.

Tri celične linije raka materničnega vratu (HeLa, CaSki, C-33A) in dve celični liniji raka endometrija (Ishikawa, KLE) smo izpostavili simuliranemu CO_2 pnevmoperitoneju (60 min, 15 mm Hg) ali simuliranim pogojem odprte operacije (OS). Do tri dni po izpostavitvi smo spremljali zunajcelični pH, presnovno aktivnost (AlamarBlue), viabilnost (pretočna citometrija Calcein/PI) ter zapiranje rane (test praskanja z uporabo mitomicina C oziroma brez njega za razločevanje učinkov migracije in proliferacije). V celičnih linijah HeLa, CaSki in Ishikawa smo izvedli sekvenciranje RNA ter analizo obogatitve z ontologijo genov (*angl. gene ontology*).

Izpostavitev CO_2 je povzročila prehodno znižanje zunajceličnega pH, ki se je normaliziralo v 24 urah. V nobeni celični liniji nismo zaznali dolgotrajnega zmanjšanja presnovne aktivnosti ali viabilnosti. Obseg zapiranja rane se je med posameznimi celičnimi linijami močno razlikoval, medtem ko izpostavitev CO_2 v primerjavi z OS na obseg večinoma ni vplivala. Celični liniji HeLa in CaSki sta pokazali izrazito večjo sposobnost zapiranja rane kot C-33A ter celični liniji raka endometrija. Majhno, vendar statistično značilno povečano zapiranje rane po izpostavitvi CO_2 v primerjavi z OS, smo opazili le v celicah Ishikawa, učinek pa se je ohranil tudi v prisotnosti mitomicina C. Transkriptomsko profiliranje je pokazalo različne odzive posameznih celičnih linij na CO_2. Celice HeLa so se odzvale s spremembami v poteh, povezanih z imunskim odzivom in vnetjem, celice CaSki s spremembami v znotrajcelični signalizaciji cAMP, celice Ishikawa pa s spremembami v poteh, povezanih z ligandsko uravnavanimi ionskimi kanali in z odzivom na celični stres. Med celičnimi linijami raka materničnega vratu nismo ugotovili značilnega skupnega transkripcijskega odziva.

Simuliran CO_2 pnevmoperitonej je sprožil heterogene, za posamezno celično linijo značilne odzive. Rezultati nakazujejo, da so intrinzične biološke lastnosti tumorja lahko pomemben dejavnik celičnega odziva na kirurško okolje. Izpostavitev CO_2 ni povzročila enotnega odziva v proučevanih modelih raka materničnega vratu in endometrija, temveč so se odzivi razlikovali glede na biološke značilnosti posamezne celične linije.

p5

Literatura

1. Ramirez PT, et al. Minimally Invasive versus Abdominal Radical Hysterectomy for Cervical Cancer. The New England journal of medicine. 2018;379(20):1895-904.
2. Ramirez PT, et al. LACC Trial: Final Analysis on Overall Survival Comparing Open Versus Minimally Invasive Radical Hysterectomy for Early-Stage Cervical Cancer. Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology. 2024;42(23):2741-6.
3. Janda M, et al. Effect of Total Laparoscopic Hysterectomy vs Total Abdominal Hysterectomy on Disease-Free Survival Among Women With Stage I Endometrial Cancer: A Randomized Clinical Trial. JAMA. 2017;317(12):1224-33.
4. Zhou X, et al. Laparoscopic vs. open procedure for intermediate- and high-risk endometrial cancer: a minimum 4-year follow-up analysis. BMC Cancer. 2022;22(1):1203.

p5

REAL-WORLD EVIDENCE GENERATION: BEST PRACTICES AND PROSPECTS

Rodrigo Dienstmann

Oncology Data Science, Vall d'Hebron Institute of Oncology, Barcelona, Spain
ESMO Real-World Data and Digital Oncology, Editor-in-Chief

Elektronski naslov: rdienstmann@vhio.neti

Randomized controlled trials (RCTs) provide rigorously controlled data on carefully selected patients, but this selectivity limits generalizability to the broader population encountered in clinical practice. Real-world data (RWD) offers a complementary paradigm: less controlled, but drawn from unselected, representative patients. This talk examines how RWD can help close the gap between trial evidence and everyday practice, and outlines the methodological standards required to do so responsibly.

RWD should be understood as complementary to, rather than competing with, the RCT. While RCTs remain the reference standard for establishing efficacy and safety, they are costly, time-intensive, and often exclude populations who will ultimately receive the therapy. RWD extends this evidence base by capturing effectiveness, pharmacovigilance, and health-economic outcomes across broader and more diverse populations, including rare or long-term events that trials are underpowered to detect. Regulatory bodies have formally recognized this value: both the FDA and EMA have outlined frameworks for incorporating real-world evidence (RWE) into regulatory decision-making, contingent on the underlying data being fit-for-purpose, methodologically robust, and generated with transparency.

Meeting these conditions requires a structured data-generation pipeline: selection of appropriate sources, cleaning and transformation into a common data model, and patient-level linkage across datasets, with provenance maintained throughout. Linkage is a critical determinant of data value — combining structured and unstructured electronic health record (EHR) data with claims, genomic data, and increasingly patient-generated data from digital devices produces a more complete, longitudinal view of the patient journey than any single source provides. Along the scientific-strength spectrum, cancer registries represent a particularly robust source of RWD: standardized coding, population-level coverage, and extended follow-up have long supported disease surveillance, benchmarking of real-world outcomes against trial results, and identification of populations underrepresented in trials.

A central component of this talk is a practical data quality framework organized around two questions: is this the right type of data, and are the data correct? The first dimension, relevance (data fitness), evaluates sufficiency of sample size, availability of key variables, representativeness, and timeliness. The second, reliability (data credibility), assesses completeness, accuracy, provenance, and traceability from source to analysis. Together, these dimensions provide a shared framework for researchers, sponsors, and regulators to assess whether a given RWD source can support a specific evidentiary claim, and they inform the validation approaches — verification checks, benchmarking, external reference standards — used to demonstrate this.

The talk then surveys where RWD contributes across the drug development lifecycle: informing trial design and characterizing standard of care prior to approval; serving as external control arms for single-arm trials; supporting post-marketing commitments; and enabling comparative effectiveness research, both RWD-versus-RWD and RWD-versus-RCT, through methods such as propensity score weighting and target trial emulation designed to approximate causal inference in the absence of randomization. Examples from pembrolizumab in tumor-agnostic MSI-high disease and CDK4/6 inhibitor comparisons in breast cancer illustrate the practical application of these designs.

Finally, the talk addresses emerging prospects in artificial intelligence for RWD abstraction. Manual chart review remains the most explainable and reproducible extraction method but is resource-intensive and difficult to scale. Large language models offer scalability, with trade-offs in explainability and reproducibility that require active management. Data from a multicentric French lung cancer cohort (LUCC-Lung) illustrate this trade-off: a fine-tuned LLM reduced abstraction error rates by approximately half compared to manual review, and a hybrid approach combining AI extraction with targeted human review reduced errors further to below 5%, with no measurable impact on downstream survival estimates.

The talk concludes with the following take-home messages: RWD complements rather than replaces trial evidence; data quality is a prerequisite, not an option; RWD applications extend well beyond comparative effectiveness; and realizing the potential of AI in this domain will require investment in digital health infrastructure and sustained collaboration between clinical teams, IT departments, and technology partners

VLOGA MOLEKULARNE DIAGNOSTIKE PRI KOMPLEKSNIH HEMATOLOŠKIH NOVOTVORBAH

Panna Dora[1], Marjeta Kokelj[2], Veronika Kloboves Prevodnik[2,3], Vida Stegel[4], Gorana Gašljević[1,3]

[1] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za patologijo, Ljubljana, Slovenija*
[2] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za citopatologijo, Ljubljana, Slovenija*
[3] *Univerza v Mariboru, Medicinska fakulteta, Maribor, Slovenija*
[4] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za molekularno diagnostiko, Ljubljana, Slovenija*

Elektronski naslov: pdora@onko-i.sii

Razvoj molekularnih tehnik je bistveno spremenil naše razumevanje klonalnih povezav med hematološkim novotvorbami, saj je omogočil prepoznavanje skupnih genetskih sprememb pri različnih bolezenskih entitetah. Sekvenciranje naslednje generacije (NGS) omogoča odkrivanje ponavljajočih se mutacij, citogenetskih nepravilnosti in evolucijskih vzorcev znotraj posameznih tumorjev. Z njegovo uporabo je mogoče razkriti skupni predniški klon navidezno različnih hematoloških malignomov ali razvoj različnih bolezni zaradi pridobivanja sekundarnih genetskih sprememb v že obstoječi neoplastični populaciji. Predstavljamo primer histiocitoze Langerhansovih celic (HLC) z mutacijo gena *ARAF*, ki se je razvila pri bolniku s pravo policitemijo (*angl. polycythaemia vera*, PV) z mutacijama *ARAF* in *JAK2*, kar predstavlja prepričljiv dokaz klonalne povezanosti in razvejane evolucije iz skupne progenitorske celice.

Na vzorcu aspirata in bioptata kostnega mozga in biopsijskem vzorcu kože so bile opravljene imunohistokemične ter molekularne analize sekvenciranja naslednje generacije (NGS; Archer VariantPlex Myeloid, Oncomine Precision Assay GX in TruSight Oncology 500).

63-letni bolnik moškega spola je imel sprva značilne simptome prave policitemije in mu je bila postavljena diagnoza PV z mutacijo *JAK2* p.V617F. Med potekom bolezni sta bili ugotovljeni vztrajna monocitoza in progresivna splenomegalija, pozneje pa se je v poteku bolezni razvil difuzen, nesrbeč makulopapulozni kožni izpuščaj, v biopsiji katerega je bila potrjena diagnoza HLC. Molekularne analize so razkrile prisotnost identičnih *ARAF, IDH2* in *ASXL1* mutacij v obeh tkivih. Ta molekularni profil je podprl hipotezo o divergentni evoluciji iz skupnega *ARAF/IDH2/ASXL1*-mutiranega klona z naknadno pridobitvijo mutacije *JAK2*.

Ugotovitve poudarjajo pomen celovitega molekularnega profiliranja pri bolnikih s prekrivajočimi se hematološkimi in histiocitnimi boleznimi ter predlagajo model razvejane evolucije, ki bi lahko usmerjal prihodnje raziskave, zlasti na področju terapevtskih pristopov.

Ta primer razširja razumevanje ontogeneze HLC in njene povezanosti z mieloičnimi novotvorbami ter poudarja potrebo po nadaljnjih raziskavah klonalne hematopoeze in plastičnosti celičnih linij na stičišču teh redkih bolezni.

p7

LENNERTOVI LIMFOMI VEČINOMA PREDSTAVLJAJO nTFH-SKUPINO ZRELIH PERIFERNIH T-CELIČNIH LIMFOMOV

Panna Dora[1], Marjeta Kokelj[2], Veronika Kloboves Prevodnik[2,3], Lučka Boltežar[4,5], Alexandar Tzankov[6], Eva Erzar[7], Gorana Gašljević[1,3]

[1] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za patologijo, Ljubljana, Slovenija*
[2] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za citopatologijo, Ljubljana, Slovenija*
[3] *Univerza v Mariboru, Medicinska fakulteta, Maribor, Slovenija*
[4] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za medicinsko onkologijo, Ljubljana, Slovenija*
[5] *Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Ljubljana, Slovenija*
[6] *Univerza v Baslu, Univerzitetna bolnišnica Basel, Inštitut za medicinsko genetiko in patologijo, Basel, Švica*
[7] *Center za tipizacijo tkiv, Inštitut za Transfuzijsko medicino, Ljubljana, Slovenija*

Elektronski naslov: pdora@onko-i.si

Lennertov limfom (LL) je morfološka oblika perifernega T-celičnega limfoma (PTCL), za katerega so značilni difuzna rast, številni epiteloidni histiociti in maloštevilne neoplastične celice. Njegove kliničnopatološke in molekularne značilnosti še niso povsem pojasnjene. Analizirali smo primere LL, diagnosticirane na Onkološkem inštitutu Ljubljana (1994-2024).

p8

Pri enajstih primerih je bila opravljena obsežna imunohistokemična analiza (IHK), ki je vključevala označevalce T-celic, TFH, TH_1/TH_2, citotoksičnosti in EBV. Pri vseh primerih je bila opravljena analiza z metodo PCR po protokolu BIOMED-2, pri 7 pretočna citometrija, pri 8 pa visokozmogljivo sekvenciranje (HTS; 172-genski panel Ion AmpliSeq™); pri 3 primerih analiza še poteka.

Vključenih je bilo 6 žensk in 5 moških, starih od 29 do 85 let (mediana 59 let). Vsi bolniki so bili imunokompetentni, razen enega bolnika s sarkoidozo, zdravljenega z metotreksatom. Klinični podatki so bili na voljo za 8 bolnikov. Šest bolnikov je imelo bolezen stopnje malignosti stadij 4, eden v stadiju 1 in eden v stadiju 2. Vse diagnoze so bile postavljene na podlagi ekscizijske biopsije bezgavke. Morfološko so bile neoplastične celice v 6 primerih srednje velike, v 2 primerih majhne do srednje velike, v 3 primerih pa srednje velike do velike; celice s svetlo citoplazmo (*angl. clear cells*) niso bile prisotne. Fokalno pomnožene visokoendotelijske venule (*angl. high endothelial venules*, HEV) in ostanke folikularnih dendritičnih celic (*angl. folicular dendritic cell*, FDC) smo ugotovili v 5 primerih. Limfomske celice so bile v 2 primerih fokalno CD30+, v 8 primerih so bile prisotne CD30+ celice, podobne imunoblastom/Reed-Sternbergovim celicam (IB/RS); EBV-ISH je bila pozitivna v B-imunoblastih (B-IB) v 5 primerih.

Imunofenotip: 9 CD4+, 1 CD8+, 1 CD4+/CD8+. Med označevalci TFH sta bila najpogosteje izražena označevalca PD-1 in ICOS; CXCL13 in BCL6 sta bila delno pozitivni v 4 in 6 primerih. CD10 je bil praviloma negativen. Vsi primeri so bili TCRD-negativni. Glede na profil TH_1/TH_2, so bili vsi primeri uvrščeni v skupino PTCL-TBX21, pri čemer je bil CXCR3 pogosteje izražen kot TBX21. Citotoksične granule so bile prisotne v 2 CD4+ in obeh CD8+ primerih. Analiza z HTS pri 1 primeru ni bila uspešna, pri 2 primerih mutacij nismo ugotovili. Pri 4 primerih so bile prisotne mutacije epigenetskih regulatorjev.

Na podlagi IHK je bilo 7 primerov opredeljenih kot nodalni TFH limfom, brez druge opredelitve (nTFH NOS), 4 primeri pa kot PTCL, NOS (od tega 2 s citotoksičnim fenotipom). Dva CD4+ primera z delno ekspresijo označevalcev TFH sta bila na podlagi rezultatov TFH prerazvrščena v nTFH NOS. V 6 od 8 primerov, analiziranih s HTS, so bile ugotovljene mutacije epigenetskih regulatorjev. V več primerih TFH-limfoma so gosti reaktivni infiltrati CD8+/TIA-1+/grancim B+ zakrivali neoplastične celice. HEV, FDC, CD30+, EBV+ celice ter izražanje PD-1 in ICOS so bili pogosteje prisotni pri nTFH NOS.

Morfologija LL se lahko pojavlja pri različnih podtipith PTCL, vendar večina primerov kaže značilnosti nTFH. Molekularne preiskave so lahko v pomoč pri klasifikaciji, kadar so neoplastične celice maloštevilne ali je izražanje označevalcev TFH omejeno.

SUBSTANCA P PREKO RECEPTORJA NK1R URAVNAVA ZUNAJCELIČNO AKTIVNOST CISTEINSKIH KATEPSINOV V MAKROFAGIH THP-1

Ana Ercegovič Rot Peternelj[1,2], Matej Kolarič[1,2], Boris Turk[1,3]

[1] *Inštitut "Jožef Stefan", Odsek za biokemijo ter molekularno in strukturno biologijo, Ljubljana, Slovenija*

[2] *Mednarodna podiplomska šola Jožefa Stefana, Ljubljana, Slovenija*

[3] *Univerza v Ljubljani, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Ljubljana, Slovenija*

Elektronski naslov: boris.turk@ijs.si, ana.erot@ijs.si i

p9

Substanca P (SP) je nevropeptid, ki se pretežno veže na nevrokininski receptor 1 (NK1R) ter poleg svoje uveljavljene vloge v nocicepciji in nevrotransmisiji uravnava tudi številne imunske odzive (1), zato se ji v biologiji raka namenja vse več pozornosti. Pri raku signaliziranje SP–NK1R osi spodbuja proliferacijo, preživetje in migracijo rakavih celic (2), vpliva pa lahko tudi na s tumorji povezane makrofage ter spodbuja njihove M2-podobne oziroma tkivno-preoblikovalne značilnosti (3,4). Predhodno je bilo dokazano, da signaliziranje SP–NK1R vpliva na proteolitične programe makrofagov (5), ki lahko z izločanjem zunajceličnih proteaz prispevajo k preoblikovanju tumorskega mikrookolja (TMO) (6).

Namen naše raziskave je bil opredeliti vpliv signaliziranja SP–NK1R na izbrane značilnosti makrofagov in zunajcelično proteolitično aktivnost cisteinskih katepsinov, encimov, ki sodelujejo pri preoblikovanju TMO in napredovanju raka (7), njihovo aktivnost pa uravnavajo endogeni inhibitorji iz družine cistatinov (8,9).

Po začetnem testiranju več tumorskih in imunskih celičnih linij smo kot eksperimentalni model izbrali s PMA diferencirane makrofage THP-1, ki so izražali NK1R in se morfološko odzivali na stimulacijo s SP. Rezultati so pokazali, da SP poveča fosforilacijo STAT6 in izražanje CD206, medtem ko sprememb v fosforilaciji STAT1 in STAT3 v našem modelu nismo zaznali. SP je izrazito povečala zunajcelično aktivnost cisteinskih katepsinov, določeno z uporabo fluorogenega substrata. Po stimulaciji s SP smo v kondicioniranem mediju s prenosom Western sočasno zaznali povečano raven katepsinov B (CTSB) in S (CTSS) ter zmanjšano raven njunega poglavitnega zunajceličnega inhibitorja, cistatina C (CST3). Učinke SP je preprečil aprepitant, antagonist NK1R, kar podpira njihovo odvisnost od signaliziranja prek NK1R. Nasprotno se znotrajcelična raven CTSB in CTSS ni spremenila, kar smo potrdili z masno spektrometrijo in prenosom Western. Prav tako se ni spremenila celokupna znotrajcelična aktivnost cisteinskih katepsinov kljub zmanjšani količini znotrajceličnih inhibitorjev stefina A in stefina B.

Po stimulaciji s SP smo s pretočno citometrijo zaznali tudi povečano zunajcelično izpostavljenost luminalne domene lizosomalnega membranskega proteina LAMP1, kar nakazuje povečano fuzijo lizosomov s plazemsko membrano in s tem povečano lizosomalno eksocitozo. Ti rezultati podpirajo model, po katerem signaliziranje SP–NK1R v makrofagih THP-1 pomika zunajcelično ravnovesje med cisteinskimi katepsini in njihovimi inhibitorji v smer povečane proteolitične aktivnosti. Rezultati pri tem ne kažejo povečanega znotrajceličnega izražanja cisteinskih katepsinov, temveč nakazujejo vpliv na lizosomalni transport in mobilizacijo že obstoječih proteaz v zunajcelični prostor.

Naše ugotovitve kažejo, da bi signalna os SP–NK1R lahko predstavljala enega izmed mehanizmov, s katerimi makrofagi uravnavajo proteolitično mikrookolje. Preprečitev opaženih učinkov z aprepitantom dodatno podpira vlogo NK1R in kaže, da je ta signalna os zanimiva tarča za nadaljnje raziskave. Nadaljnje raziskave v kompleksnejših predkliničnih modelih bodo omogočile ovrednotenje terapevtskega potenciala farmakološkega uravnavanja osi SP–NK1R pri omejevanju proteolitičnega preoblikovanja tumorskega mikrookolja.

Literatura

1. Graefe SB, Rahimi N, Mohiuddin SS. Biochemistry, Substance P. StatPearls. 2023 Jul 30. PubMed PMID: 32119470.
2. Maitra A, et al. Neurokinin-1 receptor antagonism as a potential therapeutic strategy for cancer treatment; enhancing anti-tumor efficacy while mitigating treatment-related toxicities. npj Precision Oncology 2026. 2026. doi:10.1038/S41698-026-01570-3
3. Lim JE, et al. A neuropeptide, Substance-P, directly induces tissue-repairing M2 like macrophages by activating the PI3K/Akt/mTOR pathway even in the presence of IFNγ. Scientific Reports 2017 7:1. 2017;7(1):9417-. doi:10.1038/s41598-017-09639-7
4. Li M, et al. Substance P Increases STAT6-Mediated Transcription Activation of Lymphocyte Cytosolic Protein 2 to Sustain M2 Macrophage Predominance in Pediatric Asthma. Am J Pathol. 2024 ;194(2):238–52. doi:10.1016/J.AJPATH.2023.11.003
5. Xu J, et al. Metalloelastase in lungs and alveolar macrophages is modulated by extracellular substance P in mice. https://doi.org/101152/ajplung002822007. 2008;295(1). doi:10.1152/AJPLUNG.00282.2007
6. Yang Y, et al. Tumor-associated macrophages remodel the suppressive tumor immune microenvironment and targeted therapy for immunotherapy. J Exp Clin Cancer Res. 2025;44(1):145. doi:10.1186/S13046-025-03377-9
7. Rot AE, Hrovatin M, Bokalj B, Lavrih E, Turk B. Cysteine cathepsins: From diagnosis to targeted therapy of cancer. Biochimie. 2024 Nov 1;226:10–28. doi:10.1016/J.BIOCHI.2024.09.001
8. Breznik B, et al. Cystatins in cancer progression: More than just cathepsin inhibitors. Biochimie. 2019;166:233–50. doi:10.1016/J.BIOCHI.2019.05.002
9. Turk V, et al. Cystatins: biochemical and structural properties, and medical relevance. Front Biosci. 2008 ;13(14):5406–20. doi:10.2741/3089

PREMAGOVANJE ODPORNOSTI GLIOBLASTOMA: POVEČANJE UČINKOVITOSTI STANDARDNE IN NK-CELIČNE TERAPIJE Z INHIBICIJO POTI TGF-β

Bernarda Majc[1,2], Simona Katrin Galun[1,4], Eva Pinter[1], Kristian Urh[1], Anamarija Habič[1,4], Tina Kolenc Milavec[1,4], Pia Žižek[1,4], Špela Kladnik[1], Barbara Haber[5], Andrej Porčnik[5], Borut Prestor[5], Marija Skoblar Vidmar[6,7], Barbara Breznik Vittori[1,2], Metka Novak[1,3]

[1] *Nacionalni inštitut za biologijo, Oddelek za genetsko toksikologijo in biologijo raka, Ljubljana, Slovenija*
[2] *Univerza v Ljubljani, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Ljubljana, Slovenija*
[3] *Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Ljubljana, Slovenija*
[4] *Mednarodna podiplomska šola Jožefa Stefana, Ljubljana, Slovenija*
[5] *Univerzitetni klinični center Ljubljana, Klinični oddelek za nevrokirurgijo, Ljubljana, Slovenija*
[6] *Onkološki inštitut Ljubljana, Ljubljana, Slovenija*
[7] *Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Ljubljana, Slovenija*

Elektronski naslov: bernarda.majc@nib.si

p10

Glioblastom (GBM) je najbolj agresiven možganski tumor pri odraslih, za katerega sta značilni izrazita celična heterogenost in imunosupresivno tumorsko mikrookolje, ki omejujeta dolgotrajno učinkovitost imunoterapije ter poudarjata potrebo po razvoju novih terapevtskih pristopov. Eden izmed obetavnih načinov je sočasno zaviranje imunosupresivnih signalnih poti v tumorskem mikrookolju, saj imajo te ključno vlogo pri izmikanju tumorja imunskemu nadzoru. Kljub temu ostaja terapevtski potencial kombiniranega ciljanja ključnih imunosupresivnih signalnih poti pri GBM slabo raziskan. Signalna pot TGF-β je pri GBM pogosto deregulirana, pri čemer so povišane ravni TGF-β povezane z agresivnejšim tumorskim fenotipom, invazivnostjo, imunosupresivnim mikrookoljem in terapevtsko odpornostjo. Zato TGF-β predstavlja klinično relevantno dodatno terapevtsko tarčo za izboljšanje učinkovitosti standardnega zdravljenja in NK-celične terapije.

Ovrednotili smo učinke selektivnega inhibitorja receptorja TGF-β tipa I, galunisertiba (Gal), na viabilnost in invazijo 3D sferoidov GBM ter raziskali njegov vpliv v kombinaciji s standardno terapijo (ST). Sferoidi, pridobljeni iz tumorjev bolnikov, so pokazali izrazito heterogenost med posameznimi bolniki kot tudi znotrajtumorsko heterogenost v odzivu na zdravljenje. Pri dveh od šestih analiziranih sferoidov je Gal povečal občutljivost na ST. Analiza z metodo prenosa po Westernu ni pokazala aktivacije kanonične, od SMAD odvisne signalne poti TGF-β, medtem ko je po inhibiciji z Gal pokazala povečano fosforilacijo ERK, kar kaže na aktivacijo nekanonične signalizacije. Kvantitativna fosfoproteomska analiza tretiranih in netretiranih sferoidov je pokazala izrazito preoblikovanje fosfosignalnih omrežij, povezanih s celično adhezijo, citoskeletno in membransko dinamiko ter regulacijo presnovnih poti. Med najbolj značilno spremenjenimi fosfoproteini sta bila NCAM1 in PCDH9, ki sta bila povečana, medtem ko je bil ARHGEF26 zmanjšan. Analiza KEGG je dodatno pokazala spremembe v signalnih poteh, povezanih z EGFR- , MAPK/ERK-, AKT- in STAT3- signalizacijo. Skupni rezultati nakazujejo, da Gal v uporabljenih pogojih sproži adaptivno fosfosignalno preureditev, pri kateri lahko alternativne signalne osi ohranjajo celično plastičnost in invazivni potencial sferoidov.

Gal smo uporabili kot podporno imunomodulatorno terapijo v kombinaciji z NK-92 celično terapijo in agonistom IL-15 N-803. Kombinacijsko zdravljenje je zmanjšalo viabilnost NIB216 glioblastomskih sferoidov, pri čemer je kombinacija ST, celic NK-92, Gal in N-803 dosegla najnižjo normalizirano vrednost viabilnosti. Hkrati je ta kombinacija pokazala največji delež NKp30-pozitivnih NK-92 celic ter najvišjo intenziteto izražanja NKp30. Skupni rezultati nakazujejo, da lahko Gal v kombinaciji z N-803 podpira aktivacijo NK-celic in s tem prispeva k večji protitumorski aktivnosti NK-celične

terapije v glioblastomskih sferoidih.

Ugotovitve podpirajo nadaljnje raziskovanje kombiniranih terapevtskih pristopov, pri katerih bi zaviranje signalne poti TGF-β združili s ciljanjem kompenzacijskih signalnih poti ali s celično terapijo za izboljšanje protitumorskega odziva.

Raziskavo je financirala Javna agencija za znanstvenoraziskovalno in inovacijsko dejavnost Republike Slovenije (ARIS) v okviru projekta Z3-70129.

p10

PERIOPERATIVNA KEMOIMUNOTERAPIJA RESEKTABILNEGA NEDROBNOCELIČNEGA RAKA PLJUČ V KLINIČNI PRAKSI: PRIMERJAVA Z ADJUVANTNIM ZDRAVLJENJEM

Ana Geltar[1], Katja Mohorčič[1], Loredana Mrak[1], Urška Janžič[1,2]

[1] *Univerzitetna klinika Golnik, Enota internistične onkologije, Golnik, Slovenija*
[2] *Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Ljubljana, Slovenija*

Elektronski naslov: ana.geltar@klinika-golnik.si

Zdravljenje resektabilnega nedrobnoceličnega raka pljuč (NDRP) se je z uvedbo zaviralcev imunskih kontrolnih točk (ZIKT) pomembno spremenilo. Neoadjuvantna oz. perioperativna kemoimunoterapija je postala standard zdravljenja izbranih bolnikov brez aktivirajočih molekularnih sprememb v genih EGFR in ALK (1-3). Na Kliniki Golnik smo jo v redno klinično prakso uvedli junija 2023. Namen raziskave je bil oceniti izvedljivost in zgodnje izide perioperativnega zdravljenja v vsakdanji klinični praksi ter jih primerjati z izidi predhodno zdravljene kohorte bolnikov, ki so po operaciji prejeli adjuvantno sistemsko zdravljenje.

p11

V analizo smo vključili bolnike z resektabilnim NDRP brez molekularnih sprememb v genih EGFR ali ALK, zdravljene na Kliniki Golnik. Kontrolno skupino so predstavljali bolniki, operirani v letih 2022–2023, ki so po operaciji prejeli adjuvantno kemoterapijo z ali brez dodatka ZIKT. Primerjali smo jih z bolniki, ki so bili od leta 2023 zdravljeni s perioperativno kemoimunoterapijo. Analizirali smo demografske in klinične značilnosti, uporabljeno sistemsko zdravljenje, delež opravljenih operacij, patološki odgovor, ponovitve bolezni in umrljivost.

Skupno je bilo vključenih 71 bolnikov, od tega 25 v adjuvantni in 46 v perioperativni skupini. Povprečna starost je bila primerljiva (65 oz. 66 let), prav tako porazdelitev histoloških podtipov, kliničnih stadijev in izraženosti PD-L1. Mediano spremljanje je bilo daljše v adjuvantni skupini (36.0 proti 14.5 meseca). V adjuvantni skupini je 80 % bolnikov prejelo kemoterapijo na osnovi cisplatina, v perioperativni pa 85 % kemoterapijo na osnovi karboplatina. Vsi bolniki v perioperativni skupini so pred operacijo prejeli ZIKT, polovica je skladno z izbranim protokolom zdravljenje z ZIKT nadaljevala tudi po operaciji. V adjuvantni skupini je ZIKT prejelo le 28 % bolnikov. Operiranih je bilo 44 od 46 bolnikov (96 %), ki so začeli s perioperativnim zdravljenjem. Kompletni patološki odgovor (pCR) je bil dosežen pri 25 %, dodatnih 11 % bolnikov pa je doseglo večji patološki odgovor (MPR). Bolezen se je ponovila pri 13 od 25 bolnikov (52 %) v adjuvantni in pri 6 od 46 bolnikov (13 %) v perioperativni skupini. Mediani čas od začetka zdravljenja do ponovitve bolezni je bil 11.5 oz. 14.3 meseca. Umrlo je 7 od 25 bolnikov (28 %) v adjuvantni in 4 od 46 bolnikov (9 %) v perioperativni skupini.

Podatki iz vsakdanje klinične prakse kažejo na uspešnost in dobro izvedljivost perioperativnega zdravljenja. Kljub temu, da je bilo spremljanje perioperativne skupine krajše, je mediana presegla eno leto, torej obdobje, v katerem se je v adjuvantni skupini pojavila večina ponovitev bolezni. Manjši delež ponovitev bolezni in smrti v perioperativni skupini zato predstavlja spodbuden zgodnji signal učinkovitosti. Zaradi nerandomizirane primerjave, majhnega števila bolnikov in različnega časa spremljanja je za zanesljivo oceno dolgoročnih izidov potrebno nadaljnje spremljanje.

Literatura:

1. Forde PM, et al. Neoadjuvant nivolumab plus chemotherapy in resectable lung cancer. N Engl J Med. 2022;386(21):1973–85.
2. Wakelee H, et al. Perioperative pembrolizumab for early-stage non-small-cell lung cancer. N Engl J Med. 2023;389(6):491–503.
3. Heymach JV, et al. Perioperative durvalumab for resectable non-small-cell lung cancer. N Engl J Med. 2023;389(18):1672–84.

FROM REGISTRIES TO THE CLINIC: USING REAL-WORLD DATA TO MAKE PREDICTIONS OF SURVIVAL IN UNRESECTABLE MELANOMA

Toby Hackmann, Ellen Kapiteijn, Barbara Perić, Marco Donia, Inge Marie Svane, Ewout Steyerberg, Liesbeth C. de Wreede*, Michel W.J.M. Wouters*

On behalf of the 4D PICTURE Consortium

*These authors contributed equally as last author

Shared decision-making (SDM) in unresectable cutaneous melanoma (CM) requires accurate, individualized survival estimates. Previous prediction models were limited by small sample sizes. We aimed to develop and validate a prediction model for patients with unresectable metastatic CM to support SDM based on large international real-world data sets.

We developed a prediction model from three cohorts: the Dutch Melanoma Treatment Registry (DMTR), the Danish Metastatic Melanoma Database (DAMMED), and the Slovenian Melanoma Registry (KrMel). Data of 7,354 patients (3,979 deaths) with unresectable metastatic CM were included. Such a large sample size allows us to perform complex modelling with adjustment for confounding and heterogeneity of treatment effect. Moreover, country-specific population life tables were integrated into the model to separate melanoma-specific mortality from background mortality.

The model generates individualized survival predictions under a range of potential interventions: with BRAF/MEK inhibitors, anti-PD-1 monotherapy, and ipilimumab-nivolumab combination therapy. By explicitly separating melanoma-related mortality from age-, sex-, and year-related background mortality, the model provides patients, especially older patients, with a more complete perspective on their survival probabilities. The model demonstrated robust calibration at 1, 2, and 5 years post-treatment initiation when data from different countries were assessed in external validations. A calculator was developed to present the model for individual patients.

This project demonstrates how large-scale, multinational real-world, such as the clinical registries used in the development of this model, have the potential to impact shared decision-making in the clinic through data-driven decision-support tools. This model represents an advancement in shared decision-making, offering a more nuanced and realistic perspective on survival in the era of modern immunotherapy and targeted therapy. This study is part of the 4D Picture project funded by HORIZON EU (grant number 101057332).

p12

Funding Statement:

Funded by the European Union under Horizon Europe Work Programme 101057332. Views and opinions expressed are however those of the author(s) only and do not necessarily reflect those of the European Union or the European Health and Digital Executive Agency (HaDEA). Neither the European Union nor the granting authority can be held responsible for them.

The UK team are funded under the Innovate UK Horizon Europe Guarantee Programme, UKRI Reference Number: 10041120.

Funded by the European Union

OBVLADOVANJE SIMPTOMOV ZGORNJIH PREBAVIL PO ODPREDPISOVANJU ZAVIRALCEV PROTONSKE ČRPALKE MED DIAGNOSTIKO PLJUČNEGA RAKA

Nuša Japelj[1,2], Zala Češarek[3], Nejc Horvat[1], Mitja Kos[1], Mojca Nastran[3], Lea Knez[1,3]

[1] *Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Katedra za socialno farmacijo, Ljubljana, Slovenija*
[2] *Lekarna Barsos, Ljubljana, Slovenija*
[3] *Lekarna, Klinika Golnik, Golnik, Slovenija*

Elektronski naslov: Lea.Knez@ffa.uni-lj.si

p13

Imunoterapija z zaviralci imunskih kontrolnih točk (ZIKT) je pomembno spremenila zdravljenje pljučnega raka, vendar je odziv omejen na del bolnikov, zato je pomembno optimizirati dejavnike, ki lahko vplivajo na učinkovitost zdravljenja. Uporaba zaviralcev protonske črpalke (ZPČ), zlasti v obdobju uvedbe ZIKT, je bila povezana s krajšim celokupnim preživetjem bolnikov z razsejanim nedrobnoceličnim pljučnim rakom (1–3). Diagnostična obravnava predstavlja priložnost za odpredpisovanje nepotrebnih ZPČ pred morebitno uvedbo sistemskega zdravljenja raka, pri čemer sta zaradi možnega pojava povratnih ali ponovnih simptomov zgornjih prebavil pomembna njihovo spremljanje in ustrezno obvladovanje.

Ocenili smo izvedljivost odpredpisovanja ZPČ pri hospitaliziranih bolnikih med diagnostično ali ponovno diagnostično obravnavo pljučnega raka ter pojav in obvladovanje simptomov zgornjih prebavil, o katerih so bolniki poročali po odpredpisovanju.

Izvedli smo prospektivno raziskavo izvedljivosti odpredpisovanja ZPČ med majem 2025 in januarjem 2026 na Kliniki Golnik. Vključili smo zaporedne hospitalizirane odrasle bolnike, sprejete zaradi suma na pljučnega raka ali ponovne diagnostične obravnave potrjenega pljučnega raka, ki so uporabljali ZPČ. Klinični farmacevt je na podlagi protokola presodil primernost za odpredpisovanje ZPČ in predlog uskladil z lečečim zdravnikom. Bolniki so prejeli individualiziran načrt, ki je bil dokumentiran tudi v odpustnem pismu, ter ustno in pisno svetovanje o možnih povratnih ali ponovnih simptomih zgornjih prebavil in njihovem obvladovanju. Izide, o katerih so poročali bolniki, smo spremljali s telefonskima pogovoroma 30 ± 7 in 90 ± 7 dni po intervenciji. Ocenili smo pojav simptomov zgornjih prebavil (zgaga, regurgitacija kisline, epigastrična bolečina), uporabljene farmakološke in nefarmakološke ukrepe ter sledenje predlaganemu načinu zdravljenja.

V raziskavo smo vključili 101 bolnika (mediana starosti 72 let, 59 moških), od katerih je bilo 66 (65 %) primernih za odpredpisovanje ZPČ. Po posvetu z lečečim zdravnikom je bilo odpredpisovanje ZPČ uvedeno pri 62 bolnikih (61 % vseh vključenih). Najpogostejša strategija je bila takojšnja ukinitev ZPČ pri 26 bolnikih, sledila sta zmanjšanje odmerka pri 19 in postopna ukinitev pri 16 bolnikih, pri enem pa uporaba ZPČ le po potrebi. Med 62 bolniki, pri katerih je bilo odpredpisovanje uvedeno, jih je ob vključitvi o simptomih zgornjih prebavil poročalo 9 (15 %). Po 30 dneh smo podatke pridobili za 55 bolnikov, predlaganemu načinu zdravljenja je sledilo 78 % bolnikov, o simptomih zgornjih prebavil pa je poročalo 20 (36 %; 95-% IZ 24–49 %), najpogosteje o zgagi (24 %), epigastrični bolečini (18 %) in regurgitaciji kisline (13 %). Hidrotalcit po potrebi je uporabljalo 29 %, ZPČ po potrebi 13 %, nefarmakološke ukrepe pa 33 % bolnikov, najpogosteje izogibanje prehranskim sprožilcem (22 %) in dvig vzglavja (15 %). Po 90 dneh smo podatke pridobili za 45 bolnikov, predlaganemu načinu zdravljenja je sledilo 69 % bolnikov, o simptomih je poročalo 16 (36 %; 95-% IZ 22–50 %), najpogosteje o zgagi (31 %), regurgitaciji kisline (20 %) in epigastrični bolečini (11 %). Hidrotalcit po potrebi je uporabljalo 33 %, ZPČ po potrebi 9 %, nefarmakološke ukrepe pa 44 % bolnikov, najpogosteje izogibanje prehranskim sprožilcem (38 %) in dvig vzglavja (27 %).

Odpredpisovanje ZPČ med diagnostično obravnavo pljučnega raka je bilo izvedljivo, večina bolnikov je sledila predlaganemu načinu zdravljenja. Simptomi zgornjih prebavil, ki so se pojavili pri približno tretjini bolnikov, so bili večinoma obvladljivi s hidrotalcitom po potrebi in nefarmakološkimi ukrepi. Svetovanje o pričakovanih simptomih, jasen načrt njihovega obvladovanja in spremljanje so ključni elementi varnega odpredpisovanja. Rezultati podpirajo zgodnjo presojo potrebe po ZPČ, kar lahko omogoči njihovo odpredpisovanje še pred morebitno uvedbo sistemskega zdravljenja, tudi ZIKT.

Literatura

1. Routy B, et al. Gut microbiome influences efficacy of PD-1-based immunotherapy against epithelial tumors. Science. 2018;359(6371):91–7.
2. Chalabi M, et al. Efficacy of chemotherapy and atezolizumab in patients with non-small-cell lung cancer receiving antibiotics and proton pump inhibitors: pooled post hoc analyses of the OAK and POPLAR trials. Ann Oncol. 2020;31(4):525–31.
3. Japelj N, et al. Timing and intensity of proton pump inhibitor exposure hampers overall survival in patients with metastatic non-small cell lung cancer treated with immune checkpoint inhibitors: a retrospective cohort study. Front Immunol. 2026;17.

p13

VZPOSTAVITEV CELIČNE LINIJE IZ CIRKULIRAJOČIH TUMORSKIH CELIC MIŠJEGA MODELA RAKA DOJK 4T1 IN KARAKTERIZACIJA NJENEGA TRANSKRIPTOMA

Veronika Škrjanc[1], Maja Čemažar[1,2,3], Boštjan Markelc[1,4], Simona Kranjc Brezar[1,2], Živa Pišljar[1,2], Cvetka Grašič Kuhar[1,2], Simona Miceska[1,2], Veronika Kloboves Prevodnik[1,2,5], Tanja Jesenko[1,2]

[1] *Onkološki inštitut Ljubljana, Ljubljana, Slovenija*
[2] *Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Ljubljana, Slovenija*
[3] *Univerza na Primorskem, Fakulteta za vede o zdravju, Izola, Slovenija*
[4] *Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Ljubljana, Slovenija*
[5] *Univerza v Mariboru, Medicinska fakulteta, Maribor, Slovenija*

Elektronski naslov: tjesenko@onko-i.si

p14

Cirkulirajoče tumorske celice (CTC) so tumorske celice, ki se odcepijo od tumorske mase in potujejo po krvnem obtoku. So vmesni člen v procesu zasevanja, saj lahko ob prihodu v oddaljeno tkivo izstopijo iz krvnega obtoka in tvorijo zasevek. Raziskave in karakterizacija CTC bi zato lahko vodile v odkritje molekularnih mehanizmov zasevanja, ki bi jih lahko ciljali z zdravljenjem. Zaradi redkosti CTC v krvi (1-10 CTC na mL krvi) in omejenih možnosti namnoževanja ex vivo, je njihova karakterizacija zelo otežena. Na Onkološkem inštitutu Ljubljana smo vzpostavili primerne predklinične modele CTC pri raku dojk, kar nam omogoča uspešno izolacijo teh celic. Namen raziskave je zato bil izolirati in vzpostaviti celično linijo CTC tumorskih celic 4T1, pridobljeno iz mišje krvi, ter raziskati njen transkriptomski profil v primerjavi z izvorno tumorsko celično linijo.

CTC smo izolirali iz mišje krvi, ki smo jo odvzeli s punkcijo srca golim imunsko oslabljenim mišim z nasajenim ortotopičnimi tumorji IVISbrite 4T1 Red F-luc-GFP v maščobnem tkivu mlečne žleze. CTC smo izolirali s sistemom Parsortix®, ki temelji na izolaciji večjih in manj stisljivih celic v primerjavi s krvnimi. Izolirane celice smo gojili ex vivo in vzpostavili celično linijo 4T1 CTC-w8. Identiteto celic smo potrdili s fluorescenčnim slikanjem, saj celice izražajo reporterski zeleni fluorescenčni protein (GFP). Značilnosti rasti celic smo ovrednotili s testom metabolne aktivnosti PrestoBlue. Za primerjavo izražanja genov med 4T1 CTC-w8 in izvorno celično linijo smo izvedli sekvenciranje celokupne RNA (bulk RNA-seq).

Celice 4T1 CTC-w8 so imele značilno povečano proliferativno sposobnost in krajši čas podvojitve v primerjavi z izvornimi celicami (0,88 ± 0,13 dneva v primerjavi z 1,25 ± 0,05 dneva). S transkriptomsko analizo smo identificirali 1163 genov s povečanim in 1587 genov z zmanjšanim izražanjem v celicah CTC-w8. Med geni z najbolj povečanim izražanjem so bili Adgrf5, Gpnmb, Dmpk, Mgat3 in Mxra8, ki so povezani s signalizacijo adhezijskih receptorjev, preoblikovanjem zunajceličnega matriksa in organizacijo citoskeleta. Analiza genske ontologije (GO) je pokazala obogatitev bioloških procesov, povezanih z organizacijo zunajceličnega matriksa, aksonogenezo ter zunanjo stranjo plazemske membrane. Analiza signalnih poti po zbirki KEGG je pokazala obogatitev poti interakcij med zunajceličnim matriksom in receptorji, fokalne adhezije, molekul celične adhezije ter usmerjanja aksonov.

Naši rezultati so pokazali, da smo uspešno vzpostavili celično linijo CTC raka dojk s pospešeno celično delitvijo in obogatitvijo transkriptomskih poti, ki so povezane z biološkimi procesi razsoja tumorja. Vzpostavljena celična linija tako predstavlja nov in relevanten predklinični model za nadaljnje preučevanje biologije CTC ter identifikacijo in funkcionalno vrednotenje potencialnih terapevtskih tarč, povezanih z metastatskim razsojem.

VPLIV ELEKTROKEMOTERAPIJE (ECT) NA IZRAŽANJE MIOKINA IL-6 MED MIOGENEZO CELIC C2C12 *IN VITRO*

Mihaela Jurdana[1], Maja Čemažar[1,2,3], Simona Kranjc Brezar[2,3], Ajda Medved[2,3], Gregor Serša[2]

[1] *Fakulteta za vede o Zdravju, Univerza na Primorskem, Izola, Slovenija*

[2] *Onkološki Inštitut Ljubljana, Oddelek za eksperimentalno onkologijo, Ljubljana, Slovenija*

[3] *Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Ljubljana, Slovenija*

Elektronski naslov: mihaela.jurdana@upr.si

Elektrokemoterapija (ECT) je lokalna terapevtska metoda za zdravljenje različnih solidnih tumorjev. Temelji na kombinaciji citotoksičnih učinkovin in elektroporacije, s katero povečamo prepustnost celične membrane in posledično vnos učinkovin v tumorske celice. Čeprav je ECT primarno usmerjena v tumorsko tkivo, lahko električni pulzi in citotoksične učinkovine vplivajo tudi na okoliška tkiva, vključno s skeletnim mišičnim tkivom. Vpliv ECT na skeletne mišične celice med miogenezo ter z njimi povezani celični mehanizmi doslej niso bili raziskani, nastajanjem in razvojem mišičnih celic *in vitro*. Miogeneza je kompleksen proces nastanka, diferenciacije in zorenja mišičnih celic, ki vključuje prehod proliferirajočih, nediferenciranih mioblastov v diferencirane večjedrne mišične cevčice. Diferenciacijo celic C2C12 smo *in vitro* inducirali z zamenjavo proliferacijskega gojišča z diferenciacijskim, s čimer smo zmanjšali koncentracijo rastnih dejavnikov in spodbudili prehod proliferirajočih mioblastov v diferencirane večjedrne mišične cevke. Namen raziskave je bil zato ovrednotiti učinke ECT na mišjo celično linijo skeletnih mišic C2C12 med miogenezo *in vitro*.

Najprej smo z barvanjem s propidijevim jodidom (PI) ovrednotili učinkovitost elektroporacije in viabilnost C2C12 pri različnih jakostih električnega polja (200–1300 V/cm). Z uporabo optimiziranega protokola električnih pulzov smo nato proučevali vpliv ECT v kombinaciji s citotoksičnima učinkovinama bleomicin oziroma cisplatin na preživetje celic C2C12 med njihovo diferenciacijo iz mioblastov v mišične cevke. Testirali smo različne koncentracije bleomicina (0,14–14.000 nM) in cisplatina (5–200 μM), preživetje celic pa smo določili pet dni po izvedbi ECT. Dodatno smo ovrednotili vpliv ECT na proliferacijo in diferenciacijo mioblastov. Diferenciacijo smo spremljali z določanjem izražanja acetilholinskih receptorjev (AChR) z imunocitokemijskim oziroma imunofluorescenčnim barvanjem, izločanje interlevkina 6 (IL-6) v celični medij pa smo določili z encimsko-imunskim testom (ELISA).

Rezultati so pokazali, da ECT v kombinaciji z bleomicinom ali cisplatinom zmanjša viabilnost celic C2C12, pri čemer je bil učinek odvisen od uporabljene koncentracije citotoksične učinkovine. Nediferencirani mioblasti so se izkazali za občutljivejše na ECT v primerjavi z diferenciranimi cevčicami. Tri dni po izvedbi ECT smo zaznali povečano izločanje IL-6 samo v zgodnjih, 3-5 dni rastočih cevčicah, kar nakazuje, da lahko ECT vpliva na vnetno signaliziranje v zgodnjih fazah miogeneze.

Dobljeni preliminarni rezultati kažejo, da lahko ECT *in vitro* vpliva na skeletne mišične celice, pri čemer so nediferencirani, razvijajoči se mioblasti bolj občutljivi od diferenciranih cevčic. Povečano izločanje IL-6 po ECT nakazuje spremembe v zgodnjih fazah razvoja mišičnih celic. Ugotovitve prispevajo k boljšemu razumevanju vpliva ECT na skeletno mišično tkivo in opredelitvi lokalnega varnostnega profila v primerih, ko se tumor nahaja v neposredni bližini skeletnih mišic.

Literatura:

1. Kranjc Brezar S, et al. Effect of electrochemotherapy on myogenesis of mouse C2C12 cells *in vitro*.Bioelectrochem.2023;153:108487. doi: 10.1016/j.bioelechem.2023.108487.

p15

SARKOPENIČNA DEBELOST PRI BOLNIKIH Z RAKOM

Mihaela Jurdana[1], Maja Čemažar[1,2]

[1] *Fakulteta za vede o Zdravju, Univerza na Primorskem, Izola, Slovenija*
[2] *Onkološki Inštitut Ljubljana, Oddelek za eksperimentalno onkologijo, Ljubljana, Slovenija*

Elektronski naslov: mihaela.jurdana@upr.si

p16

Sarkopenična debelost je kompleksno klinično stanje, za katero je značilna sočasna prisotnost povečanega deleža telesnega maščevja ter progresivnega upada skeletne mišične mase, mišične moči in/ali telesne zmogljivosti, kar opredeljujemo kot sarkopenijo. Nastane kot posledica prepletanja presnovnih, hormonskih, vnetnih in funkcionalnih sprememb, pogosto povezanih s staranjem in debelostjo. Sarkopenija je pri bolnikih z rakom pogosta in povezana z več zapleti zdravljenja, daljšo hospitalizacijo ter krajšim preživetjem. Ker se razširjenost sarkopenije in debelosti po svetu povečuje, sarkopenična debelost predstavlja vse večji zdravstveni problem tudi pri bolnikih z rakom. Povečana količina visceralnega maščevja lahko dodatno prispeva k izgubi mišične mase in mišične funkcije ter razvoju sarkopenije. Visceralno maščevje je presnovno aktivno tkivo in izloča različne provnetne dejavnike, ki spodbujajo proteolizo ter s tem prispevajo k izgubi mišične mase. Pri presežku maščobnega tkiva se lahko maščoba kopiči tudi v skeletnih mišicah, kar imenujemo miosteatoza. Vnetni in presnovni vplivi maščobnega tkiva dodatno pospešujejo izgubo mišične mase in zmanjšujejo mišično funkcijo. Sočasna prisotnost sarkopenije in debelosti lahko povzroči medsebojno potenciranje njunih škodljivih učinkov ter dodatno vpliva na zdravstvene izide. Dokazano je, da je sarkopenična debelost povezana s slabšimi izidi zdravljenja, daljšim trajanjem hospitalizacije, večjo telesno oviranostjo in krajšim preživetjem pri različnih vrstah raka. Z njenim razvojem in karcinogenezo so povezani različni mehanizmi, med drugim inzulinska rezistenca, povečana proteoliza, miosteatoza, kronično vnetje, oksidativni stres, lipotoksičnost ter spremenjeno izražanje adipokinov in miokinov. Za opredelitev sarkopenične debelosti se uporabljajo različne metode ocenjevanja telesne sestave in mišične funkcije. Telesno sestavo lahko ocenjujemo z dvoenergijsko rentgensko absorpciometrijo (DXA) in bioelektrično impedančno analizo (BIA), medtem ko računalniška tomografija (CT) in magnetna resonanca (MRI) omogočata natančnejšo oceno telesne sestave. Pri bolnikih z rakom je CT posebej uporaben, saj omogoča natančno oceno skeletne mišične mase z analizo prečnega preseka mišičnega tkiva na ravni tretjega ledvenega vretenca (L3), ki dobro korelira s celotno skeletno mišično maso. Zdravljenje sarkopenične debelosti pri bolnikih z rakom temelji na individualizirani prehranski in gibalni obravnavi, katere cilj je zmanjšanje maščobne mase s hkratnim ohranjanjem oziroma izboljšanjem mišične mase in funkcije. Glavna ukrepa sta ustrezen energijski in beljakovinski vnos ter telesna vadba, zlasti vadba proti uporu. Zaradi tveganja za izgubo puste telesne mase je pomembno redno spremljanje telesne sestave in funkcionalnega stanja bolnika. Celostna obravnava vključuje tudi ustrezno zdravljenje osnovne rakave bolezni ter obvladovanje z njo povezanih presnovnih in vnetnih dejavnikov.

Literatura

1. Jurdana M, Cemazar M. Sarcopenic obesity in cancer. Radiol Oncol. 2024 Feb 21;58(1):1-8. doi: 10.2478/raon-2024-0011.

VLOGA MELANOMSKEGA ANTIGENA MAGEC2 V GLIOBLASTOMU IN PROTITUMORSKEM IMUNSKEM ODZIVU

Vesna Jurjevič[1,2,3,4], Anamarija Habič[1], Tina Kolenc Milavec[1], Juan Solano[3,4], Sima Tozandehjani[3,4], Metka Novak[1], Barbara Breznik Vittori[1], Klementina Fon Tacer[3,4]

[1] *Nacionalni inštitut za biologijo, Oddelek za genetsko toksikologijo in biologijo raka, Ljubljana, Slovenija*

[2] *Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Ljubljana, Slovenija*

[3] *Texas Tech University School of Veterinary Medicine, Amarillo, Texas, USA*

[4] *Texas Center for Comparative Cancer Research (TC3R), Amarillo, Texas, USA*

Elektronski naslov: vesnajurjevic4@gmail.com

Glioblastomi (GBM) so izjemno agresivni možganski tumorji z zelo omejenimi možnostmi zdravljenja (1). Ključno oviro predstavljajo matičnim celicam podobne glioblastomske celice (GSLC), ki se odlikujejo po visoki sposobnosti samoobnavljanja, učinkovitem popravljanju DNA in zmožnosti izogibanja imunskemu nadzoru (2). K njihovi visoki odpornosti na terapijo prispeva velika heterogenost GBM, saj obstajajo različni molekularni podtipi tumorja, pa tudi tumorsko mikrookolje je zelo heterogeno, kar dodatno otežuje zdravljenje in zahteva personaliziran pristop zdravljenja (3).

p17

Učinkovitost konvencionalnih oblik imunoterapije je pri GBM omejena. Naravne celice ubijalke (NCU) predstavljajo obetavno strategijo za obravnavo tumorskih celic, saj lahko prepoznajo in uničijo tudi odporne rakave celice. Njihova aktivnost je odvisna od fenotipa, ki se spreminja glede na komunikacijo s tumorskimi celicami (4).

Med potencialnimi tarčami imunoterapije izstopajo melanomski antigeni (MAGE), ki so bili odkriti leta 1991 (5). Pri evkariontih je družina genov MAGE evolucijsko ohranjena; iz enega gena pri nižjih evkariontih se je pri sesalcih razširila na približno 40 genov. Med njimi je MAGEC2 še posebej zanimiv, saj se izraža tudi v GBM (6).

Raziskali smo vlogo proteina MAGEC2 (melanomski antigenski protein C2), ki je bil prepoznan kot potencialna terapevtska tarča in uravnalec tumorske agresivnosti. V ta namen smo vzpostavili tri glioblastomske celične linije z izraženim MAGEC2. Z uporabo citotoksičnega testa smo ovrednotili, ali prisotnost MAGEC2 vpliva na učinkovitost prepoznave in eliminacijo tumorskih celic z NCU. Nadalje smo s testom klonogenosti ocenili vpliv MAGEC2 na preživetje celic po ionizirajočem obsevanju.

Rezultati so pokazali, da MAGEC2 modulira občutljivost glioblastomskih celic na citotoksičnost NCU, pri čemer je učinek odvisen od posamezne celične linije, kar nakazuje njegovo vlogo pri izogibanju prirojenemu protitumorskemu imunskemu odzivu (7). Poleg tega so celice, ki izražajo MAGEC2, izkazovale večjo odpornost na obsevanje, kar kaže na vlogo proteina pri razvoju radioodpornosti. Ti izsledki podpirajo nadaljnje raziskave MAGEC2 kot terapevtske tarče in nakazujejo, da bi kombinacija z na MAGEC2 usmerjenimi pristopi imunoterapije in radioterapije lahko izboljšala zdravljenje glioblastoma (7).

Literatura

1. Lah TT, et al. 2020. Brain malignancies: Glioblastoma and brain metastases. Seminars in Cancer Biology, 60: 262–273, https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2019.10.010
2. Huang Z, et al. 2010. Cancer stem cells in glioblastoma—molecular signaling and therapeutic targeting. Protein & Cell, 1, 7: 638–655, https://doi.org/10.1007/s13238-010-0078-y
3. Guan R., et al. 2020. Glioblastoma stem cells and Wnt signaling pathway: molec ular mechanisms and therapeutic targets. Chinese Neurosurgical Journal, 6: 25, https://doi.org/10.1186/s41016-020-00207-z

4. Breznik B, et al. 2022. Infiltrating natural killer cells bind, lyse and increase chemotherapy efficacy in glioblastoma stem-like tumorospheres. Communications Biology, 5, 1: 436, https://doi.org/10.1038/s42003022-03402-z
5. Van Der Bruggen P, et al. 1991. A Gene Encoding an Antigen Recognized by Cytolytic T Lymphocytes on a Human Melanoma. Science, 254, 5038: 1643–1647, https://doi.org/10.1126/science.1840703
6. Florke Gee R. R., et al. 2020. Emerging roles of the MAGE protein family in stress response pathways. Journal of Biological Chemistry, 295, 47: 16121–16155, https://doi.org/10.1074/jbc.REV120.008029
7. Jurjevič V, 2025, Vloga melanomskega antigena MAGEC2 v glioblastomu in protitumorskemu imunskemu odzivu. Magistrsko delo. V. Jurjevič. https://hdl.handle.net/20.500.12556/RUL-176391

p17

SOČASNA ELEKTROPORACIJA ZA KOMBINIRANO ELEKTROKEMOTERAPIJO IN GENSKI ELEKTROPRENOS IL-12 KOT PRISTOP K *IN SITU* VAKCINACIJI TUMORJEV

Urška Kamenšek[1,2,3], Urša Lampreht Tratar[1,2,4], Katja Uršič Valentinuzzi[1,2], Špela Kos Dolenc[1,2], Maja Čemažar[1,2,5], Gregor Serša[1,2,6,]

[1] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za eksperimentalno onkologijo, Ljubljana, Slovenija*
[2] *Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Ljubljana, Slovenija*
[3] *Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Ljubljana, Slovenija*
[4] *Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Ljubljana, Slovenija*
[5] *Univerza na Primorskem, Fakulteta za vede o zdravju, Izola, Slovenija*
[6] *Univerza v Ljubljani, Zdravstvena fakulteta, Ljubljana, Slovenija*

Elektronski naslov: ukamensek@onko-i.si

p18

Elektrokemoterapija (EKT) je uveljavljena lokalna ablativna metoda zdravljenja tumorjev, pri kateri z elektroporacijo povečamo vnos citostatikov, predvsem bleomicina (BLM) in cisplatina (CDDP), v tumorske celice. Poleg neposrednega citotoksičnega učinka lahko EKT spodbuja sproščanje tumorskih antigenov in aktivacijo imunskega odziva, vendar pogosto ne zadostuje za vzpostavitev učinkovitega sistemskega protitumorskega imunskega odziva. Elektroporacijo lahko uporabimo tudi za genski elektroprenos (GEP) plazmidne DNA (pDNA), ki kodira imunološke adjuvanse, kot je interlevkin-12 (IL-12). Kombinacija EKT in GEP IL-12 bi tako lahko z lokalnim sproščanjem tumorskih antigenov in sočasno stimulacijo imunskega sistema delovala kot *in situ* vakcinacija (1). Ker je mogoče za obe terapiji uporabiti enake elektroporacijske pulze (2), bi njuna sočasna izvedba lahko poenostavila kombinirano zdravljenje. Ker pa BLM in CDDP delujeta prek interakcij z DNA, lahko neposredna izpostavljenost vpliva na integriteto pDNA in posledično na izražanje terapevtskega gena. Namen raziskave je bil ovrednotiti vpliv BLM in CDDP na pDNA ter določiti, ali sočasna elektroporacija citostatika in pDNA vpliva na učinkovitost transfekcije *in vitro* in protitumorsko učinkovitost kombiniranega zdravljenja *in vivo*.

Vpliv različnih koncentracij BLM in CDDP na integriteto in topologijo pDNA smo ovrednotili z gelsko elektroforezo. Učinkovitost transfekcije smo določili v celicah mišjega melanoma B16-F10 po sočasni elektroporaciji (8 x 1000 V/cm, 100us, 1Hz) citostatika in pDNA z zapisom za IL-12 oziroma fluorescenčni reporterski protein. Izražanje transgenov smo ovrednotili na ravni mRNA z RT-qPCR in z merjenjem fluorescence reporterskega proteina, citotoksičnost pa s testom PrestoBlue. Protitumorsko učinkovitost kombiniranega zdravljenja *in vivo* smo proučevali na podkožnih tumorjih B16-F10 na singenih miših C57BL/6 (št. dovoljenja: U34401-3/2022/1). Uporabili smo intratumorsko apliciran CDDP (40 μg) oziroma intravensko apliciran BLM (10 μg) ter intratumorsko apliciran plazmid pORF-mIL-12-ORT (20 μg), čemur je sledila elektroporacija (8 x 1000 V/cm, 100us, 1Hz). Učinek zdravljenja smo ovrednotili s spremljanjem rasti tumorjev in popolnih odgovorov na zdravljenje.

BLM in CDDP sta povzročila od koncentracije odvisne spremembe pDNA, pri čemer je BLM povzročil predvsem njeno fragmentacijo, CDDP pa spremembe topologije. Kljub zaznanim spremembam pDNA sočasna elektroporacija citostatika in pDNA *in vitro* ni pomembno zmanjšala izražanja transgena v primerjavi z GEP pDNA brez citostatika. Sočasni elektroprenos pDNA je dodatno zmanjšal preživetje tumorskih celic v primerjavi z EKT. *In vivo* je kombinacija EKT in GEP pDNA z zapisom za IL-12, izvedena s sočasno elektroporacijo, izboljšala protitumorski učinek in delež popolnih ozdravitev v primerjavi s samo EKT in samim GEP. Sama EKT s CDDP ali BLM ni povzročila popolnih ozdravitev, kombinirana terapija pa je privedla do popolnega odgovora pri 83 % miši v skupini s CDDP in 67 % miši v skupini z BLM.

Čeprav BLM in CDDP povzročata spremembe pDNA, te niso pomembno zmanjšale učinkovitosti izražanja transgena po sočasni elektroporaciji. Rezultati kažejo, da je mogoče EKT in GEP IL-12 združiti v en elektroporacijski postopek, pri čemer se ohrani učinkovitost genskega prenosa in izboljša protitumorski učinek. Takšen pristop poenostavi izvedbo kombiniranega zdravljenja ter predstavlja osnovo za nadaljnji razvoj *in situ* vakcinacije tumorjev in njeno translacijo v klinično uporabo.

Literatura

1. Sersa G, et al. Electrochemotherapy of tumors as *in situ* vaccination boosted by immunogene electrotransfer. Cancer Immunol Immunother. 2015;64(10):1315–27.
2. Omerzel M, et al. Efficient gene transfer by pulse parameters for electrochemotherapy of cells *in vitro* and in muscle and melanoma tumors in mice. Radiol Oncol. 2025;59(2):203–12.

p18

HOW PATIENT PARTNERSHIP CAN SHAPE THE FUTURE OF CANCER CARE: AN IRISH CANCER SOCIETY PERSPECTIVE

Claire Kilty

Irish Cancer Socity, Dublin, Republic of Ireland

Elektronski naslov: ckilty@irishcancer.ie

At the Irish Cancer Society, we are committed to putting patients, survivors, families, carers, supporters and the public at the heart of everything we do. We believe that people affected by cancer bring unique expertise through their lived experience and should play a meaningful role in the decisions that impact their care, treatment and quality of life. Through our patient partnership work, the Irish Cancer Society has developed a model that places people affected by cancer at the centre of decision-making across the entire cancer continuum, recognising that patients are not simply recipients of care but active partners in shaping the future of cancer services.

At the forefront of this work has been our commitment to fund Ireland's first Patient Partnership Lead at Trinity St James's Cancer Institute. This pioneering senior leadership role was established to embed meaningful patient involvement across all pillars of an OECI Comprehensive Cancer Centre, including research, education, clinical care and support services. The programme aims to ensure that patient perspectives influence decision-making across the entire cancer journey, from diagnosis and treatment within the acute hospital setting through to survivorship and supportive care.

This presentation will explore how patient partnership can strengthen cancer care, research and outcomes through practical examples from the Irish Cancer Society's work, including our long-standing collaboration with Trinity St James's Cancer Institute. Other examples will include our support for patient involvement in the clinical trial prioritisation processes through our partnership with Cancer Trials Ireland, ensuring that the clinical trials being approved nationally reflects the needs and priorities of people affected by cancer in Ireland. The presentation will also showcase how co-led and patient-centred real-world initiatives can be utilised to improve quality of life, survivorship and the patient experience.

Drawing on these experiences, this talk will demonstrate how meaningful patient partnership can influence decision-making at every stage of the cancer pathway, resulting in more relevant research, more person-centred care and ultimately better outcomes for people affected by cancer.

KLASIFIKACIJA PRIMARNIH DIFUZNIH VELIKOCELIČNIH B-CELIČNIH LIMFOMOV DOJKE: ALI SODIJO MED LIMFOME IMUNOLOŠKO PRIVILEGIRANIH MEST?

Marjeta Kokelj[1], Panna Dora[2], Veronika Kloboves Prevodnik[1,3], Lučka Boltežar[4,5], Alexandar Tzankov[6], Gorana Gašljević[2,3]

[1] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za citopatologijo, Ljubljana, Slovenija /*
[2] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za patologijo, Ljubljana, Slovenija*
[3] *Univerze v Mariboru, Medicinska fakulteta, Maribor, Slovenija*
[4] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za medicinsko onkologijo, Ljubljana, Slovenija*
[5] *Univerze v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Ljubljana, Slovenija*
[6] *Univerza v Baslu, Inštitut za medicinsko genetiko in patologijo Basel, Univerzitetna bolnišnica Basel, Švica*

Elektronski naslov: mkokelj@onko-i.si

p20

Primarni limfomi dojke predstavljajo manj kot 1% vseh malignomov dojke, pri čemer je najpogostejši podtip primarni difuzni velikocelični B-celični limfom dojke (angl. primary breast diffuse large B-cell lymphoma; PB-DLBCL). Gre za agresivno bolezen, ki je bila doslej v literaturi razmeroma slabo opisana. Da bi v prihodnje omogočili njegovo uvrstitev v skupino velikoceličnih B-limfomov imunološko privilegiranih mest (IP-LBCL), je potrebno zbrati dodatne podatke o kliničnopatoloških in molekularnih značilnostih PB-DLBCL ter značilnostih njihovega tumorskega mikrookolja (TME).

Iz podatkovne baze Oddelka za patologijo OIL smo identificirali bolnice z PB-DLBCL v obdobju 2002-2024. Klinične podatke smo poiskali v bazi Web.Doctor. Tkivni vzorci PB-DLBCL, fiksirani v formalinu in vklopljeni v parafin (FFPE), so bili obsežno analizirani z imunohistokemičnimi barvanji (CD20, CD10, CD5, CD30, c-MYC, BCL2, BCL6, MUM-1, pSTAT3, pSTAT5, EBV, MIB-1) in fluorescenčno *in situ* hibridizacijo (FISH) (za MYC, BCL2, BCL6, IRF4, lokus 9p24.1). Preživetje brez napredovanja bolezni (angl. progress free surival, PFS) je bilo opredeljeno kot čas od zaključka zdravljenja do napredovanja bolezni ali smrti zaradi katerega koli vzroka. Celokupno preživetje (angl. overall survival, OS) je bilo opredeljeno kot čas od postavitve diagnoze do smrti zaradi katerega koli vzroka. Za primerjavo preživetja je bil uporabljen log-rank test, za oceno vpliva posameznih parametrov na preživetje pa Coxova regresijska analiza. Podatki o statusu preživetja so bili upoštevani do dne 29. april 2026. Analize tumorskega mikrookolja in mutacij gena MYD88 še potekajo.

V raziskavo je bilo vključenih 15 bolnic, pri katerih je bil med letoma 2002 in 2024 na Onkološkem Inštitutu Ljubljana diagnosticiran PB-DLBCL. Ob času analize je bilo živih še 6 bolnic (40,0 %). Po Hansovem algoritmu je bilo 9 primerov uvrščenih v tip GC; vendar je 8 do 9 CD10+ primerov izražalo tudi MUM1 in BCL-6 (trojno pozitivni, TP). Zaradi omejene količine razpoložljivega tkiva pri vseh tumorskih vzorcih ni bilo mogoče opraviti analize genskih translokacij. Translokacija gena MYC je bila ugotovljena pri 3 bolnicah (3/13), translokacije gena BCL2 niso ugotovili pri nobeni bolnici (0/10), translokacija gena BCL6 pa je bila ugotovljena pri 2 bolnicah (2/9), od tega v enem primeru v kombinaciji z MYC translokacijo.

Kemoterapijo v kombinaciji z rituksimabom je prejelo 87 % bolnic, 79 % bolnic pa je prejelo tudi intratekalni metotreksat. Mediani čas spremljanja je znašal 83 mesecev (razpon 19–235 mesecev). Petletno PFS pri zdravljenih bolnicah je znašalo 76,2 % (95 % IZ: 64,0–88,4 %). Petletno OS v celotni skupini je znašalo 76,0 % (95 % IZ: 63,8–88,2 %), petletno preživetje specifično za limfom pa 84,4 % (95 % IZ: 74,2–94,6 %). Sekundarnega raka dojke nismo ugotovili pri nobeni bolnici. Vrednost indeksa IPI ni statistično značilno vplivala na OS (p=0,314). Prav tako velikost tumorja nad 7 cm ni vplivala na OS (p=0,833). Mediana proliferacijskega indeksa Ki-67 je znašala 90 % (razpon 80–100 %). Vrednost Ki-67 ni vplivala na OS (p=0,987), prav tako ne translokaciji genov MYC oz. BCL6

(p=0,346 oz. p=0,853). Pri nobeni bolnici nismo ugotovili napredovanja bolezni v osrednje živčevje.

PB-DLBCL je redka in agresivna bolezen, vendar je ob zgodnjem odkritju, temeljiti histopatološki opredelitvi in ustreznem zdravljenje mogoče doseči ugodne izide zdravljenja. Naši dosedanji rezultati kažejo na prevlado tipa GC po Hansovem algoritmu, kar je za entitete IP-LBCL zelo neobičajno; vendar je večina teh primerov izkazovala močno in difuzno izražanje MUM1. Za potrditev ali ovržbo domneve, da PB-DLBCL sodi med limfome imunološko privilegiranih mest, so potrebne nadaljnje, predvsem molekularne raziskave limfoma in TME na večjih kohortah bolnic.

PERSONALIZIRANI TUMORSKI AVATARJI RAZKRIVAJO TERAPEVTSKI POTENCIAL TRAMETINIBA PRI METASTATSKEM GLIOBLASTOMU

Metka Novak[1,2], Bernarda Majc[1], Marija Skoblar Vidmar[3,4], Špela Kladnik[1], Tina Kolenc Milavec[1,5], Anamarija Habič[1,5], Simona Katrin Galun[1,5], Pia Žižek[1,5], Andrej Porčnik[6], Alenka Matjašič[7], Andrej Zupan[7], Miha Jerala[7], Matic Bošnjak[7], Borut Prestor[6], Barbara Breznik Vittori[1,8]

[1] *Nacionalni inštitut za biologijo, Oddelek za genetsko toksikologijo in biologijo raka, Ljubljana, Slovenija*
[2] *Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Ljubljana, Slovenija*
[3] *Onkološki inštitut Ljubljana, Ljubljana, Slovenija*
[4] *Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Ljubljana, Slovenija*
[5] *Mednarodna podiplomska šola Jožefa Stefana, Ljubljana, Slovenija*
[6] *Univerzitetni klinični center Ljubljana, Oddelek za nevrokirurgijo, Ljubljana, Slovenija;*
[7] *Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Inštitut za patologijo, Ljubljana, Slovenija;*
[8] *Univerza v Ljubljani, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Ljubljana, Slovenija*

Elektronski naslov: barbara.breznik@nib.si; tina.kolenc.milavec@nib.si

p21

Pri glioblastomu (GB), ki ostaja eden izmed najagresivnejših in najsmrtonosnejših oblik raka pri človeku, so izvenmožganske metastaze izjemno redke in slabo raziskane. Standardno zdravljenje, ki vključuje maksimalno kirurško resekcijo glavne tumorske mase in ji sledi radiokemoterapija, podaljša preživetje bolnikov le za nekaj mesecev, terapevtske možnosti za zdravljenje metastatskega GB pa so trenutno omejene.

Vzorec GB z izvenmožganskimi metastazami je bil pridobljen v okviru Gliobanke Nacionalnega inštituta za biologijo (NIB) z ustreznim etičnim soglasjem in informiranim pristanku bolnika. Redek klinični primer smo najprej molekularno karakterizirali ter na tumorskih avatarjih, vzpostavljenih iz tumorskega tkiva, raziskali možnosti tarčnega zdravljenja za ta metastatski GB. Obravnavani tumor je izkazoval več molekularnih značilnosti, povezanih z agresivnim potekom bolezni, vključno z mutacijami v tumorsupresorskih genih *NF1, TP53, PTEN in RB1*, profilom metilacije DNA, značilnim za mezenhimski podtip GB, ter aktivacijo signalne poti MAPK. Za funkcionalno ovrednotenje terapevtskega potenciala pri tem metastatskem GB smo vzpostavili tumorske modele iz primarnih tumorskih celic, izoliranih iz bolnikovega tumorja, in njihove asembloide s cerebralnimi organoidi. Ti asembloidi so po eni strani ohranjali ključne biološke značilnosti bolnikovega tumorja, po drugi strani pa omogočali modeliranje interakcij tumorja z mikrookoljem zdravih človeških možganov.

V naši raziskavi se je kot obetavna terapevtska učinkovina za zdravljenje preučevanega primera metastatskega GB izkazal zaviralec MEK trametinib, ki je v personaliziranih tumorskih avatarjih selektivno zmanjšal preživetje ter invazivni potencial izjemno agresivnih GB celic z značilnostmi rakavih matičnih celic.

Naši rezultati kažejo, da zaviranje signalne poti MEK predstavlja obetavno terapevtsko tarčo za omejevanje agresivnega širjenja na temozolomid odpornega metastatskega GB. Ugotovitve obenem podpirajo nadaljnji razvoj personaliziranih, tarčnih in multimodalnih predkliničnih modelov in terapevtskih strategij za zdravljenje GB.

DOKAZI IZ REALNEGA SVETA: DEDNI RAK DOJK, REZULTATI DESETLETNE GENETSKE OBRAVNAVE BOLNIC IN BOLNIKOV Z RAKOM DOJK NA ONKOLOŠKEM INŠTITUTU LJUBLJANA

Mateja Krajc[1,2], Simona Hotujec[1], Ksenija Strojnik[1], Ana Blatnik[1,3], Barbara Stojanov[1], Iva Opalič[1], Vida Stegel[4,5]

[1] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za onkološko klinično genetiko, Ljubljana, Slovenija*
[2] *Univerza na Primorskem, Fakulteta za vede o zdravju, Slovenija*
[3] *Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Ljubljana, Slovenija*
[4] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za molekularno diagnostiko, Ljubljana, Slovenija*
[5] *Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Ljubljana, Slovenija*

Elektronski naslov: mkrajc@onko-i.si

Genetsko svetovanje in testiranje bolnic in bolnikov z rakom dojk omogoča prepoznavo zarodnih patogenih in verjetno patogenih različic v genih, povezanih z dedno predispozicijo za razvoj raka dojk. Rezultati testiranja imajo pomembne klinične implikacije za izbiro sistemskega in kirurškega zdravljenja, načrtovanje individualiziranih preventivnih ukrepov ter kaskadno testiranje krvnih sorodnikov. Z uvedbo sekvenciranja naslednje generacije (NGS) se je nabor analiziranih genov pomembno razširil, hkrati pa so se zaradi terapevtskih indikacij postopoma širila tudi merila za napotitev na genetsko testiranje in postopoma omogočala genetsko testiranje tudi posameznikom brez pozitivne družinske anamneze (1,2).

Namen raziskave je bil analizirati rezultate genetske obravnave bolnic in bolnikov z rakom dojk, obravnavanih na Oddelku za onkološko klinično genetiko in testiranih na Oddelku za molekularno diagnostiko Onkološkega inštituta Ljubljana v desetletnem obdobju 2015–2024, ter opredeliti delež pozitivnih izvidov glede na starost ob diagnozi, tumorski fenotip, družinsko anamnezo in izbrane klinične značilnosti.

Izvedli smo retrospektivno analizo napotenih bolnic in bolnikov z rakom dojk na Oddelek za onkološko klinično genetiko med januarjem 2015 in decembrom 2024. Analizirali smo klinične, patološke in genetske podatke, vključno s starostjo ob prvi diagnozi raka dojk, histološkim tipom, hormonskim in HER2-statusom, pojavom bilateralnega raka dojk ter družinsko anamnezo. Genetsko testiranje je bilo izvedeno z metodo NGS. Kot pozitiven izvid smo opredelili prisotnost zarodne patogene ali verjetno patogene različice (P/VPR) v genu, povezanem z dedno predispozicijo za raka dojk.

V obravnavanem obdobju je bilo napotenih 5504 posameznikov, genetsko testiranje pa je bilo opravljeno pri 5411. Med testiranimi je bilo 110 moških, kar je predstavljalo 2 % kohorte. Povprečna starost ob diagnozi prvega raka dojk je znašala 48,6 leta. Pri 10,7 % testiranih je bilo diagnosticiranih več primarnih rakov dojk. Skupno je bilo v analizi zajetih 6123 diagnoz raka dojk, od tega 5817 invazivnih karcinomov. Med testiranimi z invazivnim rakom dojk je bil pozitiven genetski izvid ugotovljen pri 20,6 %, pri tistih s karcinomom *in situ* pa pri 13,4 %. Pri 13 % vseh testiranih je bila ugotovljena P/VPR v genih *BRCA1* ali *BRCA2*. Največji delež testiranih je predstavljala skupina s hormonsko pozitivnim, HER2 negativnim rakom dojk (52,2 %), sledila je skupina s trojno negativnim rakom dojk (18 %). Med invazivnimi raki z znanim hormonskim in HER2 statusom je bil najvišji delež pozitivnih genetskih izvidov ugotovljen pri trojno negativnem raku dojk (34,5 %), najnižji pa pri HER2-pozitivnem raku dojk (11 %).

Negativno družinsko anamnezo rakavih bolezni je imelo 40 % testiranih. V tej skupini je bil pozitiven genetski izvid ugotovljen pri 12,1 % posameznikov. Tudi med testiranimi s hormonsko pozitivnim,

p22

HER2-negativnim rakom dojk in negativno družinsko anamnezo je delež pozitivnih presegal 10 %.

V podskupini testiranih z bilateralnim rakom dojk je bil pozitiven genetski izvid ugotovljen pri 20 % testiranih. Najpogosteje so bile v tej skupini ugotovljene P/VPR v genih *BRCA1, BRCA2, PALB2*, *ATM* in *CHEK2*. Pri hormonsko pozitivnem, HER2 negativnem raku dojk je bil pozitiven genetski izvid ugotovljen pri 17 % testiranih, od tega pri 10,1 % v genih *BRCA1* ali *BRCA2*. Najpogosteje so bile najdene P/VPR v genih *BRCA2, BRCA1* in *CHEK2*, ki so skupaj predstavljale približno 70 % pozitivnih izvidov v tej skupini. Pri HER2-pozitivnem raku dojk je bilo pozitivnih 11 % testiranih, najpogosteje so bile ugotovljene različice v genih *BRCA2, CHEK2* in *BRCA1*.

Analiza povezave med genotipom in tumorskim fenotipom je pokazala, da je imelo 69 % nosilcev P/VPR v genu *BRCA1* trojno negativni rak dojk. Pri nosilcih P/VPR v genih *BRCA2, CHEK2, PALB2* in *ATM* je prevladoval hormonsko pozitiven, HER2-negativen tumorski fenotip. Pri nosilcih P/VPR v genu RAD51C je bil trojno negativni rak dojk prisoten pri nekaj več kot polovici. Med nosilci P/VPR v genu *TP53* ni bilo trojno negativnih tumorjev, medtem ko je bil delež HER2-pozitivnih rakov 45 %.

Delež pozitivnih genetskih izvidov se je s starostjo praviloma zmanjševal, najvišji je bil pri testiranih, pri katerih je bil rak dojk diagnosticiran med 20. in 29. letom starosti. V skupini testiranih, starih 70–79 let ob diagnozi, je delež pozitivnih izvidov več kot 10 %. V desetletnem obdobju se je število napotitev na genetsko testiranje postopoma povečevalo, medtem ko se je čas od diagnoze raka dojk do genetskega svetovanja in testiranja skrajševal. V zadnjih treh letih analiziranega obdobja je mediani čas do genetskega svetovanja in testiranja znašal približno eno leto, pri večini testiranih s trojno negativnim rakom dojk pa je bilo genetsko svetovanje in testiranje v zadnjih dveh letih opravljeno že v letu postavitve diagnoze.

p22

Desetletna analiza genetskega svetovanja in testiranja bolnic in bolnikov z rakom dojk, ki so bili napoteni na genetsko obravnavo, kaže visok delež P/VPR, zlasti pri testiranih s trojno negativnim in bilateralnim rakom dojk. Klinično pomemben delež pozitivnih izvidov je bil ugotovljen tudi pri testiranih brez pozitivne družinske anamneze ter pri starejših starostnih skupinah, kar kaže na omejitve selekcije bolnikov, primernih za genetsko testiranje zgolj na podlagi družinske anamneze in starosti. Rezultati potrjujejo pomembno vlogo genetske obravnave za zarodne P/VPR pri celostni obravnavi bolnikov z rakom dojk. Genetski izvid in klinična interpretacija namreč vplivata na terapevtske odločitve, načrtovanje preventivnih ukrepov in spremljanje ter omogoča prepoznavo ogroženih krvnih sorodnikov s kaskadnim genetskim testiranjem.

V prihodnje bo smiselno opredeliti optimalno strategijo genetskega testiranja bolnic in bolnikov z rakom dojk. Med možnimi pristopi so univerzalno genetsko testiranje vseh z diagnozo raka dojk, strategija »najprej tumor« (tj. najprej genotipizacija tumorskega tkiva) ter dolgoročno možnost razmisleka o populacijskem genetskem presejanju. Rezultati naše analize podpirajo nadaljnjo širitev dostopnosti genetskega testiranja in presojo manj restriktivnih kriterijev za napotitev v naši populaciji in izpostavljajo pomen lastnih analiz pri načrtovanju ukrepov v prihodnje.

Literatura

1. National Comprehensive Cancer Network. Genetic/Familial High-Risk Assessment: Breast, Ovarian, Pancreatic, and Prostate. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Version 1.2027 [Internet]; 2026. Available from: https://www.nccn.org/guidelines/guidelines-detail?category=2&id=1545
2. Blatnik A, et al. Priporočila diagnostike in zdravljenja raka dojk. Ljubljana: Onkološki inštitut; 2021. Available from: https:// www.onko-i.si/priporocila

VZDRŽEVALNO ZDRAVLJENJE Z OLAPARIBOM V PRVI LINIJI PRI BOLNICAH Z NAPREDOVALIM RAKOM JAJČNIKOV: PODATKI IZ NAŠE KLINIČNE PRAKSE

Maja Krajec[1], Tina Kek[2], Vida Stegel[3], Erik Škof[4]

[1] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za ginekološko onkologijo, Ljubljana, Slovenija*
[2] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za klinično genetiko, Ljubljana, Slovenija*
[3] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za molekularno diagnostiko, Ljubljana, Slovenija*
[4] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za internistično onkologijo, Ljubljana, Slovenija*

E-mail: mkrajec@onko-i.si

Olaparib predstavlja standardno vzdrževalno zdravljenje v prvi liniji pri bolnicah z napredovalim seroznim rakom jajčnikov visokega gradusa s patogeno različico (PR) v genih *BRCA1/2*. Randomizirane klinične raziskave so pokazale pomembno podaljšanje preživetja brez napredovanja bolezni, vendar so bolnice v vsakodnevni klinični praksi bolj heterogena skupina od populacij, vključenih v klinične raziskave. Podatki iz resničnega okolja so pomembni za oceno trajanja zdravljenja, potrebe po prilagoditvah odmerka, pojavnosti neželenih učinkov ter razlogov za prekinitev vzdrževalnega zdravljenja. Namen raziskave je bil opisati potek in neželene učinke vzdrževalnega zdravljenja z olaparibom v prvi liniji pri bolnicah z napredovalim seroznim rakom jajčnikov visokega gradusa s PR v genih *BRCA1/2*, ki so bile zdravljene na Onkološkem inštitutu v Ljubljani.

V retrospektivno raziskavo smo vključili bolnice, zdravljene z olaparibom v monoterapiji po zaključenem kirurškem zdravljenju in kemoterapiji (KT) na osnovi platine v obdobju 2019-2023. Dodatna vključitvena kriterija sta bila FIGO stadij III ali IV ter dokazana zarodna ali somatska PR v genih *BRCA1/2*. Neželeni učinki so bili dokumentirani v skladu s skupnimi terminološkimi merili za neželene dogodke (angl. Common Terminology Criteria for Adverse Events, CTCAE), različica 5.0. Dodatno smo pridobili podatke o trajanju zdravljenja z olaparibom, razloge za zaključek ali predčasno prekinitev zdravljenja ter prilagoditvah odmerka. Podatke smo analizirali z opisno statistiko. Kategorijske spremenljivke smo prikazali s frekvencami in deleži, zvezne spremenljivke pa kot povprečje s standardnim odklonom oziroma mediano z interkvartilnim razponom (IQR), glede na porazdelitev podatkov.

V raziskavo je bilo vključenih 110 bolnic. Povprečna starost ob diagnozi je bila 61,1 ± 10,1 let. Pri 106 bolnicah (96,4 %) je bil histološko serozni rak jajčnikov visokega gradusa. Zarodna PR v genih *BRCA1/2* je bila ugotovljena pri 74 bolnicah (71,2 %), somatska pa pri 30 (28,8 %). Mediano trajanje vzdrževalnega zdravljenja z olaparibom je bilo 16,4 mesecev (IQR 16). Najpogostejša razloga za zaključek oziroma prekinitev zdravljenja sta bila načrtovan zaključek zdravljenja pri 54 bolnicah (51,9 %) in ponovitev bolezni pri 39 (37,5 %), medtem ko je bilo zdravljenje zaradi neželenih učinkov prekinjeno pri 9 bolnicah (8,7 %). Z zdravljenjem povezani neželeni učinki so bili zabeleženi pri 90 bolnicah (81,8 %). Povišane vrednosti serumskega kreatinina so bile ugotovljene pri 38 bolnicah (34,5 %), ledvična okvara pri 29 (26,4 %), trombocitopenija pri 26 (23,6 %) in nevtropenija pri 25 (22,7 %). Znižana koncentracija hemoglobina pod 120 g/L je bila zabeležena pri 80 bolnicah (72,7 %). Med simptomatskimi neželenimi učinki je bila najpogostejša utrujenost pri 15 bolnicah (13,6 %); slabost je bila zabeležena pri 6 (5,5 %), sočasna slabost in utrujenost pa pri 10 bolnicah (9,1 %). Prilagoditev odmerka olapariba z znižanjem je bila potrebna pri 17 bolnicah (15,5 %). Primerov febrilne nevtropenije nismo zabeležili.

Podatki iz naše klinične prakse kažejo, da pri večini bolnic med vzdrževalnim zdravljenjem z olaparibom v prvi liniji prilagoditev odmerka ni bila potrebna, predčasne prekinitve zdravljenja zaradi neželenih učinkov pa so bile redke. Najpogosteje so bile zabeležene laboratorijske spremembe ledvične

p23

funkcije in hematološki neželeni učinki. Rezultati dopolnjujejo podatke iz randomiziranih kliničnih raziskav z informacijami o dejanskem poteku zdravljenja z olaparibom v vsakodnevni klinični praksi ter poudarjajo pomen sistematičnega spremljanja in zgodnjega prepoznavanja neželenih učinkov. Nadaljnje raziskave bi lahko opredelile klinične dejavnike, povezane s potrebo po prilagoditvi odmerka ali predčasni prekinitvi zdravljenja, ter prispevale k bolj individualiziranemu spremljanju bolnic.

p23

VPLIV RADIOTERAPIJE NA MIOGENEZO IN SIGNALIZIRANJE MIOKINA IL-6 V MIŠIČNI CELIČNI LINIJI C2C12

Katja Kramberger[1], Ajda Medved[2], Mihaela Jurdana[1], Maja Čemažar[1,2]

[1] *Fakulteta za vede o zdravju, Univerza na Primorskem, Izola, Slovenija*

[2] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za eksperimentalno onkologijo, Ljubljana, Slovenija*

Elektronski naslov: mcemazar@onko-i.si

Radioterapija (RT) je eden temeljnih načinov zdravljenja različnih vrst raka, vendar lahko poleg tumorskega tkiva poškoduje tudi okoliška zdrava tkiva. Skeletne mišice, ki se pogosto nahajajo v neposredni bližini tumorskih mest, so zato lahko izpostavljene ionizirajočemu sevanju. Ionizirajoče sevanje povzroča zgodnje (akutne) in pozne (kronične) spremembe v mišičnem tkivu, ki lahko vplivajo na njegovo strukturo, funkcijo in regeneracijsko sposobnost. Učinki RT na izločanje in signaliziranje protivnetnih miokinov skeletnih mišic še niso bili podrobno raziskani. Namen te raziskave je bil ovrednotiti vpliv različnih odmerkov ionizirajočega sevanja (0–8 Gy) na miogenezo ter signaliziranje miokina IL-6 v mišični celični liniji C2C12 *in vitro*.

Mioblaste mišjih celic C2C12 (ATCC CRL-1772™) smo gojili v rastnem gojišču, sestavljenem iz DMEM z visoko vsebnostjo glukoze (HG), z dodatkom GlutaMAX™ (G) (DMEM HGG), ki smo mu dodali 10 % fetalnega govejega seruma (FBS) in 1 % penicilina–streptomicina (PS). Za indukcijo miogene diferenciacije smo mioblaste C2C12 2. dan gojenja *in vitro* (DIV) prenesli v diferenciacijsko gojišče (DM), sestavljeno iz DMEM HGG, ki smo mu dodali 2 % konjskega seruma (HS) in 1 % PS, s čimer smo sprožili diferenciacijo mioblastov v mišične cevčice. Diferenciacijo v mišične cevčice smo spremljali s svetlobno mikroskopijo. Celice C2C12 smo obsevali z odmerki ionizirajočega sevanja 2–8 Gy (Darpac 2000, Gulmay Medical Ltd.) tik pred dodatkom DM,ali po končani diferenciaciji v mišične cevčice, tj. 7. DIV. Količino IL-6 smo določili v supernatantu obsevanih mioblastov 4. in 7. DIV ter v supernatantu obsevanih mišičnih cevčic 9. DIV z uporabo encimsko-imunskega testa ELISA, skladno z navodili proizvajalca (komplet ab100712, Abcam).

Rezultati testa ELISA so pokazali, da 2 dni po RT izločanje IL-6 v mioblastih C2C12 ni bilo statistično značilno drugačno kot pri neobsevanih celicah. Po 5 dneh se je izločanje IL-6 statistično značilno povečalo sorazmerno z jakostjo ionizirajočega sevanja, medtem ko RT mišičnih cevčic na izločanje IL-6 ni imela statistično značilnega vpliva.

RT vpliva na miogenezo in signalizacijo IL-6 v mišičnih celicah na način, ki je odvisen od odmerka in stopnje diferenciacije. Naši rezultati nakazujejo, da je izločanje IL-6 največje v najmočneje obsevanih mioblastih C2C12 proti koncu diferenciacije v mišične cevčice. RT po diferenciaciji na izločanje IL-6 nima pomembnega vpliva. Spremembe signalizacije IL-6 lahko prispevajo k boljšemu razumevanju mehanizmov, s katerimi ionizirajoče sevanje vpliva na regeneracijo skeletnih mišic.

p24

VZPOSTAVITEV SPEKTRALNE PRETOČNE CITOMETRIJE ZA VISOKODIMENZIONALNO PROFILIRANJE IMUNSKEGA ODZIVA PO ELEKTROKEMOTERAPIJI TUMORJEV, PREDKLINIČNI MODEL

Simona Kranjc Brezar[1,2], Manon Gimbert[3], Elisabeth Bellard[3], Maja Čemažar[1,4], Marie-Pierre Rols[3], Tanja Jesenko[1,2], Masa Omerzel[1,2], Boštjan Markelc[1,5], Muriel Golzio[3]

[1] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za eksperimentalno onkologijo, Ljubljana, Slovenija*
[2] *Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Ljubljana, Slovenija*
[3] *Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale, Université de Toulouse, CNRS, Toulouse, Francija*
[4] *Univerza na Primorskem, Fakulteta za vede o zdravju, Izola, Slovenija*
[5] *Univerza v Ljubljani, Zdravstvena fakulteta, Ljubljana, Slovenija*

Elektronski naslov: skranjc@onko-i.si

p25

Elektrokemoterapija (EKT) je lokalna ablativna metoda zdravljenja tumorjev, pri kateri elektroporacija poveča prepustnost membrane tumorskih celic in s tem omogoči učinkovitejši vnos citostatika (bleomicina ali cisplatina), kar vodi v njihovo smrt. Nedavni dokazi kažejo, da lahko EKT sproži imunogeno celično smrt (ICD), ki s sproščanjem s tumorjem povezanih antigenov in molekularnih vzorcev, povezanih s poškodbo (DAMP), spodbuja protitumorski imunski odziv. Vendar mehanizmi imunskega odziva po EKT še niso v celoti pojasnjeni, deloma zaradi omejene uporabe visokodimenzionalnih pristopov za profiliranje imunskega odziva na tem področju.

Primarni cilj raziskave je bil vzpostaviti in optimizirati postopek spektralne pretočne citometrije za celovito profiliranje imunskega odziva v tumorjih, zdravljenih z EKT. Sekundarni cilj je bil opredeliti spremembe imunskega mikrookolja po EKT v predkliničnih tumorskih modelih ter identificirati potencialne biološke označevalce odziva na zdravljenje.

Singene mišje tumorje karcinoma debelega črevesa CT26 in melanoma B16-F10 smo zdravili samo z elektroporacijo, samo s kemoterapijo (bleomicin intravensko oziroma cisplatin intratumorsko) ali z EKT. Tumorje smo odvzeli 1., 3., 6. in 14. dan po zdravljenju ter iz njih pripravili enocelične suspenzije. Razvili in optimizirali smo 25-parametrski panel za spektralno pretočno citometrijo, namenjen opredelitvi podpopulacij limfocitov T, mieloidnih celičnih populacij, označevalcev aktivacije in izčrpanosti ter poti predstavitve antigenov. Podatke smo zajeli s spektralnim pretočnim citometrom Cytek® Northern Lights™, čemur sta sledila računalniško spektralno razločevanje (*angl. unmixing*) in visokodimenzionalna analiza podatkov s programsko opremo FlowJo.

Vzpostavili smo standardizirano metodologijo spektralne pretočne citometrije za spremljanje imunskega odziva po EKT. En dan po EKT smo v tumorjih zaznali statistično značilno zmanjšanje deleža imunskih celic, kar je sovpadalo z izrazito infiltracijo nevtrofilcev, zlasti po intratumorskem zdravljenju s cisplatinom. Šest dni po EKT se je statistično značilno povečal delež makrofagov, nato pa se je imunski infiltrat postopoma obnovil. Spremembe imunskih celičnih populacij so časovno sovpadale s protitumorskim učinkom EKT, izraženim kot zaostanek v rasti tumorjev.

Raziskava zagotavlja prenosljiv predklinični model za visokodimenzionalno profiliranje imunskega odziva po EKT ter omogoča podrobnejše razumevanje časovne dinamike preoblikovanja tumorskega imunskega mikrookolja po zdravljenju. Vzpostavljeni protokoli in pridobljeni podatki predstavljajo osnovo za identifikacijo potencialnih bioloških označevalcev odziva na EKT ter za nadaljnje raziskave kombiniranja EKT z imunoterapijo.

OPTIMIZACIJA ELEKTROKEMOTERAPIJE ZA ZDRAVLJENJE OSTEOSARKOMA V PODKOŽNEM IN ORTOTOPIČNEM MODELU

Saša Kupčič[1,2], Urška Kamenšek[1,3], Maja Čemažar[1,4], Urša Lampreht Tratar[1,5]

[1] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za eksperimentalno onkologijo, Ljubljana, Slovenija*
[2] *Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Ljubljana, Slovenija*
[3] *Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Ljubljana, Slovenija*
Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Ljubljana, Slovenija
[4] *Univerza na Primorskem, Fakulteta za vede o zdravju, Izola, Slovenija*
[5] *Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Ljubljana, Slovenija*

Elektronski naslov: skupcic@onko-i.si

Elektrokemoterapija (EKT) je lokalna ablativna metoda zdravljenja, ki omogoča vstop citostatikov v tumorsko tkivo s pomočjo dovajanih kratkih visokonapetostnih električnih pulzov. Električni pulzi povzročijo prehodno povečanje prepustnosti celične membrane oziroma elektroporacijo, s čimer povečajo vnos citostatikov v tumorske celice in posledično okrepijo njihov citotoksični učinek. EKT se je že izkazala kot učinkovita in varna metoda lokalnega zdravljenja različnih vrst tumorjev, vključno s kostnimi metastazami. Kljub temu obstoječi protokoli niso posebej prilagojeni specifičnim značilnostim kostnega tkiva, ki lahko pomembno vplivajo na farmakokinetiko citostatikov in učinkovitost zdravljenja. Citostatika, ki se trenutno uporabljata v klinični praksi v kombinaciji z EKT, sta bleomicin (BLM) in cisplatin (CDDP), medtem ko se je oksaliplatin (OXA), platinova spojina tretje generacije, nedavno izkazal kot obetavna alternativa. Ker je za učinkovitost EKT ključna ustrezna koncentracija citostatika v tumorskem tkivu v času dovajanja električnih pulzov, je poznavanje farmakokinetike posameznega zdravila pomembno za optimizacijo terapevtskega protokola.

Z namenom raziskati potencial EKT v kombinaciji z BLM, CDDP in OXA za zdravljenje osteosarkoma (OS) smo najprej določili farmakokinetične profile vseh treh citostatikov v podkožnem in ortotopičnem modelu OS. Cilj je bil opredeliti optimalno časovno okno za aplikacijo električnih pulzov. Po vzpostavitvi tumorjev smo citostatike aplicirali intravensko, nato pa v vnaprej določenih časovnih točkah odvzeli vzorce krvi in tumorskega tkiva ter določili koncentracije posameznih citostatikov (dovoljenje št. U34401-17/2023/1). Na podlagi dobljenih farmakokinetičnih profilov smo določili časovno točko, pri kateri je bila koncentracija citostatika v tumorju najvišja, in jo uporabili za načrtovanje EKT. Farmakokinetične analize so pokazale razlike med podkožnim in ortotopičnim modelom OS, kar kaže na pomemben vpliv tumorskega mikrookolja na razpoložljivost citostatikov. Pri podkožnih tumorjih smo za aplikacijo električnih pulzov v EKT potrdili, da je primerna časovna točka 3 minute po hitri intravenski bolusni aplikaciji citostatika, pri ortotopičnih tumorjih pa 10 minut po aplikaciji. Na podlagi farmakokinetičnih rezultatov smo nato ovrednotili protitumorsko učinkovitost optimiziranih protokolov EKT v obeh modelih OS. Učinkovitost zdravljenja smo ocenili na podlagi dinamike tumorske rasti in preživetja. EKT v kombinaciji s CDDP je v obeh tumorskih modelih povzročila izrazito upočasnitev rasti tumorjev in s tem pokazala jasen protitumorski učinek. Pri podkožnih tumorjih je izrazito upočasnitev tumorske rasti povzročila tudi EKT v kombinaciji z BLM. Analiza preživetja v podkožnem modelu ni pokazala razlik med skupinami zdravljenj, medtem ko je v ortotopičnem modelu EKT v kombinaciji s CDDP ali BLM izboljšala preživetje.

V raziskavi smo opredelili ključne farmakokinetične parametre BLM, CDDP in OXA v dveh modelih OS ter na njihovi podlagi določili optimalni čas aplikacije električnih pulzov. Rezultati kažejo, da sta ustrezna časovna uskladitev aplikacije citostatika in električnih pulzov ter upoštevanje specifičnega tumorskega mikrookolja pomembna dejavnika učinkovitosti EKT. Izsledki zagotavljajo farmakokinetično in eksperimentalno podlago za prilagoditev protokolov EKT kostnim tumorjem ter podpirajo nadaljnje raziskovanje EKT kot lokalne strategije zdravljenja osteosarkoma.

p26

PREDKLINIČNO OVREDNOTENJE DEBIO 1143 V KOMBINACIJI Z ELEKTROKEMOTERAPIJO PRI PLOŠČATOCELIČNEM KARCINOMU USTNE VOTLINE

Katarina Žnidar[1,2], Veronika Škrjanc[1,2], Maja Čemažar[1,3], Urša Lampreht Tratar[1,4], Jaka Vrevc Žlajpah[1,2], Tanja Jesenko[1,2]

[1] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za eksperimentalno onkologijo, Ljubljana, Slovenija*
[2] *Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Ljubljana, Slovenija*
[3] *Univerza na Primorskem, Fakulteta za vede o zdravju, Izola, Slovenija*
[4] *Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Ljubljana, Slovenija*

Elektronski naslov: ulampreht@onko-i.si

Ploščatocelični karcinom ustne votline (OSCC) zaradi odpornosti proti zdravljenju in omejenih terapevtskih možnosti pri napredovali bolezni ostaja pomemben klinični izziv. Elektrokemoterapija (EKT) je lokalna ablativna metoda zdravljenja, pri kateri z dovajanjem kratkih visokonapetostnih električnih pulzov povzročimo prehodno povečanje prepustnosti celične membrane oziroma elektroporacijo. S tem omogočimo povečan vnos citostatikov v tumorske celice in posledično okrepimo njihov citotoksični učinek. Najpogosteje uporabljena citostatika sta cisplatin (CDDP) in bleomicin (BLM). Za nadaljnje izboljšanje učinkovitosti zdravljenja se preučujejo kombinirani pristopi z zdravili, ki delujejo na specifične molekularne tarče in lahko dodatno povečajo občutljivost tumorskih celic za zdravljenje. DEBIO 1143 (Xevinapant), antagonist inhibitorjev proteinov apoptoze (IAP), spodbuja apoptotsko celično smrt in lahko poveča učinkovitost citotoksičnih terapij. Namen raziskave je bil ovrednotiti učinkovitost DEBIO 1143 v kombinaciji z EKT s CDDP ali BLM na mišjem modelu OSCC MOC1. *In vitro* smo s klonogenskim testom ocenili učinke posameznih in kombiniranih zdravljenj. Elektroporacijo smo izvedli z elektrodami iz nerjavečega jekla z razmikom 2 mm in dovajanjem 8 električnih pulzov z napetostjo 260 V, trajanjem 100 µs in frekvenco 1 Hz. Učinek DEBIO 1143 je bil odvisen od citostatika, uporabljenega pri EKT. Izrazitejši učinek kombiniranega zdravljenja smo zaznali pri EKT s 5 µg/ml CDDP, medtem ko pri EKT z BLM primerljivega učinka nismo opazili. Za optimizacijo kombiniranega zdravljenja *in vivo* smo celice MOC1 podkožno injicirali v desni bok imunokompetentnih miši C57BL/6. Pri velikosti tumorjev 50 mm^3 smo izvedli EKT z intratumorsko aplikacijo 20, 40 ali 60 µg CDDP, ki ji je po eni minuti sledilo osem električnih pulzov (780 V, 100 µs, 1 Hz). Učinkovitost zdravljenja smo spremljali z merjenjem tumorjev trikrat tedensko. Za določitev časovne dinamike apoptotskega odziva smo tumorje odvzeli 1., 2., 3., 5. in 7. dan po zdravljenju ter apoptozo ovrednotili z imunohistokemičnim barvanjem na kaspazo-3. Protitumorski učinek EKT je bil odvisen od odmerka CDDP. Popoln i odgovor smo dosegli pri 2/9 tumorjev pri 20 µg, 4/9 pri 40 µg in 6/9 pri 60 µg CDDP. Za nadaljnje kombinirane poskuse smo izbrali 20 µg CDDP, saj je odmerek zagotavljal merljiv učinek in hkrati dovolj veliko terapevtsko okno za vrednotenje dodatnega učinka DEBIO 1143. Apoptotska aktivnost se je povečala že prvi dan po EKT in dosegla vrh drugi dan, zato smo kot najprimernejše obdobje za vključitev DEBIO 1143 opredelili čas med 1. in 3. dnem po EKT. V raziskavi smo tako opredelili eksperimentalne pogoje za nadaljnje predklinično vrednotenje DEBIO 1143 v kombinaciji z EKT pri ploščatoceličnem karcinomu ustne votline. Rezultati kažejo, da je učinek kombiniranega zdravljenja odvisen od citostatika, uporabljenega pri EKT, pri čemer smo izrazitejšo modulacijo učinka DEBIO 1143 zaznali v kombinaciji s CDDP. Z optimizacijo odmerka CDDP in določitvijo časovne dinamike apoptoze smo vzpostavili osnovo za nadaljnje vrednotenje kombiniranega zdravljenja *in vivo*. Izsledki poudarjajo pomen ustreznega časovnega razporeda posameznih terapevtskih komponent ter interakcij, specifičnih za posamezno zdravilo, in podpirajo nadaljnje raziskovanje DEBIO 1143 kot potencialnega modulatorja učinkovitosti EKT pri ploščatoceličnem karcinomu ustne votline.

p27

VZPOSTAVITEV PREDKLINIČNIH ENDOTELIJSKIH MODELOV Z MUTACIJO PIK3CA-H1047R ZA PREUČEVANJE UČINKA BEST

Barbara Lisec[1], Tanja Jesenko[1,2], Boštjan Markelc[1,2,3], Maša Omerzel[1,2], Andrej Cöer[2], Maja Čemažar[1,4], Gregor Serša[1,5]

[1] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za eksperimentalno onkologijo, Ljubljana, Slovenija*
[2] *Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Ljubljana, Slovenija*
[3] *Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Ljubljana, Slovenija*
[4] *Univerza na Primorskem, Fakulteta za vede o zdravju, Izola, Slovenija*
[5] *Univerza v Ljubljani, Zdravstvena fakulteta, Ljubljana, Slovenija*

Elektronski naslov: blisec@onko-i.si

Žilne malformacije (VM) so heterogena skupina razvojnih žilnih nepravilnosti, ki nastanejo zaradi motene žilne morfogeneze med embrionalnim in poznejšim razvojem. Njihova patogeneza je povezana z dednimi ali somatskimi mutacijami, ki motijo bistvene znotrajcelične signalne poti v endotelijskih celicah, najpogosteje PIK3CA-AKT-mTOR os. Posledično so žile znotraj VM strukturno nepravilne, hiperprepustne, nezrele in pomanjkljivo obdane s podpornimi celicami. Te lastnosti prispevajo k nestabilnosti, vztrajanju in napredovanju lezij, hkrati pa bistveno otežujejo njihovo zdravljenje.

p28

Bleomicinska elektrokemoterapija (BEST), ki združuje lokalno injiciranje bleomicina v lezijo in elektroporacijo, se je v zadnjem času uveljavila kot obetavna terapevtska možnost za zdravljenje predvsem nizko pretočnih VM, zlasti venskih malformacij. Elektroporacija prehodno poveča prepustnost celične membrane, kar okrepi znotrajcelični vnos bleomicina, tako da lahko BEST poveča lokalno učinkovitost zdravljenja in hkrati omogoči uporabo nižjih odmerkov zdravila ter s tem zmanjša sistemsko toksičnost. Kljub vse pogostejši klinični uporabi pa mehanizmi, na katerih temelji njen terapevtski učinek, še vedno niso dovolj pojasnjeni. Ni jasno, kaj natančno vpliva na odziv na zdravljenje, kateri mehanizmi žilne poškodbe in remodeliranja po zdravljenju prevladujejo, niti kako nepravilna zgradba žil in lokalna hemodinamika znotraj lezije vplivata na porazdelitev in zadrževanje zdravila v tkivu VM. Te odprte vsebine kažejo na potrebo po robustnih in translacijsko relevantnih predkliničnih modelih VM, ki bi čimbolj posnemali ključne genetske in fenotipske značilnosti bolezni ter omogočili mehanistične raziskave BEST.

Za ta namen smo z lentivirusno transdukcijo v tri endotelijske celične linije (HUVEC, SVEC4-10 in bEnd.3) vnesli aktivirajočo mutacijo PIK3CA-H1047R. Uspešno izražanje transgena smo potrdili na ravni RNA in proteina v vseh treh celičnih linijah. S funkcionalno karakterizacijo *in vitro* smo določili proliferacijo, migracijsko sposobnost in angiogeni potencial celic, kar nam je omogočilo oceno endotelijskih fenotipov, povzročenih z mutacijo in relevantnih za biologijo VM. V primerjavi z nemutiranimi kontrolami so analize pokazale spremenjeno vedenje endotelijskih celic, skladno z motenim žilnim signaliziranjem in patološkim nastajanjem žil.

Za nadaljnjo oceno njihove relevantnosti *in vivo* smo transducirane endotelijske celice podkožno vsadili v miši, kjer so tvorile lezije z izrazitimi fenotipskimi in histološkimi razlikami, odvisnimi od uporabljene celične linije. Lezije iz celic HUVEC so najbolje posnemale fenotip, podoben človeškim VM, vključno z razširjenimi in nepravilnimi žilnimi kanali, dezorganizirano žilno arhitekturo, povečano prepustnostjo žil in nepravilno pokritostjo s podpornimi celicami. Nasprotno so celice bEnd.3 tvorile velike, s krvjo napolnjene lakune, medtem ko so celice SVEC4-10 imele bolj proliferativen, tumorju podoben fenotip. Te razlike kažejo na pomembne, od celične linije odvisne razlike v bioloških posledicah izražanja PIK3CA-H1047R in dodatno potrjujejo, da endotelijsko ozadje odločilno vpliva na fenotip nastalih lezij.

Naši končni rezultati kažejo, da modeli endotelijskih celic z mutacijo PIK3CA-H1047R lahko

posnemajo izbrane vidike biologije VM, njihov fenotipski izid pa je močno odvisen od celičnega konteksta, iz katerega izhajajo. Med preizkušenimi modeli se lezije na osnovi celic HUVEC najbolj približajo značilnostim človeških VM in zato predstavljajo najprimernejšo platformo za nadaljnje predklinične raziskave. Ta model bo lahko še posebej koristen za mehanistične študije BEST ter za oceno tkivnega odziva na zdravljenje.

p28

POVEZAVA POLIMORFIZMOV PON1 S POJAVOM NEŽELENIH UČINKOV OBSEVANJA NA KOŽI PRI DCIS

Maja Marinčič[1], Tanja Marinko[2], Vita Dolžan[1], Katja Goričar[1]

[1] *Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Inštitut za biokemijo in molekularno genetiko, Ljubljana, Slovenija*
[2] *Onkološki inštitut Ljubljana, Ljubljana, Slovenija*

Elektronski naslov: maja.marincic@mf.uni-lj.si

Duktalni karcinom *in situ* (DCIS) je neinvazivna proliferacija neoplastičnih celic v duktusih mamarne žleze. Standardno zdravljenje vključuje operacijo in obsevanje. Obsevanje prizadene tumorske in zdrave celice, pri čemer poškodbe nastajajo neposredno ali posredno preko reaktivnih kisikovih spojin (ROS). V normalnih fizioloških razmerah antioksidativni sistemi vzdržujejo ravnovesje ROS, porušeno ravnovesje pa vodi v oksidativni stres in razvoj vnetja. Lipidna peroksidacija, ki nastane zaradi ROS, vodi v poškodbe celičnih membran in lahko sproži feroptozo. Pomemben gen za zaščito pred oksidativnim stresom je paraoksonaza 1 (*PON1*), antioksidativni encim, ki se v krvi veže na lipoproteine in preprečuje oksidacijo lipidov. Polimorfizmi v antioksidativnih genih lahko vplivajo na učinkovitost odziva na obsevanje in povzročijo neželene učinke. Cilj naše raziskave je bil ugotoviti, ali polimorfizmi v genu *PON1* vplivajo na pojav akutnih in poznih neželenih učinkov na koži po obsevanju pri bolnicah z DCIS.

p29

V raziskavo smo vključili 196 bolnic z DCIS, zdravljenih s pooperativnim obsevanjem na Onkološkem inštitutu Ljubljana. Za oceno neželenih učinkov na koži takoj po obsevanju (akutni neželeni učinki) ter 6 mesecev in 1 leto po obsevanju (pozni neželeni učinki) smo uporabili merila Skupne terminologije za kriterije neželenih učinkov (a*ng. Common Terminology Criteria for Adverse Events, CTCAE v5.0*) in LENT (*Late Effects of Normal Tissue*) - SOMA (*Subjective, Objective, Management, Analytic*). Za analizo polimorfizmov *PON1* rs662, rs854560, rs705379 in rs705381 smo uporabili kompetitivno, alelno-specifično verižno reakcijo s polimerazo. Frekvence polimorfnih alelov so bile 0,285 za *PON1* rs662, 0,369 za rs854560, 0,369 za rs705379 in 0,759 za rs705381. Nosilke enega polimorfnega alela *PON1* rs854560 so imele manjšo verjetnost za pojav neželenih učinkov na koži po obsevanju po kriterijih LENT SOMA (RO = 0,258; 95 % IZ = 0,069–0,963; p = 0,044). Nosilke enega polimorfnega alela PON1 rs662 so imele večjo verjetnost za pojav neželenih učinkov na koži 6 mesecev po obsevanju po kriterijih CTCAE (RO = 2,006; 95 % IZ = 1,033–3,894; p = 0,040), tudi po prilagoditvi za velikost tumorja v multivariatni analizi (RO = 2,033; 95 % IZ = 1,041–3,968; p = 0,038). Nosilke vsaj enega polimorfnega alela *PON1* rs705381 so imele manjšo verjetnost za pojav neželenih učinkov na koži 6 mesecev po obsevanju po kriterijih CTCAE (RO = 0,490; 95 % IZ = 0,250–0,959; p = 0,037), tudi v multivariatni analizi (RO = 0,502; 95 % IZ = 0,255–0,988; p = 0,046). Nosilke dveh polimorfnih alelov *PON1* rs705381 so imele večjo verjetnost za pojav neželenih učinkov na koži 1 leto po obsevanju po kriterijih CTCAE (RO = 4,686; 95 % IZ=1,119–19,614;p=0,034),tudipoprilagoditvizaboleznisrcainarterijskohipertenzijovmultivariatni analizi(RO=6,007;95%IZ=1,186–30,419;p=0,030).Pravtakojebilapovezavaznačilnavdominantnem modelu v univariatni (RO = 4,686; 95 % IZ = 1,119–19,614; p = 0,034) in multivariatni analizi (RO = 2,423; 95 % IZ = 1,07–5,488; p = 0,034). Nosilke vsaj enega polimorfnega alela *PON1* rs705381 so imele večjo verjetnost za pojav neželenih učinkov na koži 1 leto po obsevanju tudi po kriterijih LENT SOMA (RO = 2,04; 95 % IZ = 1,041–4,001; p = 0,038). Nosilke dveh polimorfnih alelov *PON1* rs705379 pa so imele manjšo verjetnost za pojav neželenih učinkov na koži 1 leto po obsevanju po kriterijih LENT SOMA (RO = 0,345; 95 % IZ = 0,124–0,962; p = 0,042).

V naši raziskavi smo pokazali, da so polimorfizmi v genu *PON1* povezani s pojavom akutnih in poznih neželenih učinkov na koži pri bolnicah z DCIS in bi lahko služili kot biološki označevalec za napoved odgovora na zdravljenje z obsevanjem pri raku dojk.

RAK DOJK IN T-DM1 PO NEOADJUVANTNI DVOJNI ANTI-HER2 BLOKADI: UČINKOVITOST IN PRENOSLJIVOST V REALNEM KLINIČNEM OKOLJU

Erika Matos[1,2], Neža Režun[1], Katja Dejanović[1], Sara Šauer[1], Tanja Ovčariček[1]

[1] *Onkološki inštitut Ljubljana, Sektor za internistično onkologijo, Ljubljana, Slovenija*
[2] *Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Ljubljana, Slovenija*

Elektronski naslov: ematos@onko-i.si

Trastuzumab emtanzin (T-DM1) je standardno dopolnilno zdravljenje bolnic s HER2-pozitivnim zgodnjim rakom dojk (RD) in rezidualno boleznijo po neoadjuvantnem sistemskem zdravljenju. Dokazi o njegovi učinkovitosti temeljijo predvsem na randomizirani klinični raziskavi KATHERINE, v kateri pa je le manjši delež bolnic predoperativno prejemal dvojno anti-HER2 blokado s trastuzumabom in pertuzumabom. Ker je dvojna anti-HER2 blokada danes standardni del neoadjuvantnega sistemskega zdravljenja, so podatki iz realnega sveta pomembni za oceno učinkovitosti in prenosljivosti T-DM1 po sodobnem neoadjuvantnem zdravljenju. Namen raziskave je bil zato oceniti prenosljivost in zgodnjo učinkovitost dopolnilnega zdravljenja s T-DM1 v vsakodnevni klinični praksi.

p30 V retrospektivno raziskavo smo vključili 95 bolnic s HER2-pozitivnim zgodnjim RD in rezidualno boleznijo po neoadjuvantnem zdravljenju, ki so med junijem 2020 in decembrom 2025 na Onkološkem inštitutu Ljubljana pričele z dopolnilnim zdravljenjem s T-DM1. Podatke smo pridobili iz elektronske zdravstvene dokumentacije. Klinične in patološke značilnosti, značilnosti zdravljenja ter neželene učinke smo analizirali z metodami deskriptivne statistike. Kategorične spremenljivke smo prikazali s frekvencami in deleži, zvezne spremenljivke pa z mediano in interkvartilnim razponom (IQR). Preživetje brez invazivne bolezni (IDFS) smo ocenili po metodi Kaplan–Meier.

Mediana starosti bolnic je bila 50 let (razpon 21–82 let). Hormonsko odvisnih je bilo 72 (75,8 %) tumorjev. Neoadjuvantno kemoterapijo z antraciklini in taksani je prejelo 87,4 % bolnic, dvojno anti-HER2 zdravljenje s trastuzumabom in pertuzumabom pa 97,9 %. Rezidualno breme bolezni je bilo opredeljeno kot RCB I pri 30,5 %, RCB II pri 58,9 % in RCB III pri 10,5 % bolnic.

Mediano število prejetih ciklov T-DM1 je bilo 12 (IQR 8–14; razpon 1–15). Zdravljenje je predčasno zaključilo 16 bolnic (16,8 %), najpogosteje zaradi neželenih učinkov (10/95; 10,5 %), redkeje na lastno željo (4/95; 4,2 %) ali iz drugih razlogov (2/95; 2,1 %). Neželeni učinki stopnje ≥3 so se pojavili pri 7,4 % bolnic. Asimptomatski padec LVEF za >20 odstotnih točk je bil ugotovljen pri dveh bolnicah (2,1 %); pri nobeni LVEF ni padel pod 50 %, pri obeh pa je bil padec reverzibilen.

Ob medianem času spremljanja 32 mesecev smo zabeležili štiri ponovitve bolezni, ocenjeni 3-letni IDFS je znašal 94,6 % (95 % IZ 86,4–97,9). Tri od štirih ponovitev (75 %) so vključevale osrednje živčevje (CŽS), pri dveh kot edino mesto ponovitve, pri eni pa so bili sočasno prisotni tudi zasevki v skeletu.

Podatki iz realnega kliničnega sveta kažejo, da je dopolnilno zdravljenje s T-DM1 dobro prenosljivo in povezano z ugodnimi izidi tudi v sodobni klinični praksi, v kateri velika večina bolnic predoperativno prejme dvojno anti-HER2 blokado. Rezultati tako dopolnjujejo podatke raziskave KATHERINE. Kljub majhnemu številu dogodkov visok delež ponovitev z vključenostjo CŽS izpostavlja CŽS kot pomembno mesto ponovitve bolezni ter kaže, da preprečevanje ponovitev v CŽS ostaja pomemben klinični izziv.

METODE IZOLACIJE, DETEKCIJE IN KARAKTERIZACIJE CIRKULIRAJOČIH TUMORSKIH CELIC IN NJIHOVA POVEZANOST S PREŽIVETJEM PRI EPITELIJSKEM RAKU JAJČNIKOV: PREGLEDNA ANALIZA PODROČJA

Simona Miceska[1], Tina Germšek[1], Tanita Kranjc[2], Tanja Jesenko[3,4], Maja Čemažar[4,5], Cvetka Grašič Kuhar[3,6], Veronika Kloboves Prevodnik[1,7]

[1] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za citopatologijo, Ljubljana, Slovenija*
[2] *Univerza v Ljubljani, Fakulteta za biotehnologijo, Ljubljana, Slovenija*
[3] *Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Ljubljana, Slovenija;*
[4] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za eksperimentalno onkologijo, Ljubljana, Slovenija;*
[5] *Univerza na Primorskem, Fakulteta za vede o zdravju, Izola, Slovenija;*
[6] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za internistično onkologijo, Ljubljana, Slovenija;*
[7] *Univerza v Mariboru, Medicinska fakulteta, Maribor, Slovenija*

Elektronski naslov: smiceska@onko-i.si

p31

Cirkulirajoče tumorske celice (CTC) so pri različnih rakavih obolenjih, vključno z rakom dojke in prostate, pomemben prognostični dejavnik in njihovo povečano število je povezano z agresivnejšim potekom bolezni in slabšim preživetjem. Pri epitelijskem raku jajčnikov (angl. epithelial ovarian carcinoma, EOC) predstavljajo CTC obetaven prognostični označevalec, vendar njihova klinična uporabnost še ni jasno opredeljena. V sklopu te raziskave smo izvedli pregledno analizo področja (angl. scoping review) CTC in EOC s poudarkom na predanalitskih postopkih obdelave vzorcev krvi, metodah izolacije, detekcije in karakterizacije CTC, številu CTC in mejah pozitivnosti ter njihovi povezanosti s preživetjem.

Pregledno analizo področja smo izvedli v skladu s smernicami PRISMA-ScR. Za iskanje ustreznih raziskav smo s pomočjo izkušenega knjižničarja uporabili iskalne strategije za podatkovne zbirke PubMed, Scopus in Web of Science. Vključili smo le izvirne znanstvene članke v angleškem jeziku, objavljene do marca 2026. Izključili smo konferenčne povzetke, poglavja v knjigah, prikaze primerov in pregledne članke. Naslove in povzetke so pregledali trije ocenjevalci, v naslednji fazi pa sta dva ocenjevalca neodvisno ocenila ustreznost celotnih besedil. Iz izbranih člankov smo v standardizirano preglednico ekstrahirali podatke o značilnostih raziskav in populacije, predanalitskih postopkih, metodah izolacije, detekcije in karakterizacije CTC, številu CTC, mejah pozitivnosti, njihovi viabilnosti ter povezanosti CTC s preživetjem.

V vseh treh podatkovnih zbirkah smo našli 977 zadetkov, po izključitvi duplikatov je ostalo 668 zadetkov. V končno analizo smo po pregledu naslovov, povzetkov in celotnih besedil vključili 71 raziskav. Serozni EOC je bil najpogosteje preučevani histološki tip, čeprav so kohorte vključevale tudi druge histološke tipe EOC in/ali neopredeljene podtipe EOC ter vse stadije bolezni (FIGO I–IV). Ugotovili smo precejšnjo raznolikost uporabljenih metod izolacije CTC, saj je bilo med 71 raziskavami uporabljenih 22 različnih metod. V 38/71 raziskavah so metode temeljile na bioloških lastnostih CTC, predvsem na določanju imunofenotipa, molekularnih metodah, kot je PCR, in morfoloških značilnostih. Sledile so metode, ki so temeljile na fizikalnih lastnostih in deformabilnosti CTC (25/71), ter hibridne metode, ki so združevale biološke in fizikalne lastnosti (8/71). Detekcija na osnovi imunofluorescence je bila uporabljena v 66/71 raziskavah, pri čemer so bile uporabljene slikovne metode, pretočna citometrija in fluorescenčna hibridizacija *in situ*. Poročane mejne vrednosti za opredelitev CTC-pozitivnih bolnic so se gibale od 1 do 8 CTC/mL oziroma CTC/vzorec. Mediana stopnje pozitivnosti CTC pri bolnicah z EOC je bila 66,7 % (razpon 12–100 %). Povezanost prisotnosti CTC s preživetjem je bila proučevana v 26/71 raziskavah, od katerih jih je

14 dokazalo, da je bila prisotnost CTC povezana z značilno krajšim preživetjem brez napredovanja bolezni in/ali celotnim preživetjem pri CTC-pozitivnih bolnicah.

Razlike v metodah določanja CTC in mejah pozitivnosti pomembno vplivajo na interpretacijo rezultatov in njihovo povezanost s potekom bolezni in preživetjem. Kljub obetavnemu prognostičnemu potencialu CTC pri EOC so za njihovo klinično uveljavitev potrebne standardizirane metode, enotnejše meje pozitivnosti ter bolj enotno poročanje rezultatov.

OPTIMIZACIJA PROTOKOLA ZA PRIPRAVO CELIČNIH BLOKOV IZ MALOCELULARNIH VZORCEV TANKOIGELNIH ASPIRACIJSKIH BIOPSIJ Z UPORABO HISTOGELA

Simona Miceska[1], Eva Tomac Teržan[1], Anamarija Kuhar[1], Živa Ledinek Štosir[1], Veronika Kloboves Prevodnik[1,2]

[1] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za citopatologijo, Ljubljana, Slovenija*

[2] *Univerza v Mariboru, Medicinska fakulteta, Maribor, Slovenija*

Elektronski naslov: smiceska@onko-i.si

Celične bloke (CB) lahko pripravimo z uporabo različnih tehnik, pri čemer je glavna omejitev količina celic v vzorcu. Za pripravo CB naj bi se uporabljali vzorci z vsaj milijonom celic, saj so v nasprotnem primeru CB pogosto premalo celularni za postavitev končne diagnoze. Ker so vzorci, pridobljeni z metodo aspiracijske biopsije s tanko iglo (ABTI), pogosto manj celularni, smo na Oddelku za citopatologijo Onkološkega inštituta Ljubljana skušali z uporabo Histogela optimizirati metodo priprave CB iz malocelularnih vzorcev.

CB smo pripravili iz vzorcev ABTI, hranjenih v hišnem mediju (4.5 % BSA, 0.45 % EDTA v PBS in antibiotiki). Uporabili smo zaporedne redčitve vzorca z 0.2, 0.5 in 1.0 milijona celic, ki smo jih prenesli v mikrocentrifugirke z volumnom 0.5 ali 1.5 ml. Vzorce smo centrifugirali 5 min pri hitrosti 2700 RPM in nato fiksirali v 10 % nevtralnem puferiranem formalinu ter obarvali s 100 µL Hemacolor Blue (BD) za boljšo vizualizacijo celičnega sedimenta. Vzorec smo ponovno centrifugirali 10 min s hitrostjo 2000 RPM ter obarvanemu celičnemu peletu dodali 100 µL utekočinjenega Histogela (Epredia), ki smo ga v vzorec nežno vmešali z iglo, debeline 21 G. Postopek smo izvedli hitro, da ne bi prišlo do predčasnega strjevanja gela. Vzorec smo ponovno centrifugirali ter hranili vsaj dve uri na 4 °C. Strjen gel s celičnem sedimentom smo z iglo, debeline 21 G, in dvema kapljicama destilirane vode (za lažjo pridobitev celičnega sedimenta) prenesli iz mikrocentrifugirke in ga procesirali po ustaljenem protokolu za pripravo parafinskih blokov tkivnih vzorcev, ki ga uporabljamo na Oddelku za patologijo. Rezine smo obarvali s hemotoksilinom in eozinom (H&E) ter z imunohistokemičnim (IHK) barvanjem na pan-citokeratin, klon CKAE1/AE3.

Uporabljeni protokol je omogočal pripravo diagnostičnih CB ne glede na celularnost vzorca. CB je bil obarvan z uporabo barvila Hemacolor blue za boljši prikaz vzorca med rezanjem na mikrotomu. S pregledom tkivnih rezin, obarvanih s H&E, smo potrdili prisotnost celic v CB in ohranjeno celično morfologijo, s pozitivno IHK reakcijo na CKAE1/AE3 pa ohranjene antigenske lastnosti celic v CB.

Optimizirani protokol za pripravo CB se je izkazal kot zanesljiva metoda za pripravo CB iz malocelularnih vzorcev, pridobljenih z ABTI, in je primeren za diagnostično obravnavo, saj zagotavlja dobro ohranjeno celično morfologijo in antigenske lastnosti celic. Optimizirani protokol je lahko primeren za implementacijo tudi v drugih citopatoloških laboratorijih, kjer CB iz vzorcev z manj kot milijonom celic trenutno ne pripravljajo.

p32

PREVALENCA VISOKORIZIČNIH GENOTIPOV HPV PRI HC2+ ŽENSKAH, VKLJUČENIH V NACIONALNI PRESEJALNI PROGRAM ZA RAKA MATERNIČNEGA VRATU IN TRIAŽIRANIH NA ONKOLOŠKEM INŠTITUTU LJUBLJANA

Simona Miceska[1], Tina Germšek[1], Jerneja Kos[1], Tajda Tavčar Kunstič[1], Veronika Kloboves Prevodnik[1,2]

[1] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za citopatologijo, Ljubljana, Slovenija*
[2] *Univerza v Mariboru, Medicinska fakulteta, Maribor, Slovenija*

Elektronski naslov: smiceska@onko-i.si

p33

Rak materničnega vratu je četrti najpogostejši rak pri ženskah na svetu, vendar je njegovo incidenco mogoče učinkovito zmanjšati s presejalnimi pregledi in cepljenjem (1). Čeprav popolna genotipizacija visokorizičnih človeških papilomavirusov (ang. high-risk human papillomavirus, hrHPV) ni obvezna zahteva presejalnih smernic in priporočil, nam lahko zagotovi dodatno informacijo o presejalni populaciji. Cilj te raziskave je bil analizirati rezultate popolne genotipizacije hrHPV pri ženskah, vključenih v slovenski nacionalni presejalni program, pozitivnih na triažni test Hybrid Capture 2 (HC2) (Qiagen), ki zazna le prisotnost hrHPV DNA.

V raziskavo smo vključili ženske iz različnih regij Slovenije, ki so bile med januarjem 2023 in decembrom 2025 na Onkološkem inštitutu v Ljubljani triažirane s testom HC2. Iz vsakega vzorca brisa materničnega vratu, odvzetega v mediju STM (Specimen Transport Medium, QIAGEN), smo odvzeli 300 µL alikvota. Za popolno genotipizacijo hrHPV smo uporabili test Anyplex II HPV HR (Seegene, Južna Koreja), ki zazna genotipe HPV 16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/66/68. Statistično analizo prevalence HPV smo izvedli v spletnem okolju SG Stats (Seegene, Južna Koreja).

V analizo smo vključili 1816 žensk. Povprečna stopnja hrHPV pozitivnih žensk izmed vseh HC2 pozitivnih žensk je bila 85 %, 86 % in 86 % v letih 2023, 2024 in 2025. HPV16 je bil v vseh treh letih najpogostejši genotip, s povprečno prevalenco 20,3 %, sledil mu je HPV31 s prevalenco 17,5 %. Prevalenca genotipov HPV18 in HPV45 je ostala nespremenjena pri 5,2 % oziroma 6,1 %, medtem ko se je prevalenca drugih genotipov hrHPV sčasoma nekoliko povečala. Približno polovica vseh žensk, pozitivnih na genotip HPV16, je imela posamezno okužbo (48,9 %), polovica pa sočasno okužbo z drugimi genotipi HPV (51,1 %). Pri genotipu HPV18 smo v zadnjih dveh letih opazili nekoliko povečan delež posameznih okužb (44,1 %, 51,9 % in 51,5 % v letih 2023, 2024 in 2025), medtem ko se je delež sočasnih okužb zmanjšal (55,9 %, 48,1 % oziroma 48,5 %). Genotipa HPV31 in HPV45 sta bila v vseh treh letih podobno zastopana tako v obliki posameznih (≈40 %) kot tudi sočasnih okužb (≈60 %).

Analiza genotipov hrHPV omogoča spremljanje gibanja in značilnosti okužb pri ženskah iz različnih regij Slovenije ter lahko prispeva k optimizaciji prihodnjih načinov presejanja in preprečevanja raka materničnega vratu.

Literatura

1. World Health Organization. WHO guideline for screening and treatment of cervical pre-cancer lesions for cervical cancer prevention: use of dual-stain cytology to triage women after a positive test for human papillomavirus (HPV). Web Annex C. Evidence-to-decision framework for dual-stain cytology to triage women after a positive test for human papillomavirus (HPV). World Health Organization; 2024. Dostopno na: https://iris.who.int/handle/10665/376494 doi:10.2471/B09020

POPOLNA GENOTIPIZACIJA VISOKORIZIČNIH GENOTIPOV HPV V VZORCIH, ODVZETIH S TANKOIGELNO BIOPSIJO POVEČANIH BEZGAVK PRI BOLNIKIH S SUMOM NA PLOŠČATOCELIČNI KARCINOM OROFARINKSA

Simona Miceska[1], Jerneja Kos[1], Tina Germšek[1], Tajda Tavčar Kunstič[1], Živa Ledinek Štosir[1], Marko Rajh[2], Veronika Kloboves Prevodnik[1,3]

[1] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za citopatologijo, Ljubljana, Slovenija*
[1] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za patologijo, Ljubljana, Slovenija*
[3] *Univerza v Mariboru, Medicinska fakulteta, Maribor, Slovenija*

Elektronski naslov: smiceska@onko-i.si

Okužba z visokorizičnim človeškim papilomavirusom (angl. high-risk human papillomavirus, hrHPV) je eden od vzrokov za nastanek ploščatoceličnega karcinoma orofarinksa (angl. oropharyngeal squamous cell carcinoma OPSCC). Molekularno določanje hrHPV v vzorcih aspiracijske biopsije s tanko iglo (ABTI) v citopatologiji je trenutno premalo raziskano, kljub temu da so podatki o genotipih hrHPV pomembni za nadaljnjo obravnavo in zdravljenje bolnikov. Cilj naše raziskave je bil ovrednotiti primernost vzorcev ABTI bolnikov s sumom na OPSCC za določanje DNA virusa HPV in izvedbo popolne genotipizacije hrHPV.

V raziskavo smo vključili vzorce povečanih bezgavk bolnikov s sumom na OPSCC, odvzete z ABTI na Onkološkem inštitutu Ljubljana v obdobju 2023–2026. Tretjino originalnega vzorca, odvzetega za diagnostične namene, smo alikvotirali in shranili v mediju eNAT (Copan). DNA iz alikvota smo izolirali z avtomatiziranim spletnim okoljem SeePrep32 (Seegene). Koncentracijo DNA smo določili s sistemom Qubit Flex (Thermo Fisher Scientific), z območjem detekcije 0,8–400 ng/µL in razširjenim območjem detekcije 400–800 ng/µL. Iz izolirane DNA smo izvedli genotipizacijo hrHPV s testom Anyplex II HPV HR (Seegene) po navodilih proizvajalca. Rezultati testa so bili za posamezne genotipe hrHPV in pripadajočo interno kontrolo (β-globin) izraženi semikvantitativno (+, ++, ali +++).

V raziskavo smo vključili 82 bolnikov s sumom na OPSCC. Koncentracijo DNA smo uspešno izmerili v 59/82 primerih (72 %), pri čemer je bila mediana koncentracije DNA 6 ng/µL (razpon 0,91–548 ng/µL). V 23/82 primerih (28 %) je bila koncentracija DNA pod mejo detekcije (0,8 ng/µL). Kljub temu je bila genotipizacija uspešna v 100 % primerov, kar smo dodatno potrdili z interno kontrolo, katere rezultat je bil v vseh primerih več kot ++. Prisotnost hrHPV smo potrdili v 37/82 primerih (45 %). Med njimi je bil genotip HPV16 prisoten v 32 primerih, HPV18 v 2 primerih, HPV31, HPV33 in HPV45 pa vsak v 1 primeru.

Vzorci ABTI povečanih bezgavk bolnikov s sumom na OPSCC so zanesljiv biološki material za molekularno določanje genotipov hrHPV s testom Anyplex II HPV HR, tudi pri nizkih koncentracijah DNA. Za oceno kliničnega pomena rezultatov je potrebna korelacija z rezultati histoloških in kliničnih podatkov.

p34

PREVALENCA SOMATSKEGA MOZAICIZMA V GENU *APC* PRI SLOVENSKIH BOLNIKIH Z 10 ALI VEČ ADENOMATOZNIMI POLIPI DEBELEGA ČREVESA IN DANKE

Aleksander Novaković[1], Vita Šetrajčič Dragoš[2], Alenka Bombač[2], Petra Škerl[2], Gašper Klančar[2], Anja Zagožen[2], Mateja Krajc[1], Ana Blatnik[1], Ksenija Strojnik[1], Iva Opalič[1], Barbara Stojanov[1], Vida Stegel[2,]

[1] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za onkološko klinično genetiko, Ljubljana, Slovenija*
[2] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za molekularno diagnostiko, Ljubljana, Slovenija*

Elektronski naslov: anovakovic@onko-i.si

p35

Bolniki z adenomatozno polipozo debelega črevesa in danke (DČD) razvijejo veliko število polipov DČD. Dedne oblike adenomatozne polipoze nastanejo kot posledica genetskih sprememb, tako imenovanih patogenih različic oziroma verjetno patogenih različic (PV/LPV) v različnih genih. Dedna adenomatozna polipoza predstavlja vzrok za približno 1 % rakov DČD (1). Somatski mozaicizem pomeni prisotnost različnih genetskih različic v različnih populacijah somatskih celic. Somatski mozaicizem nastane zaradi genetske spremembe, ki nastane po prvi mitotski celični delitvi zigote in predstavlja znan vzrok določenega deleža primerov polipoz DČD. Glede na podatke, dostopne v literaturi, naj bi bilo do 20 % primerov adenomatozne polipoze z negativno družinsko anamnezo posledica somatskega mozaicizma za PV/LPV v genu *APC* (2, 3).

Pri bolnikih z znanimi 10 ali več histološko potrjenimi adenomatoznimi polipi in z negativnim rezultatom genetskega testiranja na zarodne različice, povezane z adenomatozno polipozo, smo na Onkološkem inštitutu Ljubljana opravili še dodatno testiranje na prisotnost somatskega mozaicizma v genu *APC*. Testiranje smo opravili na dveh vzorcih polipov iz različnih segmentov debelega črevesa. DNA smo izolirali iz tkiva polipov, odstranjenega ob predhodnih kolonoskopskih preiskavah in vklopljenega v parafin (FFPE). Na podlagi izolirane DNA smo izvedli sekvenciranje naslednje generacije (NGS) s panelom Illumina TruSight Tumor 170.

Med junijem 2023 in junijem 2026 smo v raziskavo vključili 119 bolnikov, pri katerih smo izvedli testiranje na prisotnost somatskega mozaicizma v genu APC. Genetska analiza je zaključena pri 94 bolnikih, pri 25 bolnikih pa je še poteka. Povprečna starost bolnikov z zaključeno analizo znaša 65 let, 80,9 % je moških in 19,1 % žensk. Somatski mozaicizem v genu APC smo ugotovili pri 9 bolnikih (9,6 %; povprečna starost 61 let, 44,4 % moških, 55,5 % žensk), pri 78 bolnikih (83,0 %; povprečna starost 66 let, 85,9 % moških, 14,1 % žensk) pa somatskega mozaicizma v genu *APC* nismo potrdili. Preiskave so bile neuspešne pri 7 bolnikih (7,5 %), večinoma zaradi slabe kakovosti vzorcev tkiva.

Naši rezultati so primerljivi z rezultati, dostopnimi v literaturi, in potrjujejo, da je pomemben delež primerov adenomatozne polipoze z negativno družinsko anamnezo posledica somatskega mozaicizma v genu *APC*. Ti rezultati poudarjajo pomen testiranja za somatski mozaicizem v genu *APC* pri diagnostični obravnavi bolnikov s številnimi polipi DČD in negativnim rezultatom genetskega testiranja za zarodne različice v genih, povezanih z dedno adenomatozno polipozo. Naši rezultati so pokazali tudi izrazito večji izkoristek testiranja pri ženskih bolnicah, česar do sedaj v literaturi nismo zasledili.

Literatura

1. Half E, et al. Familial adenomatous polyposis. Orphanet journal of rare diseases. 2009;4(22):22.
2. Hes FJ, et al. Somatic APC mosaicism: an underestimated cause of polyposis coli. Gut. 2007;57(1):71–6.
3. Jansen A, Goel A. Mosaicism in Patients With Colorectal Cancer or Polyposis Syndromes: A Systematic Review. Clinical Gastroenterology and Hepatology. 2020;18(9):1949–60.

MULTI-OMIC AND SINGLE-CELL APPROACHES TO UNDERSTANDING CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA HETEROGENEITY

Blaž Oder

Karolinska Institutet, Department of Molecular Medicine and Surgery, Stockholm, Sweden

E-mail: blaz.oder@ki.se

Chronic lymphocytic leukemia (CLL) is characterized by marked clinical and biological heterogeneity, ranging from indolent disease that may never require treatment to rapidly progressive disease. This diversity is closely linked to the immunogenetic features of the B-cell receptor immunoglobulin (BcR IG). Based on IGHV gene somatic hypermutation status, the disease is divided into mutated (M-CLL) and unmutated (U-CLL) CLL, associated with favorable and aggressive courses, respectively1,2. Beyond this distinction, more than 40% of patients express highly similar, or "stereotyped", BcR IGs that define subsets with distinct clinical and biological profiles, with 29 major subsets identified in a study of almost 30,000 patients3–5. Using these immunogenetically defined groups as a framework, we applied complementary genomic, transcriptomic, and immunogenetic analyses at bulk and single-cell resolution to investigate the molecular basis of CLL heterogeneity, focusing particularly on the aggressive subsets #1 (predominantly U-CLL) and #2 (mixed M-CLL/U-CLL), and the indolent subset #4 (predominantly M-CLL).

p36

Whole-genome sequencing of 158 patient samples across ten of these major stereotyped subsets revealed subset-associated differences in mutation burden and the distribution of recurrent CLL drivers, including SF3B1, NOTCH1, ATM, TP53, XPO1, RPS15, and NFKBIE. Beyond these established drivers, the genomic landscape comprised a long tail of less frequently altered genes, including *SPEN, MED12, ZC3H18,* and *ZNF292*, with some showing preferential enrichment in particular subsets. Differences were also observed in recurrent chromosomal alterations, with del(13q) frequent in subset #2 and del(17p) more common in subset #1. Among established drivers, SF3B1 mutations were particularly enriched in subset #2, prompting us to examine their downstream molecular consequences.

RNA-sequencing of 18 SF3B1-mutated and 17 wild-type subset #2 samples identified 80 alternative splicing events. A key finding was aberrant splicing of BRD9, a component of the non-canonical BAF (ncBAF) chromatin-remodeling complex previously implicated in SF3B1-mutant malignancies6, generating a novel isoform with an alternative C-terminus. This association was confirmed in larger CLL cohorts and characterized by long-read RNA-sequencing, while functional experiments demonstrated induction of the isoform by mutant SF3B1. Proteomic and chromatin accessibility analyses further connected SF3B1-mediated splicing alterations to changes in ncBAF interactions and transcriptional regulation7.

Moving from individual genetic alterations to broader subset-associated biology, bulk RNA-sequencing of 74 patient samples revealed distinct transcriptional profiles for subsets #1, #2, and #4, while the aggressive subsets #1 and #2 converged on MYC, mTORC1, and oxidative phosphorylation (OXPHOS) programs. Proteomic and metabolite profiling further identified altered glutamine metabolism and oxygen sensing, supporting metabolic reprogramming as a shared feature across the aggressive subsets.

To resolve these subset-level differences within individual tumors, single-cell transcriptomic and immunogenetic profiling of 48,557 cells from 13 treatment-naïve patients showed that aggressive subsets #1 and #2 contained higher proportions of metabolically active leukemic cells characterized by BcR–mTOR–MYC–OXPHOS signaling than indolent subset #4, recapitulating key transcriptional

programs observed at the bulk level. BcR IG analysis additionally revealed intraclonal immunogenetic diversification in most cases, consistent with ongoing clonal evolution, while clonally expanded T cells showed cytotoxic differentiation and features of exhaustion, indicating that subset-associated differences extend beyond the leukemic clone to the immune compartment8.

Together, these studies link the immunogenetic features of CLL to differences in its genomic landscape, downstream molecular programs, and cellular states. Stereotyped subsets remain molecularly distinct, while also sharing processes associated with aggressive disease, highlighting the complex biology underlying CLL heterogeneity.

References

1. Damle RN, et al. Ig V gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. Blood. 1999;94(6):1840–1847.
2. Hamblin TJ, et al. Unmutated Ig V(H) genes are associated with a more aggressive form of chronic lymphocytic leukemia. Blood. 1999;94(6):1848–1854.
3. Agathangelidis A, et al. Higher-order connections between stereotyped subsets: implications for improved patient classification in CLL. Blood. 2021;137(10):1365–1376.
4. Agathangelidis A, et al. B-cell receptor immunoglobulin stereotypy in chronic lymphocytic leukemia: key to understanding disease biology and stratifying patients. Semin Hematol. 2024;61(2):91–99.
5. Baliakas P, et al. Clinical effect of stereotyped B-cell receptor immunoglobulins in chronic lymphocytic leukaemia: a retrospective multicentre study. Lancet Haematol. 2014;1(2):e74–e84.
6. Inoue D, et al. Spliceosomal disruption of the non-canonical BAF complex in cancer. Nature. 2019;574(7778):432–436.
7. Hägerstrand D, et al. The non-canonical BAF chromatin remodeling complex is a novel target of spliceosome dysregulation in SF3B1-mutated chronic lymphocytic leukemia. Leukemia. 2024;38(11):2429–2442.
8. Oder B, et al. Single-cell sequencing reveals transcriptional and immunogenetic diversity in stereotyped chronic lymphocytic leukemia. Blood Neoplasia. 2026;100282.

DOLOČANJE OBČUTLJIVOSTI MIŠJIH MODELOV MELANOMA B16-F10 IN KOLOREKTALNEGA KARCINOMA CT26 NA ELEKTROKEMOTERAPIJO S CISPLATINOM

Živa Pišljar[1,2], Tanja Jesenko[1,2], Maša Omerzel[1,2,3], Simona Kranjc Brezar[1,2], Lara Snoj[1,2], Maja Čemažar[1,2,4], Gregor Serša[1,2,3], Boštjan Markelc[1,2,5]

[1] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za eksperimentalno onkologijo, Ljubljana, Slovenija*
[2] *Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Ljubljana, Slovenija*
[3] *Univerza v Ljubljani, Zdravstvena fakulteta, Ljubljana, Slovenija*
[4] *Univerza na Primorskem, Fakulteta za vede o zdravju, Izola, Slovenija*
[5] *Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Ljubljana, Slovenija*

Elektronski naslov: zpisljar@onko-i.si

Elektrokemoterapija (EKT) je lokalna ablativna terapija, pri kateri električni pulzi povečajo prepustnost celične membrane in omogočijo povečan vnos citostatikov v tumorske celice. V kliniki se najpogosteje uporablja v kombinaciji z bleomicinom ali cisplatinom (CDDP). Vrsta celične smrti, ki jo EKT povzroči, ima ključno vlogo pri aktivaciji proti-tumorskega imunskega odziva. Imunogena celična smrt (ICD) je oblika celične smrti, ki aktivira prirojeni in pridobljeni imunski sistem z indukcijo sproščanja s poškodbo povezanih molekulskih vzorcev (DAMP; ang. damage associated molecular patterns) iz umirajočih celic. Pokazano je bilo, da EKT lahko inducira ICD, vendar časovni potek sproščanja DAMP ter dinamika različnih oblik celične smrti po EKT s CDDP še nista natančno opredeljena. Razumevanje teh procesov je ključno za optimizacijo kombinacije EKT z zaviralci imunskih kontrolnih točk, kar predstavlja obetavno strategijo za pretvorbo lokalnega ablativnega učinka EKT v sistemski protitumorski učinek.

Namen študije je opredeliti občutljivost mišjih celičnih linij melanoma (B16-F10) in kolorektalnega karcinoma (CT26) na EKT s CDDP *in vitro* ter *in vivo* kot osnovo za nadaljnje določanje dinamike in vrste celične smrti. Občutljivost obeh celičnih linij na EKT s CDDP smo določili z metabolnim testom PrestoBlue 72 h po EKT ter z določanjem proliferativne sposobnosti s testom klonogenosti 144 h po EKT ter z vsakim testom določili odmerek, kjer odmre 70 % celic (IC_{70}). V celični liniji B16-F10 je bil IC_{70}-L, določen s testom klonogenosti, 32 μM, IC_{70}-H, določen s testom PrestoBlue, pa 140 μM. V celični liniji CT26 je IC_{70}-L znašal 25 μM, IC_{70}-H pa 70 μM. Učinkovitost EKT z intratumorsko aplikacijo CDDP smo preverili tudi *in vivo* na mišjem modelu CT26. Testirali smo šest odmerkov CDDP (2,5 μg, 5 μg, 10 μg, 20 μg, 30 μg in 40 μg) in spremljali rast tumorjev ter izračunali zaostanek v rasti. Pokazali smo, da se zaostanek v rasti povečuje z naraščajočim odmerkom CDDP - od 3 dni pri najnižjem odmerku (2,5 μg) do 41 dni pri najvišjem (40 μg). V prihodnjih poskusih bomo dinamiko in vrsto celične smrti po EKT s CDDP natančneje opredelili s funkcionalnimi testi ter analizirali transkriptom z mRNA sekvenciranjem ob različnih časovnih točkah po EKT.

p37

T-CELIČNI LIMFOM, POVEZAN Z ENTEROPATIJO V SLOVENIJI

Ana Iglič[1], Anja Prijatelj[1], Gorana Gašljević[2], Panna Dora[2], Metka Volavšek[1,3], Lučka Boltežar[1,2]

[1] *Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta Ljubljana, Slovenija*
[2] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za patologijo, Ljubljana, Slovenija*
[3] *Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Inštitut za patologijo, Ljubljana, Slovenija*

Elektronski naslov: ap0716@student.uni-lj.si

Enteropatiji pridruženi T-celični limfom (EATL) in monomorfni epiteliotropni intestinalni T-celični limfom (MEITL) sta redki in agresivni obliki primarnih intestinalnih T-celičnih limfomov, za kateri so značilni pozna diagnoza, omejene možnosti zdravljenja in slaba prognoza (1-5). Medtem ko je EATL etiološko in patogenetsko neposredno povezan s celiakijo, nastaja MEITL praviloma na novo in ni povezan s celiakijo. Zgodnjo diagnostiko EATL dodatno otežuje dejstvo, da se bolezen pogosto razvije pri posameznikih brez predhodno znane ali prepoznane celiakije. Zaradi redkosti obeh entitet ter klinične slike, ki pogosto posnema druga akutna ali kronična obolenja prebavil, so podatki o kliničnih značilnostih, poteku zdravljenja in dolgoročnemu preživetju teh bolnikov v Sloveniji doslej ostajali nepopolni ter omejeni (6).

Namen raziskave je bil opredeliti demografske, klinične in patohistološke značilnosti bolnikov z EATL in MEITL, določiti delež bolnikov s predhodno znano in klinično vodeno celiakijo ter analizirati načine zdravljenja in izide bolezni. Dodatno smo želeli ovrednotiti značilnosti tumorskega mikrookolja in njihovo povezanost s preživetjem. Predpostavili smo, da več kot polovica bolnikov z EATL ob diagnozi limfoma nima predhodno znane celiakije ter da je večji delež regulatornih limfocitov T v tumorskem mikrookolju povezan z ugodnejšim preživetjem. S preučitvijo teh parametrov ter klasičnih kliničnih prognostičnih dejavnikov smo želeli prispevati k celovitejšemu razumevanju biološkega poteka bolezni in identifikaciji kazalnikov, ki bi v prihodnje lahko pripomogli k boljši diagnostični ter terapevtski obravnavi teh izjemno agresivnih entitet.

Izvedli smo retrospektivno neintervencijsko opazovalno kohortno študijo bolnikov z EATL ali MEITL, diagnosticiranih na Onkološkem inštitutu Ljubljana (OILJ) med letoma 2000 in 2025. Vključenih je bilo 28 bolnikov, od tega 21 z EATL in 7 z MEITL. Klinični podatki so bili pridobljeni iz zdravstvene dokumentacije in Registra raka Republike Slovenije, pri vseh bolnikih pa smo analizirali demografske in klinične značilnosti, razširjenost bolezni, stanje zmogljivosti, laboratorijske kazalnike, zdravljenje in izide bolezni. Pri 25 bolnikih je bila izvedena dodatna patohistološka in imunohistokemična analiza tumorskega mikrookolja z označevalci FOXP3, PD-1, PD-L1 in CD163. Kategorične spremenljivke so bile analizirane z opisno statistiko, numerične s t-testom ali Mann-Whitneyevim U-testom. Celokupno preživetje (OS) in preživetje brez odpovedi zdravljenja (FFS) sta bila ocenjena s Kaplan-Meierjevo metodo, razlike med skupinami z log-rank testom, prognostični vpliv pa z univariantno Coxovo regresijo ($p < 0,05$).

Mediana starosti ob diagnozi je bila 62,5 let (razpon: 32-82), 60,7 % bolnikov je bilo moških. Predhodno celiakijo je imelo 25,0 % bolnikov (33,3 % EATL), mediana trajanja celiakije pred pojavom limfoma pa je znašala 5,0 let. Vsi bolniki so bili ob diagnozi v stadiju IV, 82,1 % jih je imelo IPI ≥3, 42,9 % pa jih je imelo WHO PS ≥ 2. Vodilni simptomi ob predstavitvi so bili bolečina v trebuhu (60,7 %), nehoteno hujšanje (53,6 %) ter akutni zapleti, kot sta perforacija črevesja (25,0 %) in ileus (17,9 %). Kirurško in sistemsko zdravljenje je prejelo 85,7 % bolnikov, najpogosteje z antraciklinskimi režimi, predvsem CHOP. Popolni ali delni odgovor je bil dosežen pri 33,3 % bolnikov, pri 50,0 % pa zdravljenje prvega reda ni bilo dokončano zaradi zapletov ali hitrega napredovanja bolezni. Najpogostejša zapleta sta bila sepsa in gastrointestinalna krvavitev, sledila sta ileus in ponovna perforacija. Mediano OS je znašalo

5,5 mesecev, enoletno OS 25,0 %, mediano FFS pa 5,0 mesecev (enoletno 12,0 %). FFS se je med EATL in MEITL statistično značilno razlikovalo (p = 0,011), medtem ko razlika v OS ni bila značilna (p = 0,180). Slabše WHO PS je bilo povezano s krajšim OS (p < 0,001) in FFS (p = 0,005), starost pa z obema izidoma (OS p = 0,022; FFS p = 0,046). Imunohistokemični označevalci tumorskega mikrookolja niso bili statistično značilno povezani s preživetjem. Vsi trije bolniki, zdravljeni z visokodozno kemoterapijo in avtologno presaditvijo krvotvornih matičnih celic (auSCT), so bili ob zaključku spremljanja živi in brez napredovanja bolezni, vendar zaradi majhnega števila bolnikov izsledka ni bilo mogoče statistično ovrednotiti.

EATL in MEITL sta v slovenski kohorti predstavljala redki in izrazito agresivni bolezni, za kateri so bili značilni: napredovala bolezen ob diagnozi, pogosto prisotni urgentni kirurški zapleti, omejen odziv na zdravljenje in kratko preživetje. Večina bolnikov z EATL ni imela predhodno znane celiakije, s čimer je bila prva delovna hipoteza potrjena. Zmogljivostno stanje in starost sta bila pomembno povezana s preživetjem, medtem ko povezave med analiziranimi značilnostmi tumorskega mikrookolja in preživetjem nismo dokazali, s čimer druge hipoteze nismo potrdili. Zaradi majhnega števila bolnikov ter retrospektivne narave raziskave so za zanesljivo potrditev prognostičnega pomena posameznih dejavnikov potrebne nadaljnje raziskave na večjih kohortah.

Literatura

1. Delabie J, et al. Enteropathyassociated T-cell lymphoma: clinical and histological findings from the international peripheral T-cell lymphoma project. Blood. 2011; 118 (1): 148-55. doi: 10.1182/blood-2011-02-335216
2. Arps DP, Smith LB. Classic versus type II enteropathy-associated T-cell lymphoma: diagnostic considerations. Archives of Pathology and Laboratory Medicine. 2013; 137 (9): 1227-31. doi: 10.5858/arpa.2013-0242-CR
3. Ferreri AJM, et al. Enteropathy-associated T-cell lymphoma. Critical Reviews in Oncology/ Hematology. 2011; 79 (1): 84-90. doi:10.1016/j.critrevonc.2010.06.006
4. Nijeboer P, et al. Treatment response in enteropathy associated T-cell lymphoma; survival in a large multicenter cohort. American Journal of Hematology. 2015; 90 (6): 493-8. doi: 10.1002/ ajh.23992
5. Malamut G, et al. Enteropathy associated T cell lymphoma in celiac disease: a large retrospective study. Digestive and Liver Disease. 2013; 45 (5): 377-84. doi: 10.1016/j.dld.2012.12.001
6. Jezeršek Novakovic B, Novakovic S, Frkovic-Grazio S. A single-center report on clinical features and treatment response in patients with intestinal T cell non-Hodgkin's lymphomas. Oncology Reports. 2006; 16 (1): 191-5.

PROSTORSKA TRANSKRIPTOMSKA ANALIZA ZA RAZLIKOVANJE MED PRIMARNIM HOLANGIOKARCINOMOM IN METASTATSKIM ADENOKARCINOMOM TREBUŠNE SLINAVKE V JETRIH

Uršula Prosenc Zmrzljak[1], Iva Sabolić[2], Kaja Blagotinšek Cokan[1], Emanuela Boštjančič[3], Branislava Ranković[3], Nina Hauptman[3]

[1] *Labena d.o.o., Labena CRO, Ljubljana, Slovenija*

[2] *Labena d.o.o., Zagreb, Hrvaška*

[3] *Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Inštitut za patologijo, Ljubljana, Slovenija*

Elektronski naslov: ursula.prosenc@biaseparationscro.com

Razlikovanje med primarnim rakom žolčnih vodov - holangiokarcinomom (CCA) in metastatskim duktalnim adenokarcinomom trebušne slinavke (PDAC) v jetrih ostaja pomemben diagnostični izziv v klinični patologiji. Zaradi podobnih histoloških značilnosti ter pomanjkanja visoko specifičnih imunohistokemičnih označevalcev je zanesljiva opredelitev izvora tumorja pogosto zahtevna, natančna diagnoza pa je ključna za izbiro ustreznega zdravljenja.

p39

V tej raziskavi smo z uporabo visokoločljivostne platforme za prostorsko transkriptomiko Xenium raziskovali nove molekularne podpise, ki bi omogočili zanesljivejše razlikovanje med tema dvema oblikama karcinoma. Analizirali smo raznolik nabor devetih tkivnih vzorcev, ki so vključevali zdrava jetra in trebušno slinavko ter vzorce hepatocelularnega karcinoma (HCC) in primarnega raka trebušne slinavke. Osredotočili smo se predvsem na primerjavo primarnega holangiokarcinoma z metastatskim PDAC v jetrih.

Analiza je bila usmerjena v opredelitev celično-specifičnih vzorcev diferencialnega izražanja genov ter v karakterizacijo prostorske organizacije tumorskega mikrookolja. S podrobno analizo interakcij imunskega sistema z malignimi celicami smo želeli prepoznati značilne molekularne vzorce, specifične za posamezno tumorsko obliko.

Pridobljeni prostorski transkriptomski atlas omogoča poglobljen vpogled v celično in molekularno arhitekturo jetrnega mikrookolja ter izpostavlja potencialne biooznačevalce, ki bi lahko prispevali k zanesljivejšemu razlikovanju med primarnimi in sekundarnimi hepatobiliar¬nimi malignostmi ter s tem pomagali preseči trenutne diagnostične omejitve.

TRACE ELEMENT RATIOS AS POTENTIAL PREDICTIVE AND PROGNOSTIC BIOMARKERS IN BILIARY TRACT CANCERS (BTCS) PATIENTS

Martina Reberšek[1,2], Radmila Milačič Ščančar[3,7], Miroslav Štrbac[3,7], Nežka Hribernik[1,2], Katja Uršič Valentinuzzi[4,5], Maja Čemažar[4,6], Katarina Kozlica[3], Ajda Medved[2,4], Saša Kupčič[2,4], Janez Ščančar[3,7]

[1] *Institute of Oncology Ljubljana, Department of Medical Oncology, Ljubljana, Slovenia*
[2] *University of Ljubljana, Medical Faculty, Ljubljana, Slovenia*
[3] *Jožef Stefan Institute, Department of Environmental Sciences, Ljubljana, Slovenia*
[4] *Institute of Oncology Ljubljana, Department of Experimental Oncology, Ljubljana, Slovenia*
[5] *University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Ljubljana, Slovenia*
[6] *University of Primorska, Faculty of Health Sciences, Izola, Slovenia*
[7] *Jožef Stefan International Postgraduate School, Ljubljana, Slovenia*

Elektronski naslov: mrebersek@onko-i.si

BTCs have poor prognosis and usually diagnosed at an advanced stage. Tumour marker CA 19-9 is not specific with limited diagnostic value in BTCs. Deregulation of the homeostasis of trace elements (TEs) is involved in the carcinogenesis of different cancers, including BTCs. The aim was to evaluate TEs ratios as potential predictive and prognostic biomarkers of response to systemic therapy (ST), in correlation with radiological CT assessment in BTCs patients (pts). Twenty healthy volunteers (HV) (12 F/8 M) and 20 (14 F/6 M) pts with advanced BTCs from our prospective clinical study (NCT06060990) were included. Total concentrations of copper (Cu), zinc (Zn), selenium (Se), and manganese (Mn) were determined in samples from HVs to establish reference values, and in BTCs pts, using inductively coupled plasma–mass spectrometry (ICP-MS), and Cu/Zn, Cu/Se and Cu/Mn were calculated and evaluated. The medium age of HV was 58.8 and BTCs pts was 67.7 years. Baseline CA19-9 was elevated in 11 pts. Eleven pts received chemo-immunotherapy as first-line ST. Best radiological responses to ST were 1 CR, 3 PR, 10 SD, and 6 PD. The corresponding Cu/Zn, Cu/Se and Cu/Mn ratios in HV and BTCs patients were 1.05±0.196, 8.45±1.71, 892±270 and 1.57±0.655, 13.7±4.92 and 1312±863, respectively. Median TEs ratios Cu/Zn, Cu/Se and Cu/Mn in patient with normal CA 19-9, in whom CR was achieved, were 1.55, 14.5 and 1683, respectively. Median TEs ratios in 2 pts with elevated CA19-9, in whom PR was achieved, were 1.65, 12.4, 1195 and 2.02, 14.5 and 1962, respectively. Median Cu/Zn, Cu/Se and Cu/Mn ratios of BTCs pts differ from those of HV. All 3 median TEs ratios were higher in BTCs pts compared to those in HV. Median TEs ratios in BTCs pts with radiological CT objective response to ST were still higher compared to median TEs ratios in HV. TEs ratios Cu/Zn, Cu/Se and Cu/Mn show potential as biomarkers for BTCs for detection and monitoring treatment effectiveness.

p40

Zahvala

Raziskava je potekala v okviru internega projekta, ki ga financira Onkološki inštitut Ljubljana OI-1-24, v okviru projekta J7-50128 in programov P03-321, P1- 0143. P3-0003, ki jih financira Javna agencija za znanstvenoraziskovalno in inovacijsko dejavnost Republike Slovenije (ARIS).

ELEKTROKEMOTERAPIJA V KOMBINACIJI Z RADIOTERAPIJO PRI TUMORJIH GLAVE IN VRATU: PODATKI IZ PODATKOVNE ZBIRKE INSPECT

Gregor Serša[1], Giulia Bertino[2], Marta Minuti[2], Julie Gehl[3,4], Erika Kis[5], Hadrian Nassabi[6], Michele Pio Grieco[7], Giuseppe Riva[8], Matteo Mascherini[9], Francesca De Terlizzi[10], Aleš Grošelj[1], Maša Omerzel[1], Maja Čemažar[1]

[1] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za eksperimentalno onkologijo, Ljubljana, Slovenija*

[2] *University of Pavia, Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, IRCCS Policlinico San Matteo Foundation, Pavia, Italija*

[3] *Zealand University Hospital, Department of Clinical Oncology and Palliative Care, Roskilde, Danska*

[4] *University of Copenhagen, Faculty of Health and Medical Sciences, Department of Clinical Medicine, Copenhagen, Danska*

[5] *University of Szeged, Albert Szent-Györgyi Clinical Centre, Department of Dermatology and Allergology, Albert Szent-Györgyi Medical School, Szeged, Madžarska*

[6] *SRH- Waldklinikum, Department of Dermatology and Plastic Surgery, Gera, Nemčija*

[7] *UOC Chirurgia Plastica e Skin Cancer Unit, IRCCS CROB Centro Riferimento Oncologico Basilicata, Rionero in Vulture (PZ), Italija*

[8] *AOU Città della Salute e della Scienza of Turin, Division of Otorhinolaryngology, Department of Surgical Sciences, Turin, Italija*

[9] *IRCCS AOM Liguria, Department of Surgery, Genoa, Italija*

[10] *IGEA Biophysics Lab. Carpi, Modena, Italija*

Elektronski naslov: gsersa@onko-i.si

p41

Elektrokemoterapijo (EKT) lahko pri tumorjih uporabimo bodisi pred zdravljenjem z radioterapijo (RT), bodisi pri lezijah, ki se ponovijo po RT. Namen te raziskave je bil oceniti izvedljivost, varnost in učinkovitost kombinacije EKT in RT, ne glede na zaporedje zdravljenj, pri bolnikih s tumorji v predelu glave in vratu.

Bolniki so bili retrospektivno izbrani iz podatkovne zbirke InspECT, na podlagi naslednjih meril: lezija v predelu glave in vratu katerega koli histološkega izvora, zdravljenje z EKT in RT v katerem koli zaporedju, pri čemer je bil časovni razmik med obema zdravljenjema največ 12 mesecev. Bolniki so prejeli bodisi EKT, ki ji je sledila RT (EKT → RT), bodisi RT, ki ji je sledila EKT (RT → EKT). V obeh skupinah je bilo drugo zdravljenje izvedeno zaradi nepopolnega odziva na prvo zdravljenje ali ponovitve bolezni po njem. Mediani časovni razmik med zdravljenjema je bil v skupini EKT → RT 5,3 mesece (razpon 1–12 mesecev), v skupini RT → EKT pa 8 mesecev (razpon 1–12 mesecev), pri čemer je bil najkrajši razmik 1 mesec. V raziskavo je bilo vključenih 37 bolnikov. V kohorti so prevladovali starejši bolniki, z mediano starosti nad 80 let (razpon 50–96 let). EKT z bleomicinom je bila izvedljiva pri vseh bolnikih, ne glede na to, ali je bila izvedena pred RT ali po njej. V skupini EKT → RT je bil glavni razlog za izvedbo RT delni odziv po EKT (67 %), medtem ko je bil v skupini RT → EKT glavni razlog za izvedbo EKT stabilna ali napredujoča bolezen po RT (58 %). V obeh skupinah so se zmanjšali lokalni simptomi, kot so ulceracija, neprijeten vonj in gnojni izcedek. Delež objektivnih odgovorov po 2 mesecih je znašal 89 % v skupini EKT → RT in 58 % v skupini RT → EKT. Preživetje brez napredovanja bolezni po 24 mesecih je bilo 68 % v skupini EKT → RT in 20 % v skupini RT → EKT ($p = 0,0101$). Kaplan–Meierjevi krivulji preživetja brez napredovanja bolezni sta se med skupinama statistično značilno razlikovali (log-rank $p = 0,0232$).

Zaključimo lahko, da je kombinacija EKT in RT izvedljiva, varna in učinkovita pri starejših bolnikih s tumorji v predelu glave in vratu. Boljši izidi, opaženi pri bolnikih, pri katerih je bila EKT izvedena pred RT, kažejo, da bi lahko imela EKT posebno vlogo kot neoadjuvantno zdravljenje pred RT, zlasti pri obsežnih, ulceriranih ali simptomatskih lezijah te populacije bolnikov.

PROTEOMSKA ANALIZA DECELULARIZIRANEGA ZUNAJCELIČNEGA MATRIKSA DEBELEGA ČREVESA KOT ORODJE ZA SISTEMATIČNO ODKRIVANJE BIOOZNAČEVALCEV V BLATU PRI ZGODNJEM NASTANKU TUMORJEV

Tea Sinožić[1,2], Matej Kolarič[1,3], Tilen Sever[1,3], Petra Matjan Štefin[1,3], Boris Turk[1,4], Marko Fonović[1]

[1] *Institut Jožef Stefan, JOdsek za biokemijo, molekularno in strukturno biologijo, Ljubljana, Slovenija*

[2] *Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Medicinska fakulteta, Interdisciplinarni doktorski študijski program Biomedicina, Slovenija*

[3] *Mednarodna podiplomska šola Jožefa Stefana, Ljubljana, Slovenija*

[4] *Univerza v Ljubljani, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Ljubljana, Slovenija*

Elektronski naslov: tea.sinozic@ijs.si

V zgodnji tumorigenezi, pogojeni z vnetjem, se zunajcelični matriks debelega črevesa znatno preoblikuje, zato njegova proteomska sestava predstavlja obetaven vir za odkrivanje potencialnih bioloških označevalcev (1,2). Poleg tega so zaradi svoje lokalizacije proteini zunajceličnega matriksa v debelem črevesu v neposrednem stiku z blatom. Posledično se lahko sproščajo v blato in tako predstavljajo potencialne kandidate za biooznačevalce. V tej študiji smo okarakterizirali mišji proteom decelulariziranega debelega črevesa zdravega in rakavega tkiva ter ju primerjali z nativnim tkivom. S tem smo potrdili, da metoda decelularizacije izboljša zaznavanje proteinov zunajceličnega matriksa. Z uporabo kemijskih induktorjev tumorigeneze, azoksimetana in natrijevega dekstran sulfata (AOM/DSS) smo inducirali mišji model raka debelega črevesa in danke, ki je povezan s kolitisom (3,4). Decelularizirana tkiva debelega črevesa smo analizirali z masno spektrometrijo in s proteomskim profiliranjem zaznali 26 proteinov s povišanim izražanjem v skupini AOM/DSS v primerjavi s kontrolno skupino. Trije od teh proteinov doslej niso bili opisani kot biooznačevalci v blatu. Za dva kandidata, nevtrofilni granularni protein (NGP) in z interferonom induciran transmembranski protein 3 (IFITM3), smo z encimskoimunskim testom (ELISA) potrdili povečano izražanje v vzorcih mišjega blata. Rezultate imunološke detekcije smo primerjali s hemoglobinom in fekalnim kalprotektinom, ki sta že uveljavljena biooznačevalca v blatu (5,6). Večproteinski paneli so pri tem pokazali komplementarne rezultate — tako pri razlikovanju med zgodnjimi tumorigenimi stadiji in zdravimi kontrolami kot pri zaznavanju sprememb, ki so zgolj posledica vnetja. Naše ugotovitve izpostavljajo velik potencial proteomske analize decelulariziranega debelega črevesa kot novega pristopa za odkrivanje doslej neznanih proteinov, ki se lahko zaznajo v blatu, in zato predstavljajo obetavne kandidate za neinvazivne zgodnje biooznačevalce raka debelega črevesa in danke.

p42

Literatura

1. Lee JJ, et al. Extracellular matrix: unlocking new avenues in cancer treatment. Biomark Res. 2025;13(1):78. doi:10.1186/s40364-025-00757-3.
2. Naba A. Ten Years of Extracellular Matrix Proteomics: Accomplishments, Challenges, and Future Perspectives. Mol Cell Proteomics. 2023;22(4):100528. doi:10.1016/j.mcpro.2023.100528.
3. De Robertis M, et al. The AOM/DSS murine model for the study of colon carcinogenesis: From pathways to diagnosis and therapy studies. J Carcinog. 2011;10:9. doi:10.4103/1477-3163.78279.
4. Modesto R, et al. Chemically Induced Colitis-Associated Cancer Models in Rodents for Pharmacological Modulation: A Systematic Review. J Clin Med. 2022;11(10):2739. doi:10.3390/jcm11102739.
5. Song LL, Li YM. Current noninvasive tests for colorectal cancer screening: An overview of colorectal cancer screening tests. World Journal of Gastrointestinal Oncology. 2016;8(11):793–800. doi:10.4251/wjgo.v8.i11.793
6. Vanarsa K, et al. High Accuracy Stool Biomarkers of Precancerous Colorectal Cancer Identified Using a 2000-Plex Immunoproteomic Screen. Mol Cell Proteomics. 2026;25(3):101079. doi:10.1016/j.mcpro.2025.101079.

KARAKTERIZACIJA MEHANIZMOV CELIČNE SMRTI PO ELEKTROKEMOTERAPIJI Z BLEOMICINOM *IN VITRO* TER *IN VIVO*

Lara Snoj[1,2], Michael Dengler[3], Amar Balihodzic[3], Živa Pišljar[1,2], Maša Omerzel[1,2], Tanja Jesenko[1,2], Gregor Serša[1,2,4], Maja Čemažar[1,2,5], Boštjan Markelc[1,2,6]

[1] *Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Ljubljana, Slovenija*
[2] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za eksperimentalno onkologijo, Ljubljana, Slovenija*
[3] *Medicinska univerza v Gradcu, Oddelek za onkologijo, Graz, Avstrija*
[4] *Univerza v Ljubljani, Zdravstvena fakulteta, Ljubljana, Slovenija*
[5] *Univerza na Primorskem, Fakulteta za vede o zdravju, Izola, Slovenija*
[6] *Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Ljubljana, Slovenija*

Elektronski naslov: lsnoj@onko-i.si

Elektrokemoterapija (EKT) je lokalno ablativno zdravljenje, pri katerem električni pulzi prehodno povečajo prepustnost celične membrane in tako omogočijo učinkovitejši vnos citostatika v celice. Bleomicin (BLM) je v kombinaciji z elektroporacijo še posebej učinkovit, saj se njegova citotoksičnost na mestu dovajanja električnih pulzov močno poveča. Čeprav je glavni mehanizem citotoksičnosti EKT z BLM poškodba DNA, ki vodi predvsem v mitotsko katastrofo in apoptozo, lahko EKT sproži tudi druge oblike regulirane celične smrti, kot so nekroptoza, piroptoza in feroptoza. Med njimi je tudi imunogena celična smrt (ICD), katere imunogene značilnosti temeljijo na sproščanju signalnih molekul, imenovanih s poškodbo povezani molekulski vzorci (angl. damage-associated molecular patterns, DAMP), iz umirajočih tumorskih celic, kar lahko vodi v aktivacijo protitumorskega imunskega odziva. Znano je, da EKT z BLM sproži ICD, vendar časovna dinamika sproščanja DAMP in oblike celične smrti po EKT z BLM še niso bile natančno opredeljene. Razumevanje celičnih odzivov na EKT je ključno za opredelitev njenih citotoksičnih in imunogenih učinkov ter za načrtovanje kombiniranega zdravljenja z zaviralci imunskih kontrolnih točk.

Namen naše raziskave je bil opredeliti časovno dinamiko celične smrti po EKT z BLM in ovrednotiti prispevek posameznih poti celične smrti k odzivu na zdravljenje.

Občutljivost celičnih linij mišjega melanoma (B16F10) in karcinoma debelega črevesa (CT26) na EKT z BLM smo določili s testom PrestoBlue ter testom klonogenosti. Na podlagi dobljenih rezultatov smo določili dve koncentraciji BLM, pri katerih je odmrlo 70 % celic (IC_{70}): visoko (IC_{70}-H), določeno s testom PrestoBlue, in nizko (IC_{70}-L), določeno s testom klonogenosti. Raven celične smrti po EKT smo nato ovrednotili s testom sproščanja laktat dehidrogenaze (LDH).

Med eksperimentalnimi skupinami nismo zaznali opaznih razlik, kar kaže na omejeno in razmeroma stabilno okvaro celične membrane, meritve s testom PrestoBlue pa so nasprotno pokazale zmanjšano živost celic po EKT. Skladno s tem je mikroskopija s časovnim zamikom pokazala, da večina celic po EKT ostane živih, vendar pridobijo »povečano in sploščeno« obliko ter izgubijo sposobnost proliferacije. Celično smrt in celovitost celične membrane smo nato dodatno ovrednotili z barvanjem s propidijevim jodidom (PI) in pretočno citometrijo. Za določitev prevladujoče poti celične smrti smo s tehnologijo CRISPR-Cas9 v tumorskih celičnih linijah izbili gene, ključne za apoptozo (Bax/Bak), piroptozo (GSDMD/E) in nekroptozo (MLKL). Po EKT z BLM smo med celicami divjega tipa (WT) in celicami z izbitimi geni (KO) Bax/Bak ter GSDMD/E opazili le manjše razlike v umiranju, pri čemer so bile celice KO nekoliko manj občutljive na zdravljenje. Za potrditev ugotovitev *in vitro* smo izvedli analizo sekvenciranja RNA. Vpliv posameznih poti celične smrti na učinkovitost EKT smo ovrednotili tudi *in vivo*, na mišjih modelih s tumorji WT in MLKL KO. Tumorji MLKL KO so se na EKT z BLM odzvali slabše kot tumorji WT, kar nakazuje možen prispevek nekroptoze k

p43

protitumorskemu učinku EKT.

Naši rezultati kažejo, da EKT z BLM ne povzroči hitre celične smrti, zlasti pri koncentraciji IC_{70}-L; izrazito pa vpliva na sposobnost celic, da tvorijo kolonije. Poleg tega so rezultati na tumorskem modelu CT26 *in vivo* pokazali, da nekroptoza pomembno prispeva k protitumorski učinkovitosti EKT z BLM. Nadaljnja karakterizacija modelov KO bo podrobneje pojasnila celične odzive, ki so podlaga delovanja EKT, in njihov možen vpliv na učinkovitost zdravljenja ter imunogenost.

OCENA PRAVILNOSTI PODAJANJA DIAGNOZ RAKA V DRUŽINAH S SUMOM NA PRISOTNOST SINDROMA DEDNEGA RAKA DOJK IN/ALI JAJČNIKOV: REZULTATI PROSPEKTIVNE RAZISKAVE

Ksenija Strojnik[1], Simona Hotujec[1], Ana Blatnik[1,2], Barbara Stojanov[1], Zvonka Kastelic[1], Nina Zavrl[1], Tina Žagar[3], Vesna Zadnik[3], Mateja Krajc[1,4]

[1] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za onkološko klinično genetiko, Ljubljana, Slovenija*

[2] *Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Ljubljana, Slovenija*

[3] *Onkološki inštitut Ljubljana, Register raka Republike Slovenije, Ljubljana, Slovenija*

[4] *Univerza na Primorskem, Fakulteta za vede o zdravju, Izola, Slovenija*

Elektronski naslov: kstrojnik@onko-i.si

Na Oddelku za onkološko klinično genetiko Onkološkega inštituta Ljubljana zaradi velikega števila napotitev na onkološko genetsko svetovanje opravimo predhodno oceno vseh napotenih primerov, da bi določili optimalni vrstni red obravnave. Razvrstitev posameznikov je odvisna od verjetnosti, da je v družini prisotna genetska okvara, ta pa temelji na analizi podatkov o rakih v družini in starosti ob pojavu bolezni. V skladu s procesom dela obravnave na Oddelku vse diagnoze raka, ki jih navedejo posamezniki, preverimo v Registru raka Republike Slovenije (1,2). S tem zagotovimo boljšo kakovost podatkov, ki vplivajo na našo odločitev glede genetske obravnave (tudi upravičenost do genetskega testiranja) in pri razvrščanju primerov v čakalne sezname. Poročanje o diagnozah raka je v Sloveniji obvezno že od leta 1950, zato je Register vir zanesljivih in visoko kakovostnih podatkov (2).

Za optimizacijo delovnega procesa smo izvedli prospektivno raziskavo, v kateri smo ocenili pravilnost poročanja anamnestično podanih podatkov o diagnozah raka v družinah in točnost poročane starosti ob diagnozi. Namen raziskave je bil ovrednotenje dodane vrednosti preverjanja anamnestično podanih diagnoz rakavih bolezni v Registru raka pri klinični obravnavi posameznikov, napotenih na genetsko obravnavo v našo ambulanto.

V obdobju 2023-2024 smo izvedli analizo vseh zaporedno napotenih družin ob sumu na prisotnost sindroma dednega raka dojk in/ali jajčnikov (HBOC). Analizirali smo pravilnost podanih diagnoz raka in starosti ob diagnozi za sorodnike v prvem in drugem kolenu za rake, ki jih povezujemo s HBOC: rak dojk, jajčnikov/jajcevodov/primarni peritonealni serozni karcinom, prostate in trebušne slinavke. Raziskavo je odobrila komisija za obravnavo kliničnih raziskav in etična komisija Onkološkega inštituta Ljubljana (številka: ERIDNPVO-0077/223).

Med 825 posamezniki, ki so poročali pozitivno družinsko anamnezo, je bilo 774 takih, ki so poročali sorodnike z raki v prvem in drugem kolenu. Preostalih 51 je imelo v družini samo sorodnike z diagnozami s področja HBOC od tretjega kolena dalje.

V analiziranih 774 družinah je bilo 1463 sorodnikov v prvem in drugem kolenu, ki so imeli vsaj eno omenjeno diagnozo. Skupaj je bilo pri teh sorodnikih identificiranih 1562 diagnoz raka, povezanih s HBOC. 68,2 % diagnoz je bilo poročanih pravilno, pri 10,0 % pa je bila poročana napačna diagnoza. 7,6 % poročanih diagnoz ni bilo zabeleženih v Registru. Pri 5,2 % diagnoz (81 primerov) napoteni rakavih bolezni v družini niso poročali, so pa bile zabeležene v Registru. 9,0 % anamnestično podanih diagnoz ni bilo mogoče preveriti (sorodniki so se zdravili v tujini ali ni bilo zadostnih osebnih podatkov o sorodnikih za preverjanje).

Diagnoze so bile natančneje poročane pri sorodnikih prvega kolena, in sicer so bile pravilne v 81,7 %, medtem ko so bile poročane diagnoze za drugo koleno pravilne v 56,3 %. Tudi starost ob diagnozi so napoteni bolj natančno navajali za sorodnike prvega kolena, in sicer je bila starost pravilna v 68,7 %, medtem ko je bila za drugo koleno pravilna v 33,8 %.

Pravilnost poročanja po vrsti raka za sorodnike v prvem kolenu je bila naslednja: rak dojk (99,1 %), rak prostate (94,9 %), rak trebušne slinavke (94,2 %) in rak jajčnikov (87,1 %). Za sorodnike v drugem kolenu pa so bili rezultati pravilnosti poročanja po vrsti raka naslednji: rak dojk (97,5 %), rak prostate (88,8 %), rak trebušne slinavke (70,8 %) in rak jajčnikov (67,8 %). V skupini 81 primerov, kjer sorodniki niso vedeli za raka v družini, je bilo rakov jajčnikov 5 (6,2 %).

Na podlagi pridobljenih podatkov lahko zaključimo, da so bile navedene diagnoze rakov, povezanih s sindromom HBOC, in starost ob diagnozi raka pri sorodnikih v velikem odstotku pravilne. Še posebej to velja za sorodnike v prvem kolenu, kjer so sorodniki pri raku dojk, prostate in trebušne slinavke pravilno poročali več kot 90 % diagnoz. Nekoliko slabše so poročali o diagnozi raka jajčnikov, če se je ta pojavljal v drugem kolenu, nekateri pa za to diagnozo, tudi če je rak jajčnikov bil v družini, niso vedeli oziroma je niso poročali. Ta podatek je v redni klinični praksi zelo pomemben, saj je že ena diagnoza raka jajčnikov pomembno merilo pri odločanju za genetsko testiranje. Rezultati analize bodo upoštevani pri posodobitvi kliničnih poti obravnave, kjer bi bilo najverjetneje smiselno uvesti preverjanje družinske anamneze samo za tiste diagnoze raka, za katere se je izkazalo, da je pravilnost poročanja slabša.

Literatura:

1. Onkološki inštitut Ljubljana. Proces dela na Oddelku za onkološko klinično genetiko: SOP – 587 – 5030 –. Interni dokument. Ljubljana: Onkološki inštitut Ljubljana; 2025.
2. Zadnik V, et al. Cancer burden in Slovenia with the time trends analysis. Radiol Oncol. 2017;51(1):47–55.

p44

DINAMIKA CIRKULIRAJOČIH TUMORSKIH CELIC IN NJIHOVIH SKUPKOV V PREDKLINIČNIH MIŠJIH MODELIH METASTATSKEGA RAKA DOJKE 4T1

Veronika Škrjanc[1,2], Simona Kranjc Brezar[1,2], Maja Čemažar[1,2,3], Boštjan Markelc[1,2,4], Živa Pišljar[1,2], Cvetka Grašič Kuhar[1,2], Simona Miceska[1,2], Veronika Kloboves Prevodnik[1,2,5], Tanja Jesenko[1,2]

[1] *Onkološki inštitut Ljubljana, Ljubljana, Slovenija,*
[2] *Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Ljubljana, Slovenija*
[3] *Univerza na Primorskem, Fakulteta za vede o zdravju, Izola, Slovenija*
[4] *Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Ljubljana, Slovenija*
[5] *Univerza v Mariboru, Medicinska fakulteta, Maribor, Slovenija*

Elektronski naslov: *vskrjanc@onko-i.si*

p45

Cirkulirajoče tumorske celice (CTC), ki se v krvnem obtoku pojavljajo kot posamezne celice ali skupki, imajo ključno vlogo pri metastatskem razsejanju. Njihova dinamika v predkliničnih modelih pa ostaja pomanjkljivo raziskana. V raziskavi smo primerjali tri mišje modele trojno negativnega raka dojk 4T1: podkožni model in ortotopični model z injciranjem celic v maščobje mlečne žleze pri imunokompetentnih miših BALB/c ter ortotopični model z injiciranjem celic v maščobje mlečne žleze pri imunodeficientnih golih miših. Cilj raziskave je bil vzpostaviti mišje predklinične modele za preučevanje CTC *in vivo*, ki omogoča njihovo izolacijo, karakterizacijo in gojenje ex vivo. CTC smo s sistemom Parsortix® izolirali iz krvi, odvzete pri vnaprej določenih volumnih tumorja (50, 100, 200 in 300 mm^3), ter jih opredelili z morfološko in imunofluorescenčno (IF) analizo (Hoechst, pancitokeratin, CD45, vimentin in N-kadherin). CTC smo v vseh modelih zaznali že v zgodnjih fazah tumorske rasti, njihovo število pa je naraščalo z volumnom primarnega tumorja. IF analiza je v vseh modelih pokazala prevlado CTC s hibridnim epitelijsko-mezenhimskim fenotipom. Homotipski in heterotipski skupki CTC so bili prisotni v vseh fazah tumorske rasti, vendar njihovo število ni bilo povezano z volumnom tumorja. Prav tako se z naraščanjem volumna tumorja ni spreminjala velikost posameznih CTC in ne velikost skupkov CTC. Vsi trije modeli 4T1 so primerni za preučevanje CTC, pri čemer je ortotopični model pri golih miših zaradi večjega izplena CTC posebej primeren za njihovo gojenje ex vivo. Rezultati kažejo, da je tumorsko breme povezano predvsem s številom CTC, medtem ko njihove morfološke in fenotipske značilnosti ter pojavljanje v skupkih med tumorsko rastjo ostajajo razmeroma nespremenjeni.

TRANSCRIPTIONAL PROFILING OF IMMUNE CHECKPOINT AND SIGNALLING BIOMARKERS IN CANINE ORAL MUCOSAL MELANOMA: A RETROSPECTIVE COHORT STUDY

Urša Štrancar[1], Klara Kropivšek Brumat[1], Urša Lampreht Tratar[2,3], Maja Čemažar[2], Ario de Marco[1]

[1] *University of Nova Gorica, Nova Gorica, Slovenia*
[2] *Institute of Oncology Ljubljana, Slovenia*
[3] *University of Ljubljana, Faculty of Health Sciences, Slovenia*

Elektronski naslov: ursa.strancar@ung.si

Mucosal melanoma is a rare and aggressive cancer subtype that arises from non-sun-exposed mucosal surfaces and responds poorly to therapies effective in cutaneous melanoma (1). Dogs develop oral mucosal melanoma (OMM) spontaneously and at a substantially higher frequency than humans, making the canine model a uniquely accessible system for studying this disease (2). However, the molecular landscape of canine OMM remains only partly characterized.

Protein-level characterization of canine tumors is constrained by the limited availability of validated canine-reactive immunoreagents, so that immunohistochemical profiling of these targets is currently unreliable. We therefore performed RT-qPCR profiling of four clinically relevant biomarkers — PD-L1, EGFR, CEACAM1, and CD30 — in a retrospective cohort of 32 canine OMM patients from a Slovenian FFPE archive. The targets were selected to capture complementary dimensions of tumor biology: immune evasion, proliferative signaling, co-inhibitory immune checkpoint regulation, and tumor microenvironment composition, respectively.

The main observation was the degree of transcriptional heterogeneity across the cohort. No single biomarker was uniformly expressed and unsupervised hierarchical clustering separated the samples into four groups: a transcriptionally quiescent group with generic low expression of the four markers; a group characterized by high EGFR and CEACAM1 co-expression, suggesting active receptor tyrosine kinase signaling; a group with elevated PD-L1 and CD30, indicative of an inflamed tumor microenvironment potentially responsive to checkpoint immunotherapy; and an intermediate group with moderate CEACAM1 prominence. The co-clustering of EGFR and CEACAM1 was supported by a positive correlation between the two transcripts that remained significant after correction for multiple testing. This is consistent with their reported molecular interaction (3) and with the association of CEACAM1 upregulation with melanoma progression and reduced response to immunotherapy (4). To our knowledge, this co-expression has not been reported previously in canine melanoma.

CD30 showed the widest inter-tumor variability — consistent with its predominant expression on infiltrating regulatory T cells (Tregs) rather than on tumor cells (5), reflecting differences in immunosuppressive Treg content between individual tumors. This interpretation was further supported by a unique longitudinal observation: a single patient biopsied 2.5 years apart showed a marked shift from an EGFR-active to a CD30-high expression profile — which may reflect a change in microenvironment composition over the course of disease.

Taken together, these findings argue against a single therapeutic target across canine OMM. Checkpoint immunotherapy, EGFR-directed, and Treg-targeting strategies may instead benefit distinct patient subgroups, highlighting the need for individual biomarker profiling. Whether comparable heterogeneity exists in human mucosal melanoma remains to be established before these findings can inform human disease.

References

1. Santeufemia DA, et al. Current Trends in Mucosal Melanomas: An Overview. Cancers. 2023;15.
2. Prouteau A, André C. Canine melanomas as models for human melanomas: Clinical, histological, and genetic comparison. Genes. 2019;10.
3. Abou-Rjaily GA, et al. CEACAM1 modulates epidermal growth factor receptor-mediated cell proliferation. J Clin Invest. 2004;114:944–952.
4. Thies A, et al. CEACAM1 expression in cutaneous malignant melanoma predicts the development of metastatic disease. J Clin Oncol. 2002;20:2530–2536.
5. Lim JX, et al. PD-1 receptor deficiency enhances CD30+ Treg cell function in melanoma. Nat Immunol. 2025;26:1074–1086.

p46

CELOTNO BREME AKTIVNOSTI KOT ZANESLJIVEJŠI LONGITUDINALNI SLIKOVNI BIOOZNAČEVALEC OD TARČNEGA TUMORSKEGA VOLUMNA PRI [^{177}Lu]Lu-PSMA SPECT/CT

Anja Štrok, Daša Šfiligoj Planjšek, Katra Šenica, Boštjan Simonič, Sebastijan Rep

Univerzitetni klinični center Ljubljana, Klinika za nuklearno medicino Ljubljana, Slovenia

Elektronski naslov: anja.strok@kclj.si

Radioligandna terapija z [^{177}Lu]Lu-PSMA se vse pogosteje uporablja pri bolnikih z metastatskim, na kastracijo odpornim rakom prostate (mKORP) (1,). Po vsakem ciklu zdravljenja je priporočeno postterapevtsko SPECT/CT (angl. single-photon emission computed tomography/computed tomography) slikanje, ki lahko predstavlja kvantitativen slikovni biooznačevalec za ocenjevanje odziva na zdravljenje. V raziskavi smo s kvantitativnim SPECT/CT po terapiji z [^{177}Lu]Lu-PSMA proučevali povezavo med tarčnim tumorskim volumnom (TTV, angl. target tumor volume; volumen PSMA-pozitivnega tumorskega tkiva), celotnim bremenom aktivnosti (TAB, angl. total activity burden; produkt volumna lezije in privzema radiofarmaka) ter za prostato specifičnim antigenom (PSA). Dodatno smo ocenili uporabnost TTV in TAB kot longitudinalnih slikovnih biooznačevalcev v skupinah bolnikov z različnim kliničnim izidom. p47

V retrospektivno raziskavo je bilo vključenih 14 bolnikov, zdravljenih z [^{177}Lu]Lu-PSMA med julijem 2024 in februarjem 2026, pri katerih smo opravili serijska SPECT/CT slikanja in meritve PSA. Sedem bolnikov je zaključilo vseh šest ciklov zdravljenja, sedem pa jih je zdravljenje zaradi napredovanja bolezni predčasno prekinilo. Opravili smo tri analize: (1) analizo celotne skupine bolnikov, (2) analizo bolnikov, ki so zaključili vseh šest ciklov zdravljenja, in (3) analizo bolnikov, ki so zdravljenje predčasno prekinili. TTV (cm^3) in TAB ($SUVbw \cdot cm^3$) smo določili s kvantitativnim SPECT/CT slikanjem. Za oceno povezanosti slikovnih parametrov s PSA pri posameznem bolniku skozi čas smo uporabili korelacijo ponovljenih meritev (rmcorr, angl. repeated measures correlation). Zaradi asimetrične porazdelitve podatkov smo uporabili logaritemsko transformacijo.

V celotni skupini bolnikov je TAB pokazal močno korelacijo s PSA (r-rm = 0,79; $p < 0,001$), medtem ko je bila korelacija med TTV in PSA šibka (r-rm = 0,32; p = 0,04). Pri bolnikih, ki so zaključili vseh šest ciklov zdravljenja, je TAB ostal močno povezan s PSA (r-rm = 0,73; $p < 0,001$), medtem ko korelacija med TTV in PSA ni dosegla statistične značilnosti (r-rm = 0,28; p = 0,07). Pri bolnikih, ki so zdravljenje predčasno prekinili, je TAB ponovno pokazal močno korelacijo s PSA (r-rm = 0,76; $p < 0,001$), medtem ko povezava med TTV in PSA ni bila statistično značilna (r-rm = 0,19; p = 0,18).

TAB, določen s [^{177}Lu]Lu-PSMA SPECT/CT, kaže močno in dosledno longitudinalno korelacijo s PSA v vseh podskupinah bolnikov ter se je izkazal kot zanesljivejši slikovni biooznačevalec v primerjavi s TTV. Rezultati kažejo, da bi TAB lahko predstavljal robusten slikovni biooznačevalec za spremljanje odziva na zdravljenje in napredovanja bolezni. Zaradi relativno majhnega števila bolnikov in retrospektivne zasnove raziskave je treba rezultate interpretirati previdno, za potrditev prikazanih ugotovitev pa so potrebne nadaljnje raziskave.

Literatura:

1. Kassas M, et al. SPECT versus PET for [^{177}Lu]Lu-PSMA response assessment using quantitative RECIP 1.0. J Nucl Med. 2026;67(6):903–909. doi:10.2967/jnumed.125.271755.
2. Uribe C, et al. Summary: SNMMI/ACNM procedure standard for posttreatment imaging of ^{177}Lu-based radiopharmaceuticals. J Nucl Med. 2025;66(10):1528–1537. doi:10.2967/jnumed.125.270979.

COMPARATIVE EVALUATION OF TWO DNA BISULFITE CONVERSION PROTOCOLS FOR OPTIMIZING METHYLATION TESTING OF ARCHIVED DNA SAMPLES IN CERVICAL CANCER SCREENING

Tajda Tavčar Kunstič[1,2], Simona Miceska[2], Jerneja Kos[2], Veronika Kloboves Prevodnik[2,3], Urška Ivanuš[4]

[1] *University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Ljublljana, Slovenia*

[2] *Institute of Oncology Ljubljana, Department of Cytopathology, Ljubljana, Slovenia*

[3] *University of Maribor, Faculty of Medicine, Maribor, Slovenia*

[4] *Institute of Oncology Ljubljana, Epidemiology and Cancer Registry, ZORA National Cervical Cancer Screening Programme, Ljubljana, Slovenia*

Elektronski naslov: tatavcar@onko-i.si

Persistent infection with high-risk human papillomavirus (hrHPV) is the primary driver of cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer. DNA methylation testing using the commercially available QIAsure Methylation Test has emerged as a promising objective molecular approach for the triage of hrHPV-positive women at increased risk of clinically significant cervical disease. However, bisulfite conversion of DNA, a critical pre-analytical step, may affect assay validity, particularly when archived cervical DNA samples with limited DNA input are used. This pilot study compared two commercially available bisulfite conversion workflows for methylation testing of archived cervical DNA.

Archived DNA samples from 192 hrHPV-positive women participating in the Slovenian National Cervical Cancer Screening Programme (ZORA) were analysed. Cervical samples were originally collected in digene Specimen Transport Medium (STM), followed by DNA extraction using the Seeprep32 automated nucleic acid extraction system (Seegene, Seoul, Republic of Korea). Extracted DNA was stored for approximately two years prior to methylation analysis. Each DNA sample underwent parallel bisulfite conversion using the EpiTect Fast 96 Bisulfite Kit (QIAGEN) and the EZ DNA Methylation-Lightning Kit (Zymo Research). The EpiTect workflow used a 96-well plate-based cleanup format, whereas the EZ DNA Methylation-Lightning workflow required individual spin columns. DNA methylation was assessed using the QIAsure FAM19A4/hsa-miR124-2 Methylation Test, with an ACTB Ct value ≤26.4 considered valid. Statistical analyses included McNemar's test, the Wilcoxon signed-rank test, Bland–Altman analysis, and concordance analysis. The median DNA concentration was 7.24 ng/µL (IQR: 12 ng/µL; range: 0.11–113.0 ng/µL). The recommended DNA input of ≥200 ng for bisulfite conversion was available for 71/192 (37.0%) samples, whereas 121/192 (63.0%) samples had <200 ng of DNA available. Valid QIAsure methylation test results were obtained for 47.9% of samples following EpiTect conversion compared with 92.7% following EZ DNA Methylation-Lightning conversion ($p < 0.001$). ACTB Ct values were significantly lower following EZ DNA Methylation-Lightning conversion than following EpiTect conversion (median 24.03 vs. 26.47, respectively; $p < 0.001$), with most invalid EpiTect results exceeding the ACTB Ct validity cutoff. Among samples yielding valid QIAsure methylation test results with both conversion methods, methylation classification (positive vs. negative) was concordant in 90.9% of cases.

The bisulfite conversion workflow substantially influenced the analytical validity of QIAsure methylation testing using archived cervical DNA. EZ DNA Methylation-Lightning resulted in substantially higher assay validity than EpiTect Fast 96, particularly in samples with limited DNA input. These findings may inform the selection of bisulfite conversion methods in laboratories working with similarly archived cervical DNA specimens.

p48

INTRATUMORSKI GENSKI ELEKTROPRENOS TRANS-POMNOŽUJOČIH mRNA KOT PLATFORMA ZA GENSKO TERAPIJO RAKA

Jaka Vrevc Žlajpah[1,2], Maja Čemažar[1,2,3], Gregor Serša[1,2,4], Urška Kamenšek[1,2,5], Urša Lampreht Tratar[1,2,6], Katja Uršič Valentinuzzi[1,2,]

[1] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za eksperimentalno onkologijo, Ljubljana, Slovenija*
[2] *Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Ljubljana, Slovenija*
[3] *Univerza na Primorskem, Fakulteta za vede o zdravju, Izola, Slovenija*
[4] *Univerza v Ljubljani, Zdravstvena fakulteta, Ljubljana, Slovenija*
[5] *Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Ljubljana, Slovenija*
[6] *Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Ljubljana, Slovenija*

Elektronski naslov: kursic@onko-i.si

Razvoj cepiv mRNA med pandemijo COVID-19 je znova spodbudil zanimanje za tehnologijo mRNA. V onkologiji je trenutno v raziskavah več strategij, vključno z modulacijo tumorskega mikrookolja, zaviranjem imunskih kontrolnih točk, ciljanjem tumorskih genetskih sprememb ter pripravo spremenjenih (imunskih) celic za celične terapije. Ker ne-pomnožujoče mRNA povzročajo le prehodno izražanje proteinov, je za doseganje terapevtskega učinka potrebno ponavljajoče odmerjanje, kar predstavlja pomemben izziv za klinično uporabo. Poleg tega zahteva uspešna dostava mRNA učinkovit dostavni sistem. Trenutno se najpogosteje uporabljajo lipidni nanodelci, katerih izbira, priprava in uporaba so kompleksni. Eden od pristopov za obhod teh omejitev je genski elektroprenos pomnožujočih mRNA. Cilj projekta je bil raziskati genski elektroprenos (GET) trans-pomnožujočega sistema mRNA (1) (taRNA) kot platformo za gensko terapijo raka.

Po meri smo oblikovali obe komponenti sistema taRNA, nepomnožujočo mRNA za replikazo iz virusa Semliki Forest (nrRNA-REPL) in trans-pomnožujoči transreplikon z zapisom za luciferazo (trRNA-LUC2). Neprevedeno ogrodje (3' in 5' UTR) smo pri trRNA oblikovali tako, da je univerzalno in ga lahko uporabimo v kombinaciji s katerimkoli transgenom, poleg tega pa zagotavlja specifičnost in varnost pomnoževanja. GET golih komponent sistema taRNA smo raziskali *in vivo* na modelu mišjega melanoma B16-F10 z intravitalnim slikanjem bioluminiscence po transfekciji tumorjev (U34401-3/2022/17). Preverjali smo učinkovitost transfekcije in pomnoževanja trRNA-LUC2 ter kinetiko bioluminscentnega signala po intratumorski dostavi širokega koncentracijskega razpona komponent taRNA (70 ng – 20 μg) ob uporabi petih različnih protokolov elektroporacije: (EP1) 1300 V/cm, 1 Hz, 100 μs, 4+4 pulzov; EP2) 1300 V/cm, 5 kHz, 100 μs, 4+4 pulzov; EP3) 600 V/cm, 1 Hz, 5 ms, 4+4 pulzov; EP4) 120 V/cm, 1 Hz, 20 ms, 2 pulza; EP5) HV (4+4 pulzov): 1300 V/cm, 100 μs, 1 Hz, LV: 8 pulzov, 140 V/cm, 50 ms, 2 Hz). Preverili smo tudi, kako intratumorsko injiciranje hialuronidaze pred GET vpliva na transfekcijo tumorjev.

Pokazali smo, da intratumorski elektroprenos omogoča učinkovito dostavo golih mRNA (trRNA-LUC2) v tumorje. Učinkovitost transfekcije je bila odvisna tako od odmerka posameznih komponent sistema kot tudi od protokola elektroporacije, med katerimi sta se kot najučinkovitejša izkazala EP3 po predhodnem injiciranju hialuronidaze in EP5. Značilno pomnoževanje smo opazili predvsem pri nizkih (nekaj 10 ng) odmerkih trRNA-LUC2, medtem ko so višji odmerki zakrili učinek pomnoževanja. Odmerka 10 μg in 20 μg nrRNA-REPL sta vodila do primerljive transfekcije, kar najverjetneje nakazuje na zasičenje oziroma omejitve dostave nrRNA-REPL. Ob dostavi taRNA-LUC2 smo dosegli 108.6-kratno povečanje mediane površine pod bioluminescentno krivuljo v primerjavi z GET samega trRNA-LUC2. V skupini s taRNA-LUC2 je bil bioluminiscentni signal prisoten še 120 h po GET. Bioluminscentni signal je bil v vseh časovnih točkah omejen na področje

p49

tumorja. Trenutno izvajamo študije, ki bodo bolj natančno opisale biodistribucijo komponent sistema taRNA in varnost ter sistemsko toksičnost.

Razvili smo platformo taRNA, ki izkorišča intratumorski elektroprenos za dostavo golih mRNA v tumorje in z uporabo elektroporacije kot dostavnega sistema zaobšli izzive ob uporabi lipidnih nanodelcev. S sočasno dostavo obeh komponent sistema taRNA smo povišali in podaljšali izražanje transgenov v primerjavi z nepomnožujočimi mRNA. Platforma predstavlja alternativo GET plazmidne DNA s potencialnimi prednostmi tako na področju varnosti kot terapevtske učinkovitosti.

Literatura

1. Perkovic M, et al. A trans-amplifying RNA simplified to essential elements is highly replicative and robustly immunogenic in mice. Molecular Therapy. 2023;31(6):1636-1646.

p49

DOLOČANJE PRISOTNOST VIRUSA EPSTEIN-BARR V CITOLOŠKIH VZORCIH BOLNIKOV S SUMOM NA LIMFOMOM Z MOLEKULARNIM PCR TESTOM ALLPLEX MENINGITIS V1

Asja Volk[1], Simona Miceska[2], Simon Buček[2], Veronika Kloboves Prevodnik[2,3]

[1] *Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Ljubljana, Slovenija*
[2] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za citopatologijo, Ljubljana, Slovenija*
[3] *Univerza v Mariboru, Medicinska fakulteta, Maribor, Slovenija*

Elektronski naslov: asja.volk@gmail.com

Okužba limfocitov z virusom Epstein-Barr (EBV) lahko predstavlja tveganje za razvoj limfoma, kar lahko kasneje vpliva na razvoj in napredovanje bolezni ter potek zdravljenja. V rutinski praksi prisotnost EBV dokazujemo na tumorskem tkivu z *in situ* hibridizacijo (ISH) za EBER (angl. Epstein–Barr encoded RNA), pri kateri zaznamo majhne, ne-kodirajoče RNA molekule, močno izražene v jedrih EBV-okuženih tumorskih celicah. Določanje prisotnosti EBV na citoloških vzorcih predstavlja velik izziv, predvsem zaradi omejene količine vzorca, postopka fiksacije in barvanja, kar lahko vpliva na zanesljivost samega rezultata. Posledično za detekcijo EBV v citoloških vzorcih potrebujemo metodo s katero bomo zanesljivo določili prisotnost virusa v tumorskih celicah tudi takrat, ko je količina vzorca zelo majhna.

p50

Cilj te raziskave je bil oceniti, ali z molekularnim PCR testom zanesljivo dokažemo prisotnost EBV v citoloških vzorcih v primerjavi z rezultati EBER ISH na tumorskem tkivu, kar bi v prihodnosti omogočilo hitrejšo identifikacijo okužbe z virusom v vzorcih, ki jih pridobimo z manj invazivnimi metodami, kot je npr. aspiracijska biopsija s tanko iglo.

V raziskavo smo vključili vzorce povečanih bezgavk, pridobljenih s kirurško ekscizijo pri bolnikih s sumom na limfom, ki so bili med oktobrom 2025 in avgustom 2026 sprejeti na Onkološkem inštitutu Ljubljana. Vsak vzorec bezgavke je bil razdeljen na dva dela: eden za histopatološko diagnostiko in drugi za citopatološko preiskavo s pretočno citometrijo (PC). Vzorec bezgavke namenjen za PC smo najprej zmleli z disociatorjem GentleMACS (Miltenyi Biotec, Nemčija), da smo ga dobili v tekočinski obliki (citološki vzorec) in izvedli PC analizo v sklopu rutinske citološke preiskave; preostali material pa smo zamrznili za kasnejšo molekularno analizo. Iz zamrznjenega preostanka citološkega vzorca, smo najprej izolirali DNA z avtomatiziranim izolatorjem SeePrep32 in izolacijskim setom Starmag 96 ProPREP (Seegene, Južna Koreja). Detekcijo EBV smo izvedli z multipleks RT-PCR testom Allplex Meningitis-V1 (Seegene, Južna Koreja) na termociklerju CFX96 (Bio-Rad, ZDA). DNA, pridobljena iz EBV-pozitivne limfomske celične linije Raji (ATCC, ZDA) je služila kot pozitivna kontrola. Interpretacijo rezultatov testa (pozitiven vs negativen) smo določili na podlagi vrednosti praga cikla (angl. cycle treshhold; Ct) testa PCR; mejno vrednost Ct za pozitiven ali negativen rezultat testa smo opredelili na podlagi rezultatov ISH EBER, ki smo jih uporabili kot referenčni standard.

Za študijo smo zbrali skupno 127 ostankov citoloških vzorcev, od katerih jih je 56 imelo ustrezne rezultate EBER ISH in smo zato le te vključili v analizo. Mediana starosti bolnikov je bila 63 let (razpon 14–86 let); 32/56 (57,1 %) je bilo moških in 24/56 (42,9 %) žensk. Mediana koncentracije izolirane DNA je bila 10,2 ng/µL (razpon 0,5-116,0 ng/µL). Na podlagi referenčnih rezultatov ISH EBER smo 13/56 (23,2 %) primerov interpretirali kot EBV-pozitivne, mediana vrednosti Ct teh primerov je bila 32,61 (razpon 28,4- 36,9); pri preostalih 43/56 (76,8 %) primerih, ki smo jih interpretirali kot EBV-negativne, smo opazili, da je od teh 25/43 primerov brez amplifikacije oz. vrednosti Ct, medtem ko je 18/43 pokazalo precej pozno amplifikacijo z mediano vrednosti Ct 38,9 (razpon 35,3-41,8). Vrednosti Ct PCR testa v razponu 35 Ct - 37 Ct nakazujejo sivo cono za natančno opredelitev rezultata testa. Vrednost Ct pozitivne kontrole Raji je bila 25,5.

Za potencialno uporabo molekularnega PCR testa v laboratorijski diagnostiki za določanje prisotnosti EBV na limfomskih vzorcih je nujno potrebno natančno opredeliti mejno vrednost Ct PCR testa za zanesljivo interpretacijo končnega rezultata. Za razumevanje območja sive cone vrednosti Ct med pozitivnim in negativnim molekularnim PCR testom, je potrebno v analizo vključiti čim večjo kohorto vzorcev in ugotoviti razlog za nespecifične amplifikacije pri negativnih vzorcih.

NOVA GENERACIJA GENSKE TERAPIJE RAKA - ELEKTROPRENOS SISTEMA GOLIH TRANS-POMNOŽUJOČIH mRNA NA CELICAH MIŠJEGA MELANOMA B16-F10

Jaka Vrevc Žlajpah[1,2], Maja Čemažar[1,2,3], Gregor Serša[1,2,4], Boštjan Markelc[1,2,5], K[1,5]

[1] *Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za eksperimentalno onkologijo, Ljubljana, Slovenija*
[2] *Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Ljubljana, Slovenija*
[3] *Univerza na Primorskem, Fakulteta za vede o zdravju, Izola, Slovenija*
[4] *Univerza v Ljubljani, Zdravstvena fakulteta, Ljubljana, Slovenija*
[5] *Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Ljubljana, Slovenija*

Elektronski naslov: jvrevc@onko-i.si

Klinični uspeh cepiv proti Covid-19 na osnovi tehnologije mRNA, visoka učinkovitost transfekcije in odsotnost insercijske mutageneze so pospešile razvoj molekul mRNA kot vektorjev za gensko terapijo raka. Kljub številnim prednostim pa ostaja ključna omejitev njihova nestabilnost in s tem povezano kratkotrajno izražanje transgena, ki ustvarja potrebo po večkratnem odmerjanju in omejuje prehod v klinično prakso.

p51

Z namenom podaljšati izražanje transgena smo raziskali potencial genskega elektroprenosa (GET) sistema golih, trans-pomnožujočih molekul mRNA (taRNA) na celicah mišjega melanoma B16-F10. Sistem sestavlja konstrukt z zapisom za alfavirusno replikazo iz genoma Semliki Forest Virusa (nrRNA.REPL), ki pomnožuje transreplikon z zapisom za zeleni fluorescentni protein (trRNA-eGFP) ali encim luciferaza (trRNA-LUC2). Neprevedene regije trRNA smo prilagodili tako, da vsebujejo prepoznavna zaporedja za replikazo in hkrati ohranjajo njihove nespremenjene sekundarne strukture, neodvisno od vstavljenega kodirajočega zaporedja transgena. Učinkovitost transfekcije in pomnoževanja GET golih komponent sistema taRNA z nemodificiranimi nukleozidi smo določali s pretočno citometrijo, kontinuiranim slikanjem živih celic s fluorescentnim mikroskopom in metodo digitalnega kapljičnega PCR (ddPCR), viabilnost celic pa s testom redukcije resazurina Presto Blue ® 72 h po izvedenem GET.

Primerjali smo uporabo petih protokolov elektroporacije (EP) za dostavo taRNA-eGFP: (EP1) 1300 V/cm, 1 Hz, 100 μs, 4+4 pulzov; EP2) 1300 V/cm, 5 kHz, 100 μs, 4+4 pulzov; EP3) 600 V/cm, 1 Hz, 5 ms, 4+4 pulzov; EP4) 120 V/cm, 1 Hz, 20 ms, 2 pulza); EP5) HV (4+4 pulzov): 1300 V/cm, 100 μs, 1 Hz, LV: 8 pulzov, 140 V/cm, 50 ms, 2Hz), med katerimi se je kot najučinkovitejši izkazal EP3. Ta je vodil v najvišje vrednosti ocene celokupne količine GFP (izračunana kot produkt med mediano intenzitete fluorescence in deležem GFP+ celic). K tej vrednosti največ doprinese populacija visoko pozitivnih GFP celic (angl. highly positive GFP, hGFP), ki je odsotna po GET samega trRNA-eGFP. EP3 smo primerjali z lipofekcijo taRNA, kjer je bila populacija hGFP+ številčnejša po uporabi EP3. S kontinuiranim spremljanjem kinetike fluorescence smo določili, da je hGFP populacija nosilka povišanega in podaljšanega izražanja transgena v skupini taRNA-eGFP, z zaznavno fluorescenco še 144 h po GET. Ob uporabi EP3 smo določili, da naraščujoča količina nrRNA-REPL vodi v učinkovitejše trans-pomnoževanje in v znižanje viabilnosti celic, kjer nismo zaznali razlik med uporabo najvišjih dveh odmerkov (4 μg in 8 μg). Na ravni molekul mRNA smo pokazali pomnoževanje transreplikona v skupini taRNA-eGFP v primerjavi s skupino trRNA-eGFP že 6 h po GET. Najvišja, kar 384-kratna mediana razlike v normaliziranem številu kopij med skupinama, je bila prisotna 24 h po GET. Pomnoževanje treh konstruktov z zapisom za GFP je bilo uspešno samo ob uporabi opisanih neprevedenih regij, saj populacije hGFP+ celic nismo zaznali pri konstruktih, kjer so bila prepoznavna zaporedja za replikazo odsotna, s čimer dokazujemo specifičnost replikacije v sistemu taRNA. Ob sočasni dostavi trRNA-eGFP in trRNA-LUC2 smo potrdili tako povišano intenziteto luminiscence

kot tudi prisotnost hGFP+ populacije. S tem smo potrdili univerzalnost načrtovanih neprevedenih regij za pomnoževanje transreplikonov z različnimi kodirajočimi zaporedji in hkrati nakazali na primernost platforme za sočasno uporabo kombinacije več transreplikonov.

Opisana raziskava je kot prva vzpostavila GET sistema golih taRNA na celicah B16-F10 in dokazala univerzalno, a specifično pomnoževanje in podaljšanje izražanja transgena. S spoznavanjem zakonitosti trans-pomnoževanja postavlja ustrezne temelje za vzpostavitev intratumorske dostave sistema taRNA *in vivo* in potencialno terapevtsko uporabo.

CLINICAL CANCER REGISTRIES FOR REAL-WORLD EVIDENCE: FROM QUALITY OF CARE TO CLINICAL TRIALS

Vesna Zadnik

[1] *Onkološki inštitut Ljubljana, Sektor onkološke epidemiologije in registra raka, Ljubljana, Slovenija*

Elektronski naslov: vzadnik@onko-i.si

Population-based cancer registries (PBCRs) systematically collect information on cancer occurrence and outcomes in defined populations and provide an established infrastructure for cancer surveillance and cancer control. Clinical cancer registries extend this framework by collecting more detailed, usually disease-specific information on diagnostic procedures, tumour characteristics, treatment, follow-up and outcomes. By linking population-based registration with routine clinical practice, they provide a valuable source of real-world data (RWD) for evaluating quality of care, adherence to clinical practice guidelines, treatment patterns and outcomes, as well as for clinical research.

Cancer registration is well established across Europe, although registries differ in population coverage, timeliness, digital infrastructure and capacity for data linkage. The recent CancerWatch survey confirmed broad population-based cancer registration across Europe but also demonstrated heterogeneity in interoperability and readiness to generate integrated RWD. The Slovenian Cancer Registry, established in 1950, combines population-based registration with clinical registries for melanoma, lung, breast, colorectal and prostate cancer, as well as childhood cancer. Clinical registries collect additional information on diagnosis, treatment and quality-of-care indicators. Their data are used within the Slovenian National Cancer Control Plan to monitor adherence to clinical guidelines, compare quality indicators and identify deviations that may require measures at the level of the healthcare system, institutions or individual providers.

The same data can support several stages of clinical research and clinical trials. Before a trial starts, registry data can be used to estimate the number of potentially eligible patients, assess the effects of inclusion and exclusion criteria, estimate recruitment potential by centre, region, diagnosis, stage or biomarker, and provide expected event rates, survival and follow-up times. Registry analyses can identify prognostic and predictive factors, clinically relevant patient subgroups and associations between patient, tumour and treatment characteristics and outcomes, thereby generating hypotheses for prospective studies.

During recruitment, clinical registries can support identification and pre-screening of potentially eligible patients and facilitate referral to recruiting centres. Comparison with the underlying registry population also provides a means of assessing the representativeness of trial participants. For single-arm and other selected studies, registry data can be used to identify comparable real-world patients and construct matched or weighted external comparator cohorts or synthetic control arms.

Registries are also suited to extending follow-up beyond the active trial period. Routinely collected information can provide long-term survival and, where available, data on recurrence, progression, subsequent cancers and late treatment outcomes, while reducing additional trial-specific data collection. A further step is the registry-based randomised clinical trial, in which registry infrastructure supports patient identification and enrolment, randomisation is embedded within the registry, and routinely collected data are used for baseline characteristics, outcomes and long-term follow-up.

The Slovenian Cancer Registry has already used data from its clinical registries in real-world studies across several tumour sites. These experiences illustrate the transition from cancer registration as a surveillance system towards an infrastructure that connects quality-of-care monitoring, observational research and clinical trials.

INDEKS AVTORJEV

INDEKS AVTORJEV

A

Ahačič M 65
Albreht Tit 65

B

Balihodzic A 120
Banovšek N 60
Bellard E 98
Bertino G 118
Blagotinšek Cokan K 116
Blatnik A 93, 110, 122
Boltežar L 72, 90, 114
Bombač A 110
Bošnjak M 92
Boštjančič E 116
Božič T 62
Breznik Vittori B 60, 76, 85, 92
Buček S 131

C

Cöer A 101
Cvetanoska M 63

Č

Čarman J 65
Čelešnik H 67
Čemažar M 46, 62, 63, 82, 83, 84, 87, 97, 98, 99, 100, 101, 105, 113, 117, 118, 120, 124, 125, 129, 133
Češarek Z 80

D

Dejanović K 104
de Marco A 125
Dengler M 120
De Terlizzi F 118
de Wreede LC 79
Dežman R 65
Dienstmann R 69
Dolžan V 103
Donia M 79
Dora P 71, 72, 90, 114

E

Ebert Moltara M 18
Ercegovič Rot Peternelj A 74
Erzar E 72

F

Florjančič M 65
Fonović M 119
Fon Tacer K 60, 85

G

Gašljević G 71, 72, 90, 114
Gehl J 118
Geltar A 78
Germšek T 105, 108, 109
Gimbert M 98
Gole B 67
Golzio M 98
Gorenjak M 67
Goričar K 103
Grašič Kuhar C 82, 105, 124
Grieco MP 118
Grošelj A 46, 118
Grošelj B 65

H

Haber B 76
Habič A 76, 85, 92
Hackmann T 79
Hauptman N 116
Horvat N 80
Hotujec S 93, 122
Hribernik A 65
Hribernik N 117

I

Iglič A 114
Ivanuš U 65, 128

J

Jamšek Č 46
Janžič U 78
Japelj N 80
Jazbec J 25
Jerala M 92
Jeran M 30
Jerman Tine 65
Jesenko T 82, 98, 100, 101, 105, 113, 120, 124
Jezernik G 67
Jurdana M 83, 84, 97
Jurjevič V 60, 85

K

Kamenšek U 62, 63, 87, 99, 129
Kapiteijn E 79
Kastelic Z 122
Katrin Galun S 76, 92
Kavčič M 25
Kek T 95
Kilty C 89
Kis E 118
Kladnik Š 76, 92
Klančar G 110

INDEKS AVTORJEV

Kloboves Prevodnik V 71, 72, 82, 90, 105, 107, 108, 109, 124,128, 131
Knez J 35
Knez L 80
Kokalj Kokot M 65
Kokelj M 71, 72, 90
Kolarič M 74, 119
Kolenc Milavec T 76, 85, 92
Korelec Ž 65
Kos Dolenc Š 87
Kos J 108, 109, 128
Kos M 80
Kozlica K 117
Krajc M 93, 110, 122
Krajec M 95
Kramberger K 97
Kranjc Brezar S 46, 82, 83, 98, 113, 124
Kranjc T 105
Kropivšek Brumat K 125
Krušič M 67
Kuhar A 107
Kupčič S 99, 117
Kus P 54

L

Lampreht Tratar U 87, 99, 100, 125, 129
Lanišnik Rižner T 67
Ledinek Štosir Ž 107, 109
Lenart K 65
Lisec B 101
Ložar T 65

M

Majc B 76, 92
Marinčič M 103
Marinko T 103
Markelc B 82, 98, 101, 113, 120, 124, 133
Marolt Mušič M 65
Mascherini M 118
Matjan Štefin P 119
Matjašič A 92
Matos E 104
Maver U 67
Medved A 83, 97, 117
Miceska M 124
Miceska S 82, 105, 107, 108, 109, 128, 131
Mikluš M 35
Milačič Ščančar R 117
Milavec M 41
Minuti M 118
Mohorčič K 78
Mrak L 78

N

Nassabi H 118
Nastran M 80
Novak M 60, 76, 85, 92
Novaković A 110

O

Oder B 111
Omerzel M 46, 98, 101, 113, 118, 120
Opalič I 93, 110
Osredkar J 65
Ovčariček T 104

P

Pečan LI 30
Perić B 79
Pinter E 76
Pišljar Ž 82, 113, 120, 124
Porčnik A 76, 92
Potočnik U 67
Prelog T 25
Prestor B 76, 92
Prijatelj A 114
Prosenc Zmrzljak U 116
Pukl Miha 65

R

Radelj Pepevnik E 65
Rajh M 109
Ramanović M 50
Ranković B 116
Reberšek M 117
Rep S 127
Režun N 104
Riva G 118
Rols MP 98
Rožanc J 67

S

Sabolić I 116
Salobir N 25
Serša G 63, 83, 87, 101, 113, 118, 120, 129, 133
Sever T 119
Simonič B 127
Sinožić T 119
Skoblar Vidmar M 76, 92
Smrkolj T 65
Snoj L 113, 120
Sobočan M 67
Solano J 85
Stegel V 71, 93, 95, 110
Steyerberg E 79

INDEKS AVTORJEV

Stojanov B 93, 110, 122
Strojnik K 65, 93, 110, 122
Svane IM 79

Š

Šauer S 104
Ščančar J 117
Šenica K 127
Šeruga B 65
Šetrajčič Dragoš V 110
Šfiligoj Planjšek D 127
Škerl P 110
Škof E 95
Škrjanc V 82, 100, 124
Štrancar U 125
Štrbac M 117
Štrok A 127
Švajger U 62

T

Takač I 35, 67
Tavčar G 30
Tavčar Kunstič T 108, 109, 128
Tomac Teržan E 107
Tozandehjani S 85
Turk B 74, 119
Tzankov A 72, 90

U

Urh K 76
Uršič Valentinuzzi K 87, 117, 129, 133

V

Velenik V 50
Vodenik J 30
Volavšek M 65, 114
Volk A 131
Vrevc Žlajpah J 100, 129, 133

W

Wouters MWJM 79

Z

Zadnik V 122, 135
Zagožen A 110
Zavrl N 122
Zobec Logar HB 54
Zupan A 92

Ž

Žagar T 122
Žižek P 76, 92
Žnidar K 100

SPONZORJI

AstraZeneca

AstraZeneca Onkologija

KORAK NAPREJ

pri zdravljenju onkoloških bolnikov

Naša ambicija je zagotoviti zdravila za vse oblike raka. Sledimo znanosti, da bi razumeli vso kompleksnost raka ter odkrili, razvili in proizvedli zdravila, ki lahko spremenijo življenja ljudi po svetu.



Dodatne informacije so na voljo pri družbi:
AstraZeneca UK Limited, Podružnica v Sloveniji,
Verovškova 55, 1000 Ljubljana, tel.: 01/51 35 600

Datum priprave informacije: maj 2023
SI-3080



LILLY – ŽIVETI BOLJE

Ljudje smo od nekdaj vedoželjni, polni upanja in vztrajnosti. Odkritja so naš namen na tem planetu.
Od same ustanovitve družbe Lilly je jasno naše poslanstvo in cilj. Po več kot stoletju, skoraj 100 zdravilih in neštetih novostih, nadaljujemo z iskanjem naslednjega velikega odkritja, ki bo izboljšalo življenja ljudem po svetu.

Eli Lilly farmacevtska družba, d.o.o., Dunajska cesta 167, 1000 Ljubljana
telefon 01 / 580 00 10

PP-LILLY-SI-0092, 19.2.2025

Lilly
A MEDICINE COMPANY



Odkrivamo za prihodnost.

Pri svojem delu se posvečamo zdravstvenim težavam, ki danes predstavljajo največje izzive znanosti - kot so rakava obolenja, nalezljive bolezni in virusne okužbe, protimikrobna odpornost, kot tudi sladkorna bolezen ter kardiometabolična obolenja. Aktivno vlagamo v raziskave in razvoj, zaradi česar se uvrščamo med vodilne razvojno-raziskovalne družbe na svetu.

Odkrivamo za bolj zdravo prihodnost.

MSD

Merck Sharp & Dohme d.o.o., Ameriška ulica 2, 1000 Ljubljana.
Pripravljeno v Sloveniji, 08/2025. Vse pravice pridržane. SI-NON-00725
Copyright ©2025 Merck & Co., Inc., Rahway, NJ, USA and its affiliates. All rights reserved.



Viri:
[1] Anandavadivelan, P., Mijwel, S., Wiklander, M. et al. Five-year follow-up of the OptiTrain trial on concurrent resistance and high-intensity interval training during chemotherapy for patients with breast cancer. Sci Rep 14, 15333 (2024).

NOVARTIS

Roche

Mi smo Roche.

Bolj zdrava prihodnost.
Naše vodilo pri inovacijah.

YEARS ROCHE 130 YEARS ROCHE SLOVENIJA
A healthier future.
It's what drives us to innovate.



Roche farmacevtska družba, pripravljeno septembra 2026, M-SI-00001804 (v1.0)



SKRAJŠAN POVZETEK GLAVNIH ZNAČILNOSTI ZDRAVILA
ELAHERE 5 mg/ml koncentrat za raztopino za infundiranje

▼ Za to zdravilo se izvaja dodatno spremljanje varnosti. Tako bodo hitreje na voljo nove informacije o njegovi varnosti. Zdravstvene delavce naprošamo, da poročajo o katerem koli domnevnem neželenem učinku zdravila. **Sestava:** 1 ml koncentrata za raztopino za infundiranje vsebuje 5 mg mirvetuksimab soravtanzina. Ena viala vsebuje 100 mg mirvetuksimab soravtanzina v 20 ml. Mirvetuksimab soravtanzin je konjugat protitelesa in zdravila (ADC - antibody-drug conjugate), usmerjen proti FRα (folatni receptor alfa). ADC je sestavljen iz anti-FRα monoklonskega protitelesa podtipa IgG1, izdelanega z rekombinantno tehnologijo DNK v celicah ovarija kitajskega hrčka in pripetega s cepljivim veznikom (linker) (butanojska kislina, 4-(2-piridinilditio)-2-sulfo-1-(2,5-diokso-1-pirolidinil) ester) na majtanzinoid DM4, ki je antitubulinsko sredstvo. Mirvetuksimab soravtanzin vsebuje povprečno 3,4 molekule DM4, vezane na anti-FRα protitelo. Pomožne snovi z znanim učinkom: To zdravilo vsebuje 2,11 mg polisorbata 20 v eni viali. **Terapevtske indikacije:** V obliki monoterapije za zdravljenje odraslih bolnic z visokostopenjskim seroznim epitelijskim rakom jajčnikov, jajcevodov ali primarnim peritonealnim karcinomom, rezistentnim na platino, s pozitivnim folatnim receptorjem alfa (FRα), ki so prejele eno do tri predhodne sistemske sheme zdravljenja. **Odmerjanje in način uporabe:** Zdravilo ELAHERE mora uvesti in nadzirati zdravnik, ki ima izkušnje z uporabo zdravil proti raku. Izbira bolnic: Primerne bolnice morajo imeti pozitiven FRα tumor opredeljen kot zmerno (2+) in/ali močno (3+) obarvanje celične membrane z imunohistokemijo (IHC - immunohistochemistry) na ≥ 75 % tumorskih celicah, ocenjeno z *in vitro* diagnostiko (IVD) z oznako CE in z ustreznim namenom. Če IVD z oznako CE ni na voljo, je treba uporabiti alternativni validirani test. Odmerjanje: Priporočeni odmerek zdravila ELAHERE je 6 mg/kg prilagojene idealne telesne mase (AIBW - adjusted ideal body weight), ki se daje enkrat na 3 tedne (21dnevni cikel) v obliki intravenske infuzije do napredovanja bolezni ali nesprejemljive toksičnosti. Odmerjanje na podlagi AIBW zmanjša variabilnost izpostavljenosti bolnic, katerih telesna masa je bodisi premajhna ali prevelika. Premedikacija: **Za podrobne opise navedenih poglavij glejte Povzetek glavnih značilnosti zdravila.** ♦ *Premedikacija za reakcije, povezane z infuzijo, slabostjo in bruhanjem.* ♦ *Očesni pregled in premedikacija.* Spremembe odmerka: Pred začetkom vsakega cikla zdravljenja je treba bolnici svetovati, naj lečečemu zdravniku ali usposobljeni osebi poroča o vseh novih simptomih ali poslabšanju obstoječih. Pri bolnicah, pri katerih se razvijejo novi očesni simptomi ali se poslabšajo obstoječi, je treba pred odmerjanjem opraviti očesni pregled. Lečeči zdravnik mora pred odmerjanjem pregledati poročilo o očesnem pregledu bolnice in določiti odmerek zdravila ELAHERE na podlagi stopnje izraženosti simptomov in znakov v tistem očesu, ki je od obeh bolj prizadeto. **Za podrobnosti glede zmanjšanja odmerkov in spremembe odmerkov zaradi neželenih učinkov glejte navedeno poglavje v Povzetku glavnih značilnosti zdravila.** Posebne populacije: *Pediatrična populacija:* Zdravilo ELAHERE ni namenjeno za zdravljenje epitelijskega raka jajčnikov, jajcevodov ali primarnega peritonealnega karcinoma pri pediatrični populaciji. *Starejše bolnice*: Pri bolnicah, starih ≥ 65 let, prilagajanje odmerka zdravila ELAHERE ni potrebno. *Okvara ledvic:* Za bolnice z blago do zmerno okvaro ledvic (očistek kreatinina [CLcr] 30 do < 90 ml/min) prilagajanje odmerka zdravila ELAHERE ni potrebno. Pri bolnicah s hudo okvaro ledvic (CLcr 15 do < 30 ml/min) ali končno ledvično odpovedjo zdravila ELAHERE niso uporabljali, zato morebitne potrebe za prilagoditev odmerka pri teh bolnicah ni mogoče določiti. *Okvara jeter*: Za bolnice z blago okvaro jeter (skupni bilirubin ≤ zgornje meje normalne vrednosti [ULN] in aspartat aminotransferaza [AST] > ULN ali skupni bilirubin > 1 do 1,5 krat ULN ne glede na AST) prilagajanje odmerka zdravila ELAHERE ni potrebno. Zdravilu ELAHERE se je treba izogibati pri bolnicah z zmerno do hudo okvaro jeter (skupni bilirubin > 1,5 ULN ne glede na AST). Način uporabe: Zdravilo ELAHERE je namenjeno za intravensko infundiranje s hitrostjo 1 mg/min. Če ga bolnica po 30 minutah dobro prenaša, se lahko hitrost infundiranja poveča na 3 mg/min. Če ga bolnica po 30 minutah pri 3 mg/min dobro prenaša, se lahko hitrost infundiranja poveča na 5 mg/min. Zdravilo ELAHERE je potrebno razredčiti s 5% glukozo za intravensko infundiranje. Zdravilo ELAHERE se sme uporabiti le v obliki intravenske infuzije z 0,2-µm ali 0,22-µm linijskim filtrom iz polietersulfona (PES). *Previdnostni ukrepi, ki jih je potrebno upoštevati pred rokovanjem z zdravilom ali njegovo uporabo:* To zdravilo vsebuje citotoksično sestavino, ki je kovalentno pripeta na monoklonsko protitelo. **Kontraindikacije**: Preobčutljivost na učinkovino ali katero koli pomožno snov. **Posebna opozorila in previdnostni ukrepi:** Sledljivost: Z namenom izboljšanja sledljivosti bioloških zdravil je treba jasno zabeležiti ime in število serije uporabljenega zdravila. Očesne bolezni: Mirvetuksimab soravtanzin lahko povzroči hude očesne neželene učinke, vključno z okvaro vida (pretežno zamegljen vid), keratopatijo (bolezni roženice), suhimi očmi, fotofobijo in bolečino v očeh. Bolnice je potrebno pred uvedbo mirvetuksimab soravtanzina napotiti k specialistu za bolezni oči na oftalmološki pregled. Pred začetkom vsakega cikla zdravljenja je potrebno bolnici svetovati, naj poroča o vseh novih ali poslabšanih očesnih simptomih lečečemu zdravniku ali usposobljeni osebi. Če se razvijejo očesni simptomi, je potrebno opraviti oftalmološki pregled, potrebno je pregledati poročilo bolničinega oftalmologa in glede na resnost ugotovitev morda spremeniti odmerek mirvetuksimab soravtanzina. Med zdravljenjem z mirvetuksimab soravtanzinom je priporočljiva uporaba očesnih kapljic za vlaženje. Pri bolnicah, pri katerih se razvijejo neželeni učinki na roženici stopnje ≥ 2, so v poznejših ciklih zdravljenja z mirvetuksimab soravtanzinom priporočljivi očesni topikalni steroidi. Zdravnik mora spremljati bolnice glede toksičnosti za oči in prekiniti, zmanjšati ali trajno ukiniti mirvetuksimab soravtanzin na podlagi resnosti in vztrajnosti očesnih neželenih učinkov. Bolnicam je treba svetovati, naj se med zdravljenjem z mirvetuksimab soravtanzinom izogibajo uporabi kontaktnih leč, razen če zdravstveni delavec ne naroči drugače. Pnevmonitis: Pri bolnicah, zdravljenih z mirvetuksimab soravtanzinom, se lahko pojavi huda, življenjsko nevarna ali smrtna intersticijska bolezen pljuč (ILD - interstitial lung disease). Bolnice je potrebno spremljati glede pljučnih znakov in simptomov pnevmonitisa, ki lahko vključujejo hipoksijo, kašelj, dispnejo ali intersticijske infiltrate pri rentgenoloških preiskavah. Infekcijske, neoplastične in druge vzroke takih simptomov je potrebno izključiti z ustreznimi preiskavami. Zdravljenje z mirvetuksimab soravtanzinom je potrebno prekiniti pri bolnicah, pri katerih se razvije trdovraten ali ponavljajoč se pnevmonitis stopnje 2, dokler se simptomi ne ublažijo v stopnjo ≤ 1, in je potrebno razmisliti o zmanjšanju odmerka. Mirvetuksimab soravtanzin je potrebno trajno ukiniti vsem bolnicam s pnevmonitisom stopnje 3 ali 4. Bolnice brez simptomov lahko ob natančnem spremljanju še naprej prejemajo mirvetuksimab soravtanzin. Periferna nevropatija: Pri mirvetuksimab soravtanzinu se je pojavila periferna nevropatija, vključno z reakcijami stopnje ≥ 3. Bolnice je potrebno spremljati glede znakov in simptomov nevropatije, na primer parestezije, mravljinčenja ali pekočega občutka, nevropatske bolečine, mišične šibkosti ali dizestezije. Pri bolnicah, ki imajo novonastalo ali poslabšano obstoječo periferno nevropatijo, je potrebno odmerjanje mirvetuksimab soravtanzina prekiniti, zmanjšati ali trajno ukiniti, glede na resnost periferne nevropatije. Toksičnost za zarodek in plod: Na podlagi mehanizma delovanja bi mirvetuksimab soravtanzin pri dajanju med nosečnostjo lahko povzročil poškodbe zarodka in ploda, saj vsebuje genotoksično spojino (DM4) in vpliva na celice, ki se aktivno delijo. Bolnice v rodni dobi morajo uporabljati učinkovito kontracepcijo med zdravljenjem z mirvetuksimab soravtanzinom in še 7 mesecev po zadnjem odmerku. Pomožne snovi z znanim učinkom: To zdravilo vsebuje manj kot 1 mmol (23 mg) natrija na odmerek, kar v bistvu pomeni 'brez natrija'. To zdravilo vsebuje 2,11 mg polisorbata 20 v eni viali. **Interakcije:** Kliničnih študij medsebojnega delovanja zdravila ELAHERE z drugimi zdravili niso izvedli. DM4 je substrat CYP3A4. Sočasna uporaba zdravila ELAHERE z močnimi zaviralci CYP3A4 lahko poveča izpostavljenost nekonjugiranemu DM4, kar lahko poveča tveganje neželenih učinkov zdravila ELAHERE. Če se ni mogoče izogniti sočasni uporabi z močnimi zaviralci CYP3A4, je potrebno bolnice natančno spremljati glede neželenih učinkov. Močni induktorji CYP3A4 lahko zmanjšajo izpostavljenost nekonjugiranemu DM4. **Plodnost, nosečnost in dojenje**: Ženske v rodni dobi/kontracepcija: Status nosečnosti pri bolnicah v rodni dobi je potrebno preveriti pred uvedbo zdravljenja z mirvetuksimab soravtanzinom. Bolnice v rodni dobi morajo uporabljati učinkovito kontracepcijo med zdravljenjem z mirvetuksimab soravtanzinom in še 7 mesecev po zadnjem odmerku. Nosečnost: Uporaba zdravila ELAHERE pri nosečnicah ni priporočljiva, bolnice pa je potrebno obvestiti o možnih tveganjih za plod, če zanosijo ali želijo zanositi. Bolnice, ki zanosijo, se morajo takoj posvetovati z zdravnikom. Če bolnica med zdravljenjem z zdravilom ELAHERE ali v 7 mesecih po zadnjem odmerku zanosi, je priporočljivo natančno spremljanje. Dojenje: Zdravilo ELAHERE se ne sme uporabljati med dojenjem in še 1 mesec po zadnjem odmerku. Plodnost: Študij plodnosti z mirvetuksimab soravtanzinom ali DM4 niso opravili. Ni podatkov o učinku zdravila ELAHERE na plodnost pri človeku. Vendar spričo mehanizma delovanja zdravila ELAHERE, ki povzroči razpad mikrotubulov in smrt hitro delečih se celic, obstaja možnost z zdravilom povezanih učinkov na plodnost. **Vpliv na sposobnost vožnje in upravljanja strojev:** Zdravilo ELAHERE ima zmeren vpliv na sposobnost vožnje in upravljanja strojev. Če bolnice med zdravljenjem z mirvetuksimab soravtanzinom opazijo motnje vida, periferno nevropatijo, utrujenost ali omotico, jih je treba poučiti, naj ne vozijo in upravljajo strojev, dokler ne bo potrjeno popolno okrevanje od simptomov. **Neželeni učinki:** Zelo pogosti: okužba sečil, anemija, trombocitopenija, zmanjšan apetit, hipomagneziemija, periferna nevropatija, glavobol, keratopatija, katarakta, pojav zamegljenega vida, fotofobija, bolečina v očesu, suho oko, pnevmonitis, dispneja, kašelj, driska, bolečina v trebuhu, zaprtje, napihnjenost trebuha, bruhanje, navzea, artralgija, utrujenost, zvišana aspartat aminotransferaza, zvišana alanin aminotransferaza. Pogosti: nevtropenija, hipokaliemija, dehidracija, nespečnost, disgevzija, omotica, nelagodje v očeh, hipertenzija, ascites, gastroezofagealna refluksna bolezen, stomatitis, dispepsija, hiperbilirubinemija, pruritus, mialgija, bolečina v hrbtu, bolečine v okončinah, mišični spazmi, zvišana telesna temperature, zvišana alkalna fosfataza v krvi, zvišana gama-glutamil transferaza, zmanjšana telesna masa, z infuzijo povezana reakcija/preobčutljivost. **Način in režim izdajanja:** H. **Imetnik DzP:** AbbVie Deutschland GmbH & Co. KG, Knollstrasse, 67061 Ludwigshafen, Nemčija. **Pred predpisovanjem in uporabo, prosimo, preberite celoten Povzetek glavnih značilnosti zdravila. Datum revizije besedila:** 01/2026.

Referenca: 1. Povzetek glavnih značilnosti zdravila Elahere, januar 2026.

Samo za strokovno javnost.

SI-ELAH-260009 I Datum priprave materiala: marec 2026
AbbVie Biofarmacevtska družba d.o.o., Dolenjska cesta 242c, 1000 Ljubljana



ewo pharma

Ewopharma d.o.o.
Cesta 24. junija 23 | 1231 Ljubljana-Črnuče
T: +386 (0) 590 848 40 | info@ewopharma.si

IP.SI.26.EWOPHARMA.02, datum priprave: 09/2026



Extra laser. Extra speed. Extraordinary possibilities.

Meet the new MACSQuant® Tyto® Lux Cell Sorter

Expand your flow capabilities without increasing workload, biosafety risks, or infrastructure needs.

Easily sort even the most challenging samples with high-performance microfluidic sorting that preserves cell viability and function.

▸ **miltenyibiotec.com/tytolux**

Miltenyi Biotec provides products and services worldwide.
Visit **www.miltenyibiotec.com/local** to find your nearest Miltenyi Biotec contact.

Unless otherwise specifically indicated, Miltenyi Biotec products and services are for research use only and not for therapeutic or diagnostic use. MACSQuant, the Miltenyi Biotec logo, Tyto, and the Tyto logo are registered trademarks or trademarks of Miltenyi Biotec and/or its affiliates in various countries worldwide. Copyright © 2026 Miltenyi Biotec and/or its affiliates. All rights reserved.

Miltenyi Biotec



Skrajšan povzetek glavnih značilnosti zdravila

Bavencio 20 mg/ml koncentrat za raztopino za infundiranje

Sestava: 1 ml koncentrata vsebuje 20 mg avelumaba. Avelumab je humano monoklonsko protitelo IgG1, usmerjeno proti imunomodulacijskemu proteinskemu ligandu PD-L1 celične površine, ki je pridobljeno s tehnologijo rekombinantne DNA v celicah jajčnika kitajskega hrčka. **Terapevtske indikacije:** Zdravilo Bavencio je indicirano kot monoterapija za zdravljenje odraslih bolnikov z metastatskim karcinomom Merklovih celic (KMC). Zdravilo Bavencio je indicirano kot monoterapija za vzdrževalno zdravljenje v prvi liniji za odrasle bolnike z lokalno napredovalim ali metastatskim urotelijskim karcinomom (UK), ki jim po kemoterapiji na osnovi platine bolezen ni napredovala. Zdravilo Bavencio je v kombinaciji z aksitinibom indicirano za prvo linijo zdravljenja odraslih bolnikov z napredovalim karcinomom ledvičnih celic (KLC). **Odmerjanje in način uporabe:** Priporočeni odmerek zdravila Bavencio v monoterapiji je 800 mg, ki se daje intravensko, v obliki 60 minutnega infundiranja, na vsaka 2 tedna. Dajanje zdravila Bavencio naj se nadaljuje v skladu s priporočenim načrtom do napredovanja bolezni ali nesprejemljive toksičnosti. Bolnike je treba pred prvimi 4 infuzijami zdravila Bavencio premedicirati z antihistaminikom in paracetamolom. **Kontraindikacije:** Preobčutljivost na učinkovino ali katero koli pomožno snov. **Posebna opozorila in previdnostni ukrepi:** Bolnike je treba spremljati zaradi pojava znakov in simptomov neželenih učinkov, povezanih z infundiranjem, vključno s pireksijo, mrzlico, pordevanjem, hipotenzijo, dispnejo, piskajočim dihanjem, bolečinami v hrbtu, bolečinami v trebuhu in urtikarijo. Pri neželenih učinkih 3. ali 4. stopnje, povezanih z infundiranjem, je treba infundiranje ustaviti in avelumab trajno ukiniti. Pri neželenih učinkih 1. stopnje, povezanih z infundiranjem, je treba hitrost infundiranja zmanjšati za 50 % hitrosti prvotnega infundiranja. Pri bolnikih z neželenimi učinki 2. stopnje, povezanimi z infundiranjem, je treba z infundiranjem začasno prekiniti, dokler se neželeni učinki ne vrnejo na 1. stopnjo ali izzvenijo, nato pa z infundiranjem nadaljevati s 50 % počasnejšo hitrostjo infundiranja. Pri ponovnem pojavu neželenih učinkov 1. ali 2. stopnje, povezanih z infundiranjem, lahko bolnik avelumab prejema še naprej, ob natančnem spremljanju, po ustrezni spremembi hitrosti infundiranja in premedikaciji s paracetamolom in antihistaminikom. Pri sumu na imunsko posredovane neželene učinke je treba z ustrezno oceno potrditi njihovo etiologijo ali izključiti druge vzroke. Ključnega pomena za zagotovitev varne uporabe avelumaba sta zgodnje prepoznavanje in obvladovanje imunsko posredovanih neželenih učinkov. Bolnike spremljajte glede pojava znakov in simptomov imunsko posredovanih neželenih učinkov. Na podlagi resnosti neželenega učinka je treba uporabo avelumaba odložiti in bolniku dati kortikosteroide. **Interakcije:** Študij medsebojnega delovanja z avelumabom niso izvedli. Avelumab se primarno presnavlja po katabolničnih poteh, zato se ne pričakuje, da bi prišlo do farmakokinetičnega medsebojnega delovanja avelumaba z drugimi zdravili. **Neželeni učinki:** Najpogostejši neželeni učinki avelumaba so bili utrujenost (30,0 %), navzea (23,6 %), driska (18,5 %), zaprtost (18,1 %), zmanjšan apetit (17,6 %), reakcije, povezane z infundiranjem (15,9 %), bruhanje (15,6 %) in zmanjšanje telesne mase (14,5 %). Najpogostejši neželeni učinki stopnje ≥ 3 so bili anemija (5,6 %), hipertenzija (3,9 %), hiponatriemija (3,6 %), dispneja (3,5 %) in bolečine v trebuhu (2,6 %). Resni neželeni učinki so bili imunsko posredovani neželeni učinki in učinki, povezani z infundiranjem. **Posebna navodila za shranjevanje:** Shranjujte v hladilniku (2 C – 8 C). Ne zamrzujte. Shranjujte v originalni ovojnini za zagotovitev zaščite pred svetlobo. **Pakiranje:** Velikost pakiranja je 1 steklena viala z 10 ml koncentrata v škatli. **Način in režim izdaje:** H-Predpisovanje in izdaja zdravila je le na recept, zdravilo pa se uporablja samo v bolnišnicah. **Imetnik dovoljenja za promet:** Merck Europe B.V., Amsterdam, Nizozemska.

Datum zadnje revizije besedila: april 2026

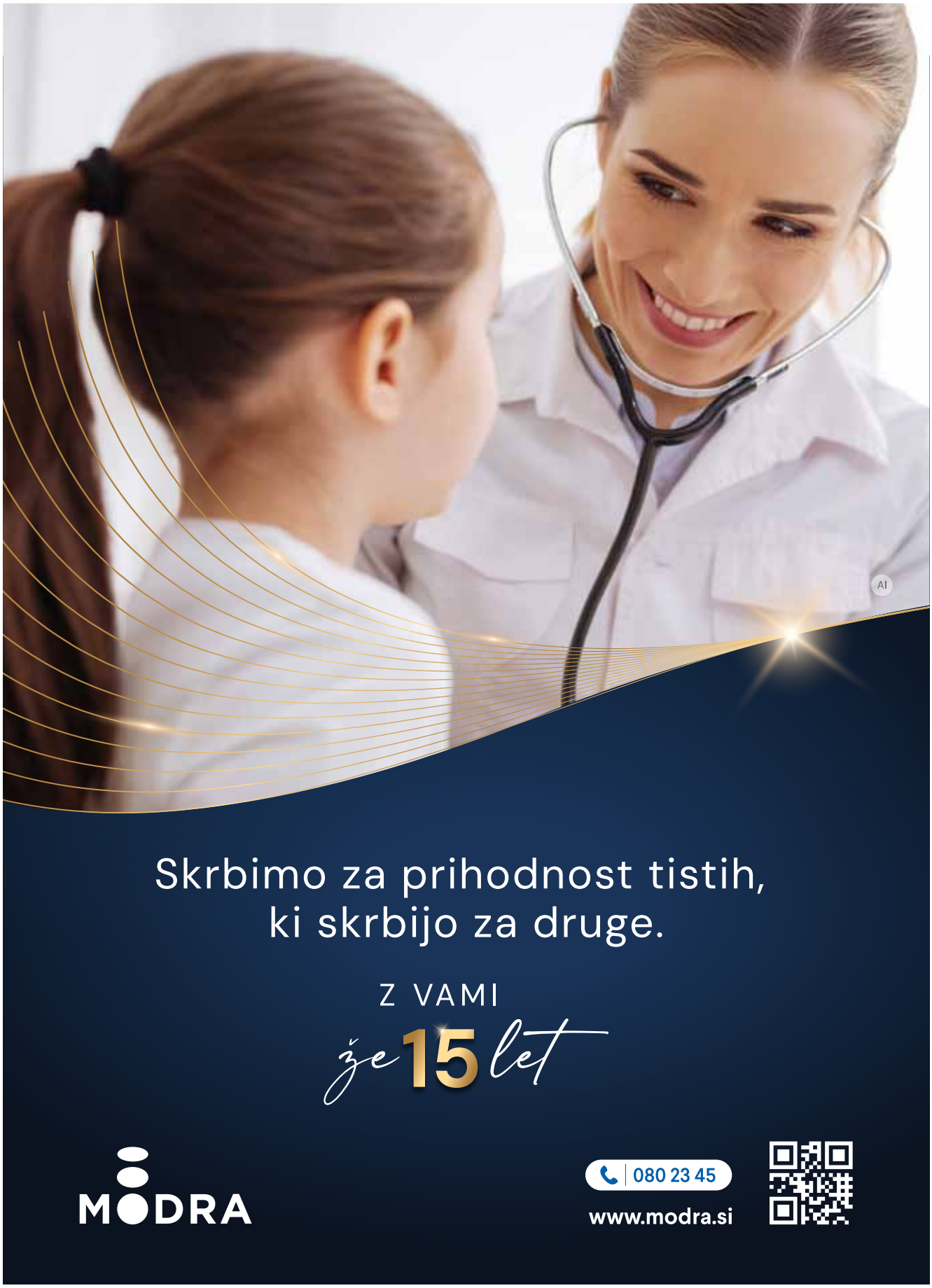
Pred predpisovanjem zdravila natančno preberite celoten Povzetek glavnih značilnosti zdravila.

O domnevnem neželenem učinku lahko poročate neposredno nacionalnemu centru za farmakovigilanco, na način, kot je objavljeno na spletni strani www.jazmp.si ali na drug.safety.easterneurope@merckgroup.com.

Samo za strokovno javnost.

Podrobnejše informacije so na voljo pri predstavniku imetnika dovoljenja za promet z zdravilom:

Merck d.o.o., Letališka cesta 29c, 1000 Ljubljana, tel.: 01 560 3800, faks: 01 560 3830, el. pošta: info@merck.si


Skrbimo za prihodnost tistih,
ki skrbijo za druge.
Z VAMI
že 15 let
MODRA
080 23 45
www.modra.si

SPONZORJI







