

NOVI DOKTORJI ZNANOSTI

NEW DOCTORS OF SCIENCE

UREDILI / EDITORS:

Mateja Terčič, univ. dipl. sociol.
doc dr. Nina Kočevar Glavač, mag. farm.

Fakulteta za farmacijo Univerze v Ljubljani

dr. PETER MOLEK, mag. farm.

RAZVOJ PEPTIDNIH MODULATORJEV DELOVANJA LEPTINA IN VREDNOTENJE NJIHOVE BIOLOŠKE AKTIVNOSTI

Mentor: doc. dr. Tomaž Bratkovič, mag. farm.

Peter Molek je eksperimentalno delo posvetil identifikaciji peptidnih in proteinskih modulatorjev signalizacije leptina in vrednotenju njihove aktivnosti. Hiperleptinemija, dokumentirana pri posameznikih s prekomerno telesno maso, je povezana z razvojem nekaterih debelosti pridruženih bolezni, zato periferno zaviranje signalizacije leptina predstavlja potencialen nov terapevtski pristop. Doktorand je kot diagnostična orodja razvijal tudi sonde za detekcijo antigenov (na primer leptinskega receptorja) na osnovi bakteriofagnih delcev.

Kot osnovno metodologijo je uporabil presejanje kombinatoričnih knjižnic peptidov in enoveržnih fragmentov variabilnih regij protiteles, izraženih na bakteriofagnih ali fagmidnih vektorjih. Z inovativno modifikacijo postopka

afinitetne selekcije je izoliral ligande leptinskega receptorja in zanje potrdil kompetitivno interakcijo z leptinom. Biološko delovanje ligandov je ocenil tudi na celičnem testu. Pri načrtovanju bakteriofagnih sond za detekcijo antigenov se je oprl na t. i. sistem predstavitve *trans*, tj. kombinacijo bakteriofagnega in fagmidnega vektorja. Izražanje vezavne komponente (fragmenta protitelesa) in reporter-ske komponente (zelenega fluorescenčnega proteina) je ovrednotil z encimsko-immunskimi testi, prenosom western in fluorescenčno mikroskopijo. Raziskave, ki jih je doktorand opravil, so privedle do izvirnih novih znanstvenih dognanj, ki so zanimiva tako z vidika bazične znanosti (razvoj in implementacija metode afinitetne selekcije za obogatitev kompetitivnih ligandov večdomenskih proteinov) kot tudi aplikacije (zaviralec interakcij med leptinom in njegovim receptorjem ter prototip bakteriofagnega biosenzorja).

dr. Matej Štuhec, mag. farm.

EPIDEMIOLOGIJA, FARMAKOEPIDEMIOLOGIJA TER PRIMERJALNA UČINKOVITOST IN SPREJEMLJIVOST ZDRAVIL ZA ZDRAVLJENJE HIPERKINETIČNE MOTNJE OTROK IN MLADOSTNIKOV

Mentorica: izr. prof. dr. Vesna Švab, dr. med., spec. psih.
Sommentor: doc. dr. Igor Locatelli, mag. farm.

Matej Štuhec je na inovativen način ocenil prevalenčno stopnjo hiperkinetične motnje otrok in mladostnikov v Sloveniji. Opozoril je na neenakomerno porabo zdravil za hiperkinetično motnjo med zdravstvenimi regijami v Sloveniji. Opredelil je primerjalno učinkovitost in sprejemljivost zdravil za zdravljenje te motnje ter naredil prvo tovrstno metaanalizo, ki v literaturi do sedaj še ni bila objavljena. Med prvimi je opozoril na problem pojava kardiovaskularnih neželenih učinkov pri aplikaciji terapevtskih odmerkov atomoksetina. Samostojne raziskave so v predloženi doktorski disertaciji zajete v smiselno celoto, ki kot taka predstavlja pomemben prispevek k znanosti na področju vrednotenja zdravstvenih



izidov pri zdravljenju hiperkinetične motnje pri otrocih in mladostnikih.

Njegovo zanimanje za področje obravnave otrok s hiperkinetično motnjo izhaja iz izkušenj kliničnega farmacevta, ki se je v svoji praksi srečal z neustrezno obravnavo, farmakološkimi zapleti pri zdravljenju in trpljenjem mlade ženske s hiperkinetično motnjo. Zanimanje za področje izhaja torej prav iz akademske odličnosti, saj je za utemeljitev svojih strokovnih vprašanj o obstoječih oblikah obravnave uporabil znanstvene metode in s pomočjo somentorja doc. dr. Locatelli zbral veliko količino relevantnih podatkov, jih ustrezno analiziral in interpretiral na način, da lahko služijo kot smernice za obravnavo otrok s hiperkinetično motnjo v našem okolju in v mednarodnem prostoru. Znanstveno uspešnost in pravilnost dognanj je dokazal z objavami v številnih mednarodnih revijah z velikim dejavnikom vpliva. Ob tem je opozoril tudi na številna pereča in ne dovolj raziskana vprašanja o resnični prevalenci te bolezni, katere diagnosticiranje je skokovito naraščalo, ne da bi lahko natančno odgovorili, kaj so vzroki za to, in se zdaj vse pogosteje pojavlja tudi pri odraslih. Opozoril je na krivičnost neenakomernega dostopa do pomoči, kar vodi v hude sekundarne posledice in invalidnost vsaj na psihosocialnem področju. Njegov zaključek je tudi, da najdražja in najbolj oglaševana zdravila niso nujno najbolj učinkovita in sprejemljiva za paciente. Njegovo delo lahko bistveno pripomore h kakovosti obravnave ljudi z diagnozo hiperkinetične motnje in k napredku stroke.

dr. Peter Vrtačnik, mag. farm.
**VPLIV ESTROGENOV,
OKSIDATIVNEGA STRESA IN
HIPOKSIJE NA EPIGENETSKE
PROCESE V OSTEOLASTIH**

Mentorica: izr. prof. dr. Barbara Ostanek, mag. farm.

Estrogeni, oksidativni stres in hipoksija močno vplivajo na kostno prenavo in s tem na razvoj kostnih bolezni, kot je osteoporozo. Poleg tega v zadnjem času študije opisujejo pomembno vlogo epigenetskih mehanizmov v kosteh. Ker do sedaj vprašanje povezave med obema skupinama regulatorjev kostne homeostaze še ni bilo obravnavano, je bil osnovni namen dela Petra Vrtačnika proučiti, kako estrogeni, oksidativni stres in hipoksija vplivajo na izražanje ge-

nov za histonske acetilaze, histonske deacetilaze, DNA-metiltransferaze in miRNA ter s tem na epigenetske procese v osteoblastih.

Jedro doktorske disertacije predstavljajo štirje objavljeni članki v uglednih revijah z dejavnikom vpliva in doktorandom kot prvim avtorjem. Peter Vrtačnik je najprej z vnosom kodirajočega dela za estrogenski receptor alfa v osteosarkomsko celično linijo HOS pripravil primeren eksperimentalni *in vitro* model. Na njem je kot prvi v osteoblastih proučeval in dokazal vpliv oksidativnega stresa in hipoksije na izražanje več genov, povezanih z epigenetskimi spremembami. V nadaljevanju je rezultate nadgradil z analizo izražanja najbolj obetavnih genov v obsežni zbirki kostnih vzorcev, pridobljenih od bolnikov z osteoporozo ali osteoartrozo ter kontrol, brez znakov kostnih bolezni. Ugotovljene razlike v izražanju genov za histonski acetilazi HAT1 in KAT5, histonski deacetilazi HDAC6 in HDAC9 ter genoma, vpletenima v metilacijo DNA, MBD1 in DNMT3A, predstavljajo prvi dokaz o vpletenosti teh genov v patogenezo osteoporozo in osteoartrozo. Ti geni predstavljajo tudi potencialne tarče, na katerih bi lahko temeljila prihodnja generacija zdravilnih učinkovin z anaboličnim delovanjem na skelet. Doktorska disertacija Petra Vrtačnika predstavlja izviren prispevek k znanosti na področju kostne biologije.

dr. Boris Brus, mag. farm.
**STRUKTURNO-PODPRTO
NAČRTOVANJE IN
VREDNOTENJE SPOJIN S
POTENCIALNIM
IMUNOMODULATORNIM IN
NEVROPROTEKTIVNIM
DELOVANJEM**

Mentor: prof. dr. Stanislav Gobec, mag. farm.

Metode virtualnega reševanja imajo zaradi svoje hitrosti, učinkovitosti in cenovne dostopnosti vedno pomembnejšo vlogo v procesu odkrivanja novih zdravilnih učinkovin. V okviru doktorske disertacije je Boris Brus razvil protokol za pripravo kakovostnih in ciljanih knjižnic spojin, ki so predstavljale osnovo za izvedbo virtualnih reševanj na treh različnih terapevtsko pomembnih tarčah.



S strukturno podprtim virtualnim rešetanjem je Boris Brus omogočil odkritje novih antagonistov receptorja TLR4 in zaviralcev imunoproteasoma. Obe skupini spojin predstavljata obetavno izhodišče za nadaljnji razvoj, saj imajo spojine zanimiv *in vitro* profil delovanja.

Nove zaviralce encima butirilholin-esteraze je Boris Brus iskal s strukturno podprtim virtualnim rešetanjem predhodno filtrirane in obogatene knjižnice spojin. Odkril je disubstituiran piperidinski analog z encimsko zaviralno aktivnostjo v nanomolarnem območju. Proučil je kinetiko zaviranja encima in sodeloval pri razrešitvi kristalne strukture kompleksa, ki je omogočila strukturno podprto optimizacijo in razvoj dveh serij spojin z izboljšanimi lastnostmi. Biološko vrednotenje tako razvitih derivatov je razkrilo močno izboljšano zaviralno delovanje nekaterih analogov, njihove inhibitorne konstante segajo celo v pikomolarno koncentracijsko območje. Za enega izmed zaviralcev butirilholin-esteraze smo ugotovili, da upočasni padec kognitivnih sposobnosti na mišjem modelu Alzheimerjeve bolezni in tako predstavlja optimizirano spojino vodnico z možnostjo prehoda v klinične razuksave.

Rezultati doktorskega dela Borisa Brusa potrjujejo hipotezo, da lahko z metodami virtualnega rešetanja ustrezno pripravljenih knjižnic spojin identificiramo nove spojine z aktivnostjo v mikromolarnem ali celo v nanomolarnem območju. Iz svoje doktorske disertacije je Boris Brus objavil 13 člankov v uglednih mednarodnih revijah, enega tudi kot prvi avtor v *Journal of Medicinal Chemistry*, ki je najpomembnejša revija na področju farmacevtske kemije.

dr. Tjaša Vižin, mag. farm.

VLOGA GAMA-ENOLAZE PRI RAKU IN NJENO URAVNAVANJE S PROTEOLITIČNIMI ENCIMI

Mentor: prof. dr. Janko Kos, univ. dipl. kem.

Tjaša Vižin v doktorskem delu raziskovala vlogo gama-enolaze in katepsina X v tumorskih procesih in preverila njuno diagnostično uporabnost pri pacientih z rakom črevesja. Gama-enolaza je encim glikolitične poti, ki se nahaja v nevronskih in neuroendokrinih celicah. Njeno prekomerno izražanje je značilno za tumorje nevrogenega in neuroendokrinega izvora, mehanizmi delovanja pa še niso bili raziskani. Gama-enolaza prispeva k pospešeni aerobni glikolizi, glavnemu viru energije tumorskih celic in omogoča njihovo

prolifracijo. V zadnjem času ugotovljajo, da lahko deluje kot dejavnik preživetja preko trofičnega aktivnega mesta na C-koncu molekule, kar so dokazali v nevronskih celicah. Trofično aktivnost gama-enolaze uravnava cisteinska proteaza katepsin X, ki odcepi dva aminokislinska preostanka na C-koncu.

Tjaša Vižin je ugotovila, da se necepljena gama-enolaza različno izraža v rakavih celičnih linijah in da je odvisna od izražanja katepsina X. V zunajceličnem prostoru prevladuje predvsem necepljena oblika gama-enolaze. Vrednosti gama-enolaze v serumih bolnikov z rakom črevesja niso bile bistveno povišane glede na kontrolne vzorce in tudi niso bile povezane s kliničnimi parametri. Pa vendar pri bolnikih z metastatskim rakom lahko napovejo potek bolezni in odgovor bolnikov na paliativno kemoterapijo. Doktorandka je ugotovila tudi, da je v serumih bolnikov z ne-metastatskim rakom črevesja katepsin X novi potencialni kazalec za prognozo in napoved odziva na kemoterapijo.

dr. Barbara Pogorelčnik, univ. dipl. ing. kem. tehnol.

STRUKTURNO PODPRTO NAČRTOVANJE NOVIH ZAVIRALCEV ČLOVEŠKE DNA TOPOIZOMERAZE IIA

Mentor: prof. dr. Tomaž Šolmajer, dipl. inž. fiz.
Somentor: doc. dr. Andrej Perdih, mag. farm.

Barbara Pogorelčnik je svoje delo zasnovala z metodo strukturno podprtega načrtovanja, ki obsega načrtovanje na osnovi poznavanja vezavnega mesta tarče, sintezo in/ali rešetanje knjižnic spojin, biološko ovrednotenje in določitev strukture kompleksa ligand-receptor.

V uvodu je predstavila encime družine DNA-topoizomeraz, mehanizem delovanja, zaviralce iz skupine topoizomeraznih strupov in katalitične zaviralce. Obe skupini zaviralcev sta bili tema dveh preglednih člankov, ki sta del disertacije. DNA-topoizomeraza Ila je validirana tarča za razvoj novih protirakovih učinkovin. Hipoteza, s katero je doktorandka zastavila delo na disertaciji, je bila, da s pomočjo dostopnih strukturnih podatkov za človeško topoizomerazo razvije validirane protokole virtualnega rešetanja za identifikacijo novih zaviralcev, ki se vežejo na ATP-vezavno mesto en-



cima. Za spojine iz knjižnic dostopnih spojin, izbrane na osnovi teh računalniških poskusov, je z eksperimentalnimi pristopi izmerila njihovo biološko aktivnost in z biofizikalnimi metodami okarakterizirala vezavo na encim. S to metodologijo strukturno podprtega načrtovanja je odkrila več novih razredov zaviralcev z delovanjem na ATP-vezavnem mestu: (i) 4-amino-6-(fenilamin)-1,3,5-triazine, z aktivnostjo v mikromolarnem območju in selektivnim citotoksičnim delovanjem na celice jetrnega hepatoma (HepG2) v primerjavi z normalnimi, nerakavimi celicami HUVEC, (ii) analoge purinov in pirazolo-pirimidinov z aktivnostjo v mikromolarnem območju in sposobnostjo zaviranja razpletanja človeške topoizomeraze. Vezavo na ATPazno domeno je eksperimentalno potrdila z meritvami površinske plazmonske resonance, model vezave pa preverila s simulacijami z molekulsko dinamiko. (iii) zaviralci iz razreda 1,3,5 triazinov so bili izhodišče za optimizacijo in odkritje monocikličnih zaviralcev s 1,3,5-triazin-2(1H)-onskim fragmentom. Tudi vezavo teh spojin na ATPazno domeno je okarakterizirala z meritvami mikrotermoforeze in simulacijami z molekulsko dinamiko.

Doktorandka je z uporabo široke palete sodobnih računalniških in eksperimentalnih metod načrtovanja učinkovin odkrila več razredov novih katalitičnih zaviralcev človeške DNA-topoizomeraze II α , ki se vežejo na ATP-vezavno mesto, in jih eksperimentalno okarakterizirala. Rezultate dela je predstavila tudi v treh publikacijah v mednarodnih revijah. Doktorska disertacija tako predstavlja pomembno izhodišče za nadaljnji razvoj novih protirakavih učinkovin in je tudi prispevek k razumevanju mehanizma zaviranja DNA-topoizomeraz II α .

dr. Eva Tavčar Benković, mag. farm.
**FITOKEMIJSKE RAZISKAVE
 FAGOPIRINOV IZ NAVADNE
 AJDE IN FENOLOV IZ NAVADNE
 JELKE**

Mentor: prof. dr. Samo Kreft, mag. farm.
 Somentor:izr. prof. dr. Damjan Janeš, mag. farm.

Eva Tavčar Benković je raziskovala sestavo dveh rastlinskih snovi: izvlečka bele jelke (*Abies alba*) in zeli ajde (*Fagopyrum esculentum*). Pri ajdi so jo zanimale fototoksične snovi, torej snovi, ki po zaužitju in sledečem obsevanju s sončno

svetlobo povzročijo nastanek kožnih izpuščajev. Njeno glavno odkritje je bilo, da ajda poleg fagopirina, ki je znanosti znan že nekaj desetletij, vsebuje še vsaj sedem drugih podobnih snovi. Dvema je ugotovila točno kemijsko strukturo, in sicer gre za naftodiantronski skelet, na katerega sta pripeta dva petčlenska dušikova heterocikla oziroma en petčlenski in en šestčlenski dušikov heterocikel. Da se je do tega odkritja dokopala, je morala predhodno raziskati ekstrakcijske in analizne postopke, primerne za tovrstne slabo topne spojine.

Izvleček bele jelke je bil ob začetku njenega dela povsem kemijsko neraziskan, zato so jo zanimale vse snovi, ki se v njem nahajajo. Morala je razviti ekstrakcijske in analizne postopke, s katerimi je lahko ustrezno ločila frakcije in posamezne snovi, ki jih je nato identificirala. Glavni rezultat njenih analiz ekstrakta jelke je bila identifikacija 13 snovi. Vse spadajo med rastlinske polifenole, večinoma pa so lignani, fenolne kisline in flavonoidi. S farmakološkimi raziskavami je pokazala, da izvleček jelke deluje antiaterogeno in kardioprotektivno, nastanek ateroskleroze je posledica diete, bogate s holesterolom in nasičenimi maščobami. Če pa že pride do zamašitve srčnih žil, so poškodbe srčne mišice zaradi jelke manjše kot pri kontrolnem eksperimentu.

Rezultate svojega raziskovalnega dela je kandidatka objavila v sedmih člankih v revijah z dejavnikom vpliva. Dve izmed teh revij sta celo prva ali druga najuglednejša revija svojega področja.

dr. Simon Žurga, mag. farm.
**BIOKEMIJSKE LASTNOSTI IN
 DELOVANJE RICINU B
 PODOBNEGA LEKTINA IZ GOBE
 MACROLEPIOTA PROCERA**

Mentor: prof. dr. Janko Kos, univ. dipl. kem.
 Somentorica: znan. sod. dr. Jerica Sabotič, univ. dipl. mikrobiol.

Simon Žurga je v doktorskem delu proučeval lastnosti in delovanje lektina MpL iz gobe orjaškega dežnika. Pripravil je rekombinantne različice lektina in z uporabo mutant ugotovil pozicijo vezavnih mest za glikane. Lektinu je določil tudi natančno specifičnost vezave glikanov in preveril, če

lahko lektin tvori višje oligomerne strukture. Rekombinantnemu lektinu je določil tudi 3D struktura, ki kaže, da spada med ricinu B podobne lektine z β -triperesnim vzorcem zvitja, ki ga sestavljajo tri strukturno podobne ponovitve α , β in γ . S pomočjo glikanskih mikromrež je ugotovil, da je lektin najbolj specifičen za terminalne N-acetilglukozaminske enote. V nadaljevanju je ugotavljal tudi biološko delovanje lektina na ogorčice in humane celične linije, določil subcelično lokalizacijo in načine celičnega vnosa.

Lektin rMpL izkazuje močno toksičnost za ogorčice *C. elegans* in njene mutante z okrnjeno sintezo glikanov. Za razliko od ogorčic pa lektin rMpL ni bil toksičen za humane celične linije. Opažen je bil njegov vpliv na adhezijo diferenciranih celic histiocitnega limfoma U937. S pripravo fuzijskih proteinov lektina in proteaznih inhibitorjev je doktorand dokazal, da so lektini primerni za vnos proteaznih inhibitorjev v tumorske celice.

Simon Žurga je rezultate doktorskega dela objavil v dveh člankih v uglednih revijah z dejavnikom vpliva in jih predstavil na mednarodnih konferencah.

dr. Mitja Pišlar, mag. farm.

RAZVOJ MODELA PREHODA PELET SKOZI ŽELODEC ZA NAPOVEDOVANJE KINETIKE ABSORPCIJE UČINKOVINE

Mentor: prof. dr. Aleš Mrhar, mag. farm.

Somentorica: prof. dr. Marija Bogataj, mag. farm.

Mitja Pišlar je v svoji doktorski disertaciji pokazal, da so modeli, ki predstavljajo poenostavitve realnih in kompleksnih sistemov in vključujejo glavne dejavnike sistemov, ključni za razumevanje, pojasnjevanje ter napovedovanje obnašanja farmacevtskih oblik v pogojih *in vivo*.

V sklopu doktorske naloge je razvil model, ki opisuje *in vivo* sproščanje natrijevega diklofenakata po zaužitju pelet s podaljšanim sproščanjem in napoveduje absorpcijo diklofenaka v sistemski krvni obtok. Doktorand je dokazal, da je mogoče v primerjavi s konvencionalnimi *in vitro* testi sproščanja, ki jih predpisujejo regulatorni organi, z upoštevanjem individualnih profilov praznjenja pelet iz želodca bolje napovedati individualne *in vivo* profile sproščanja ozi-

roma absorpcijske profile. Doktorand je preveril tudi, ali razviti model napovedovanja absorpcije ustrezno ponazarja čas prehoda tablet skozi tanko črevo. Ugotovil je, da praznjenje tablet iz želodca poteka 0–2 uri, čas prehoda skozi tanko črevo pa v povprečju znaša 3,5–4 ure.

Jedro doktorske disertacije predstavljajo trije objavljeni članki v revijah z velikim dejavnikom vpliva, predložena disertacija z inovativnimi metodološkimi pristopi in izstopajočimi rezultati pa predstavlja pomemben izviren prispevek k znanosti na področju razvoja in uporabe modelov v farmakokinetiki.

Mitja Pišlar je za svoje raziskovalne dosežke prejel Krkino nagrado za leto 2015 z obrazložitvijo, da je njegov prispevek k znanosti neprecenljiv vir navdiha današnjim in prihodnjim generacijam Krkinih nagrajencev.

dr. Alenka Šmid, mag. farm.

PROUČEVANJE BIOKEMIČNIH IN GENETSKIH DEJAVNIKOV PRI INDIVIDUALIZACIJI ZDRAVLJENJA S TIOPURINI

Mentor: prof. dr. Irena Mlinarič Raščan, mag. farm.

Poglavitni namen doktorske disertacije Alenke Šmid je bil prispevati k razumevanju pojava toksičnosti tiopurinov v terapiji akutne limfoblastne levkemije (ALL) otroške dobe ter pridobljeno znanje in ugotovitve prenesti v klinično prakso v smislu individualizacije terapije.

Alenka Šmid je biološke in genetske dejavnike napovedi učinkovitosti in pojava stranskih učinkov proučevala z izrazito interdisciplinarnim pristopom. Z uporabo omskih tehnologij je na modelih rastoče kompleksnosti od *in vitro* biokemijskih testov, *in vivo* celičnih kultur, bioloških vzorcev zdravih prostovoljcev in pacientov v procesu zdravljenja razreševala znanstvene probleme in preverjala zastavljene hipoteze.

V disertaciji so predstavljeni dokazi o vplivu S-adenozil metionina na aktivnost encima TPMT. Izsledki raziskav nakazujejo smiselnost določanja koncentracije SAM in poleg diagnostične vrednosti nakazujejo tudi potencialno uporabo SAM v terapiji s tiopurini, s katerim bi lahko uravnavali tveganje za pojav neželenih učinkov terapije.

Doktorandka je nadalje dokazala vpliv genskih polimorfizmov ključnih akterjev metioninskega in folatnega cikla na napovedne modele učinkovitosti in toksičnosti. Z nehipotetičnim farmakogenomskim pristopom je izvedla študijo zdravih prostovoljcev, vključujoč analizo transkriptoma z inovativno bioinformatično metodo matrične faktorizacije. Z zlitjem eksperimentalnih in javno dostopnih podatkov je napovedala vpletenost TPMT v endogene biološke procese. Ugotovitve je podprla s poskusi *in vitro*.

Doktorsko delo je rezultat večletnih prizadevanj in sodelovanja raziskovalcev iz akademskih ter kliničnih ustanov doma in v tujini in vključuje strokovnjake Fakultete za farmacijo, Pediatrične klinike UKC, Estonskega genomskega centra Univerze v Tartuju, Univerze v Tel-Avivu, *spin-off* podjetja Genialis d.o.o. in drugih.

Raziskave predstavljajo tri že objavljene članke z velikim dejavnikom vpliva (3.5–4.7), dva v procesu objave in dva v slovenskih strokovnih revijah.

dr. Andreja Čufar, mag. farm., spec.
**NAČRTOVANJE DEJAVNOSTI
KLINIČNE FARMACIJE V
BOLNIŠNICI S POMOČJO
METOD UMETNE INTELIGENCE**

Mentor: prof. dr. Aleš Mrhar, mag. farm.
Somentor: izr. prof. dr. Marko Robnik-Šikonja

Andreja Čufar je v svoji doktorski disertaciji prikazala možnosti za nov pristop k upravljanju s človeškimi viri v zdravstveni organizaciji s ciljem, kako identificirati aktivnosti kliničnih farmacevtov, ki bodo imele največji vpliv na zadovoljstvo zdravnikov in medicinskih sester s storitvijo klinične farmacije v izbrani zdravstveni organizaciji.

Doktorandka je prikazala, kako lahko z uporabo algoritma OrdEval izkoriščamo informacije, skrite v urejenih razredih in vrednostih atributov, kakor tudi njihove soodvisnosti na majhnem vzorcu pomembnih udeležencev raziskave. Aktivnosti oziroma kompetence kliničnih farmacevtov je razvrstila v skladu s Kanovim modelom. Izmed 52 aktivnosti in kompetenc kliničnih farmacevtov je identificirala sedem takih, ki lahko negativno vplivajo na celotno zadovoljstvo s klinično farmacijo in dve z izrazito pozitivnim vplivom.

Algoritma za ocenjevanje spremenljivk ReliefF in MDL sta se izkazala kot primerna za identifikacijo najpomembnejših aktivnosti/kompetenc kliničnih farmacevtov z vidika pričakovanega vpliva na zadovoljstvo uporabnikov s celotno storitvijo klinične farmacije. Ugotovitve so v pomoč pri uvažanju dejavnosti klinične farmacije v bolnišnicah.

Ker klinična farmacija sodi med znanstvena področja, kjer v večini primerov ni mogoče zagotoviti velikega vzorca, je smiselno uporabiti metode, ki so primerne za analizo majhnih vzorcev, obenem pa zagotavljajo ustrezno napovedno moč raziskave. Temu kriteriju ustrezajo nekatere novejšje metode podatkovnega rudarjenja. Le-te so bile v predloženi doktorski disertaciji uspešno implementirane, česar do sedaj v literaturi še niso opisali. Predložena disertacija zato z metodološkimi pristopi in dobljenimi rezultati predstavlja pomemben izvorni prispevek k znanosti na področju upravljanju s človeškimi viri v zdravstveni organizaciji.

dr. Boštjan Martinc, mag. farm.

**SPREMLJANJE ZDRAVLJENJA
EPILEPSIJE Z ZDRAVILI IN
VLOGA NEKATERIH KAZALCEV
OKSIDATIVNEGA STRESA**

Mentor: izr. prof. dr. Tomaž Vovk, mag. farm.

Epilepsija je bolezensko stanje, pri katerem se ponavljajo večinoma spontani epileptični napadi. Mehanizme nastanka in napredovanja bolezni slabo poznamo, zdravljenje pa v večini primerov poteka simptomatsko s pomočjo protiepileptičnih učinkovin. Doktorandovo delo lahko razdelimo v dva sklopa. V prvem sklopu je razvil analizno metodo za terapevtsko spremljanje koncentracij novejših protiepileptičnih učinkovin v plazmi bolnikov ter metodi za določanje vsebnosti in hitrosti sproščanja protiepileptičnih učinkovin iz farmacevtskih oblik. V drugem sklopu je na osnovi metaanalize objavljenih kliničnih raziskav ter lastne klinične raziskave proučil označevalce oksidativnega stresa v epilepsiji.

Doktorand je ugotovil, da razvita in validirana derivatizacijska kromatografska metoda za sočasno določanje gabapentina, pregabalina, vigabatrina in topiramata omogoča določanje njihovih plazemskih koncentracij in je zato primerna za terapevtsko spremljanje koncentracij učinkovin



pri bolnikih. Kromatografska metoda za določanje pregalina in spektrofluorimetrična metoda za določanje analogov γ -amino butirne kisline na mikrotitrskih ploščicah s pomočjo derivatizacije sta enostavni, hitri ter primerni za določanje vsebnosti in hitrosti sproščanja učinkovin iz farmaceutskih oblik. Z izvedeno klinično raziskavo in metaanalizo je ugotovil povečanje oksidativnih poškodb bioloških makromolekul in spremenjeno aktivnost encimskih antioksidantov pri zdravljenih bolnikih z epilepsijo v primerjavi z zdravimi prostovoljci. Poleg tega je dokazal, da pri bolnikih z epilepsijo, ki jih zdravimo s predstavniki starejše generacije, v primerjavi z bolniki, ki jih zdravimo s predstavniki novejše generacije protiepileptičnih zdravil, prihaja do značilnih sprememb v aktivnosti encimskih antioksidantov ter povečanja poškodb bioloških makromolekul in metabolizma dušikovega oksida.

Te ugotovitve potrjujejo hipotezo o povečanem obsegu oksidativnega stresa v primeru bolnikov z epilepsijo, zdravljenih s starejšo generacijo protiepileptičnih zdravil. Rezultati raziskav doktorskega dela so vidni in so mednarodno primerljivi, kar je razvidno iz doktorandove bibliografije.

dr. Maja Radivojša Matanović, mag. farm. RAZVOJ IN VREDNOTENJE TEMPERATURNO ODZIVNIH HIDROGELOV Z NANOKOMPLEKSI ZA SUBKUTANO PODALJŠANO SPROŠČANJE HEPARINA

Mentorica: doc. dr. Pegi Ahlin Grabnar, mag. farm.
Somentorica: izr. prof. dr. Iztok Grabnar, mag. farm.

Področje doktorske disertacije Maje Radivojša Matanović so napredni dostavni sistemi za podkožno dajanje heparina. Heparin je antikoagulacijska zdravilna učinkovina, ki jo pogosto uporabljamo za zdravljenje in preprečevanje različnih tromboemboličnih bolezni, predvsem globoke venske tromboze in pljučne embolije. Apliciramo jo lahko le z injiciranjem, in sicer večkrat na dan, kar je s stališča pacienta zelo neugodno.

V doktorski disertaciji je doktorandka razvila in temeljito ovrednotila dostavni sistem za podaljšano sproščanje he-

parina, ki temelji na temperaturno odzivnih hidrogelih. Pokazala je, da je z izbiro ustreznih polimerov mogoče izdelati formulacijo, ki je na sobni temperaturi tekoča in jo lahko injiciramo, pod kožo pa tvori poltrden hidrogel, ki omogoča podaljšano sproščanje heparina. Dodatno upočasnitev sproščanja heparina je dosegla z njegovo vključitvijo v nanokomplekse s hitosanom. Prav kombinacija temperaturno odzivnih hidrogelov in pH-odzivnih hitosanskih nanokompleksov predstavlja njen izvorni prispevek k znanosti. Ugotovitve *in vitro* raziskav je nadgradila s proučevanjem citotoksičnosti formulacij na celičnih kulturah in pokazala, da ne zavirajo celične proliferacije. Osrednji del njenih raziskav je bil usmerjen v *in vivo* testiranje formulacij na podganah. Dokazala je petdnevno prisotnost preventivnih koncentracij heparina v krvi in s tem potrdila, da lahko takšni sistemi omogočijo manj pogosto odmerjanje in s tem za kronične bolnike prijaznejše zdravljenje.

Rezultati raziskav doktorskega dela so vidni in so mednarodno primerljivi, kar je razvidno iz doktorandkine bibliografije.

dr. Ana Herman, mag. farm.

MIKRO RNA V PLAZEMSKIH VZORCIH ZDRAVIH OSEB IN BOLNIKOV Z MALIGNIM GLIOMOM

Mentor: izr. prof. dr. Matjaž Jeras, mag. farm.
Somentorica: prof. dr. Kristina Gruden

Najpomembnejši izvorni prispevki doktorskega dela Ane Herman k proučevanju vloge plazemskih mikro RNA (miRNA) pri glioblastomu so:

- odkritje 19 miRNA s potencialnim diagnostičnim ter 24 miRNA s potencialnim prognostičnim pomenom ter med temi opredelitev 10 s kombiniranim diagnostičnim in prognostičnim potencialom, med katerimi izstopata hsa-miR-592 in hsa-miR-514a-3p, ki ju doslej še niso povezovali z glioblastomom;
- detekcija 11 virusnih miRNA, diferencialno izraženih v plazemskih vzorcih bolnikov in zdravih oseb, ki sodelujejo v raznolikih, zlasti imunsko pogojenih mehanizmih, sposobnih podpiranja tumorske rasti;
- odkritje povezave med skupino ribosomskih proteinov, med katerimi izstopa RPS2, ki ga do sedaj še niso po-

vezovali z glioblastomom, ter diferencialno izraženimi miRNA, in sicer s pomočjo inovativne uporabe bioinformatičnega orodja Segmine®.

Rezultati doktorskega dela Ane Herman predstavljajo pomemben prispevek k znanosti na področju raziskovanja miRNA in njihove uporabe pri diagnozi, prognozi in zdravljenju glioblastoma.

dr. Katja Čerpnjak, mag. farm.

SOLUBILIZACIJA SLABO TOPNE UČINKOVINE S SAMO- MIKROEMULGIRAJOČIMI SISTEMI VGRAJENIMI V TRDNE FARMACEVTSKE OBLIKE

Mentorica: prof. dr. Mirjana Gašperlin, mag. farm.

Somentor: prof. dr. Franc Vrečer, mag. farm.

Področje doktorske disertacije Katje Čerpnjak so na lipidih osnovani samomikroemulgirajoči sistemi (SMES) za solubilizacijo slabo vodotopnih učinkovin. Topnost učinkovin je eden od najbolj pomembnih dejavnikov za zagotavljanje ustrezne terapevtske koncentracije in ker je kar do 70 % na novo odkritih učinkovin slabo vodotopnih, so ti pristopi ključnega pomena pri razvoju zdravil. Ker so klasični SMES tekoče oblike, ki izkazujejo probleme s kompatibilnostjo, stabilnostjo in velikimi proizvodnimi stroški, je bil namen doktorskega dela predvsem pretvorba tekočih SMES v trdne farmacevtske oblike. Za modelno učinkovino smo izbrali slabo topen nesteroidni antirevmatik naproksen.

Doktorandka se je v uvodnem delu doktorske disertacije osredotočila na razvoj in vrednotenje tekočih SMES s ciljem izbrati formulacijo, ki bo izkazovala najboljše samomikroemulgirajoče lastnosti in zagotavljala maksimalno količino vgrajenega naproksena. Rezultati *in vitro* sproščanja so potrdili postavljeno hipotezo, da z vgradnjo naproksena v SMES značilno izboljšamo tako obseg kot tudi hitrost sproščanja. V drugem delu se je s ciljem združitve prednosti tekočih SMES in trdnih farmacevtskih oblik lotila razvoja trdnih SMES. Preizkusila je različne metode solidifikacije (sušenje z razprševanjem, adsorpcijo na trdne nosilce, granuliranje s talinami). Metode je primerjalno ovrednotila in kot metodo izbora izbrala sušenje z razprševanjem. S pomočjo metod načrtovanja eksperimentov je vrednotila vpliv procesnih parametrov sušenja z razprševanjem na samomikroemulgirajoče lastnosti in izkoristek procesa, kar ji je omogočilo optimizacijo tehnološkega procesa. Raziskave je nadgradila s proučevanjem vpliva nosilcev in koncentracije vgrajene zdravilne učinkovine na ključne lastnosti trdnih SMES. Za proučevanje tega segmenta je uporabila naj-sodobnejše metode, med njimi tudi Ramansko mapiranje. V zadnjem delu naloge se je osredotočila na izdelavo tablet in minitabelet, izdelanih iz SMES prahov.

Rezultati doktorske naloge so mednarodno primerljivi in objavljeni v štirih člankih z dejavnikom vpliva. Doktorandkin izvirni prispevek k znanosti je predvsem poglobljena študija načrtovanja in razumevanja vpliva različnih metod, pomožnih snovi in koncentracije učinkovine na nastanek SMES s ciljnimi fizikalno-kemijskimi in biofarmacevtskimi lastnostmi izdelka, kar podpira tehnološko konkurenčnost trdnih SMES za izboljšanje solubilizacije slabo topnih učinkovin.

