

Peter Molek

Mentor: doc. dr. Tomaž Bratkovič

Razvoj peptidnih modulatorjev delovanja leptina in vrednotenje njihove biološke aktivnosti

Eksperimentalno delo je doktorand primarno 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 (npr. leptinskega receptorja) na osnovi bakteriofagnih delcev.

Kot osnovno metodologijo je uporabil presejanje kombinatoričnih knjižnic peptidov in enoverižnih 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 (tj. fragmenta protitelesa) in reporterske komponente (tj. zelenega fluorescenčnega proteina) je ovrednotil z encimskoimunskimi testi, prenosom western in fluorescenčno mikroskopijo. Raziskave, ki jih je doktorand opravil, so privedle do izvernih 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).

Matej Štuhec

Mentorica:izr. prof. dr. Vesna Švab

Somentor: doc. dr. Igor Locatelli

Epidemiologija, farmakoepidemiologija ter primerjalna učinkovitost in sprejemljivost zdravil za zdravljenje hiperkinetične motnje otrok in mladostnikov

Komisija za oceno doktorske disertacije za mag. Matej Štuhec Epidemiologija, farmakoepidemiologija ter primerjalna učinkovitost in sprejemljivost zdravil za

zdravljenje hiperkinetične motnje otrok in mladostnikov je 12.1.2015 ocenila, da je dr. Štuhec na inovativen način ocenil prevalenčno stopnjo ADHD v Sloveniji. Opozoril je na neenakomerno porabo zdravil za ADHD med zdravstvenimi regijami v Sloveniji. Opredelil je primerjalno učinkovitost in sprejemljivost zdravil za zdravljenje ADHD 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 motnje pozornosti s hiperaktivnostjo pri otrocih in mladostnikih.

Njegovo zanimanje za področje obravnave otrok z ADHD izhaja iz izkušenj kliničnega farmacevta, ki se je v svoji praksi srečal z neustrezno obravnavo, farmakološkimi zapleti pri zdravljenju in trpljenjem mlade ženske z ADHD. 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. Locatellija zbral veliko količino relevantnih podatkov, jih ustrezno analiziral in interpretiral na način, da lahko služijo kot smernice za obravnavo otrok z ADHD v našem okolju in v mednarodnem prostoru. Znanstveno uspešnost in pravilnost dognanj je dokazal z objavami v številnih mednarodnih revijah z visokim faktorjem vpliva. Ob tem pa 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 je lahko bistveno pripomore k kakovosti obravnave ljudi z diagnozo ADHD in k napredku stroke.

Peter Vrtačnik

Mentorica:izr. prof. dr. Barbara Ostanek

Vpliv estrogenov, oksidativnega stresa in hipoksije na epigenetske procese v osteoblastih

Estrogeni, oksidativni stres in hipoksija močno vplivajo na kostno prenovo in s tem na razvoj kostnih bolezni kot je osteoporozna. 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 kandidatovega dela proučiti, kako estrogeni, oksidativni stres in hipoksija vplivajo na izražanje genov za histonske acetilaze, histonske deacetilaze, DNA-metiltransferaze in miRNA ter s tem na epigenetske procese v osteoblastih.

Jedro doktorske disertacije predstavljajo 4 objavljeni članki v uglednih revijah z dejavnikom vpliva in doktorandom kot prvim avtorjem. Del rezultatov pa je pripravljenih za objavo. 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 osteoporoze in osteoartroze. Ti geni predstavljajo tudi potencialne tarče, na katerih bi lahko temeljila prihodnja generacija zdravilnih učinkovin z anabolnim delovanjem na skelet. Predložena disertacija predstavlja originalen prispevek k znanosti na področju kostne biologije.

Boris Brus

Mentor: prof. dr. Stanislav Gobec

Strukturno-podprto načrtovanje in vrednotenje spojin s potencialnim imunomodulatornim in nevroprotektivnim delovanjem

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

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

Nove zaviralce encima butriliholin-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 nizkem 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 nizko 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 študije.

Rezultati doktorskega dela Borisa Brusa potrjujejo hipotezo, da z metodami virtualnega rešetanja ustrezno pripravljenih knjižnic spojin lahko identificiramo nove spojine zadetke z aktivnostjo v mikromolarnem, ali celo v nizkem 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.

Barbara Pogorelčnik

Mentor: prof. dr. Tomaž Šolmajer

Somentor: doc. dr. Andrej Perdih

Strukturno podprto načrtovanje novih zaviralcev človeške DNA topoizomeraze II α

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

Uvodoma 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 II□ je validirana tarča za razvoj novih protirakovih učinkovin.

Hipoteza, s katero je kandidatka 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 encima. 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, ne-rakovimi HUVEC celicami (ii) analoge purinov in pirazolo-pirimidinov z aktivnostjo v mikromolarnem območju in sposobnostjo zaviranja razpletanja človeške topoizomeraze. Vezava na ATPazno domeno je bila eksperimentalno potrjena z meritvami površinske plazmonske resonance, model vezave pa preverjen 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.

Kandidatka je z uporabo široke palete sodobnih računalniških in eksperimentalnih metod načrtovanja učinkovin odkrila več razredov novih katalitičnih zaviralcev človeške DNA topoizomeraze II, ki se ve

vezavno mesto, in jih predstavljajo tudi v treh publikacijah v mednarodnih revijah. Disertacija tako predstavlja pomembno izhodišče za nadaljnji razvoj novih protirakavih učinkovin in je tudi prispevek k razumevanju mehanizma zaviranja DNA topoizomeraz II. Rezultati dela so bili že okarakterizirala

Tjaša Vižin

Mentor: prof. dr. Janko Kos

Vloga gama-enolaze pri raku in njeno uravnavanje s proteolitičnimi encimi

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 proliferacijo. V zadnjem času pa je bilo ugotovljeno, da lahko deluje kot dejavnik preživetja preko trofičnega aktivnega mesta na C-koncu molekule, kar je bilo dokazano 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 z kliničnimi parametri. Pa vendar pri bolnikih z metastatskim rakom lahko napovejo potek bolezni in odgovor bolnikov na paliativno kemoterapijo. Nazadnje je kandidatka ugotovila da pa je v serumih bolnikov z nemetastatskim rakom črevesja katepsin X nov potencialni kazalec za prognozo in napoved odziva na kemoterapijo.

Eva Tavčar Benković

Mentor: prof. dr. Samo Kreft

Somentor: doc. dr. Damjan Janeš

Identifikacija rastlinskih vrst s pomočjo infrardeče spektroskopije

Eva Tavčar Benković je v okviru svojega doktorata 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 oz. en petčlenski in en šestčlenski dušikov heterocikel. Da se je do tega odkritja dokopala, je morala predhodno raziskati ekstrakcijske in analitske 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 analitske postopke, s katerimi je lahko ustrezno ločila frakcije in posamezne snovi, ki jih je nato identificirala. Glavni rezultat njenih analiz jelkinega ekstrakta je bila identifikacija 13 snovi. Vse spadajo med rastlinske polifenole, večinoma pa so lignani, fenolne kisline in flavonoidi. S farmakološkimi raziskavami je pokazala, da jelkin izvleček deluje antiaterogeno in kardioprotektivno. Jelkin izvleček upočasnjuje nastanek ateroskleroze, kot posledico 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 7 člankih v revijah s faktorjem vpliva. Dve izmed teh revij sta celo prva ali druga najuglednejša revija svojega področja.

Simon Žurga

Mentor: prof. dr. Janko Kos

Somentorica: znan. sod. dr. Jerica Sabotič

Biokemijske lastnosti in delovanje ricinu B podobnega lektina iz gobe *Macrolepiota procera*

Simon Žurga je v doktorskem delu preučeval 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 bila določena 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-acetilaktozaminske 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 dokazal, da so lektini primerni za vnos proteaznih inhibitorjev v tumorske celice.

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

Mitja Pišlar

Mentor: prof. dr. Aleš Mrhar

Somentorica: prof. dr. Marija Bogataj

Razvoj modela prehoda pelet skozi želodec za napovedovanje kinetike absorpcije učinkovine

Doktorand je v svoji 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 oziroma 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 med 3,5 in 4 ure.

Jedro doktorske disertacije predstavljajo 3 objavljeni članki v revijah z visokim dejavnikom vpliva, predložena disertacija z inovativnimi metodološkimi pristopi in izstopajočimi rezultati pa predstavlja pomemben originalni prispevek k znanosti na področju razvoja in uporabe modelov v farmakokinetiki.

Doktorand 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.

Alenka Šmid

Mentor: prof. dr. Irena Mlinarič Raščan

Proučevanje biokemičnih in genetskih dejavnikov pri individualizaciji zdravljenja s tiopurini

Poglavitni namen doktorske disertacije je bil prispevati k razumevanju pojavnosti 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 pojavnosti 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 nakazuje tudi potencialno uporabo SAM v

terapiji TIOPURINOV, s katerim bi lahko uravnavali tveganje za pojav neželenih učinkov terapije.

Nadalje dokazuje, 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 napove vpletenost TPMT v endogene biološke procese. Ugotovitve podpre 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 FFA, Pediatrične klinike UKC, Estonskega genomskega centra Univerze v Tartuju, Univerze v Tel-Avivu, spin-off podjetja Genialis d.o.o. in drugih.

Raziskave so predstavljajo tri že objavljene članke z visokim faktorjem vpliva (3.5-4.7), dva v procesu objave in dva v slovenskih strokovnih revijah.

Andreja Čufar

Mentor: prof. dr. Aleš Mrhar

Somentor: izr. prof. dr. Marko Robnik-Šikonja

Načrtovanje dejavnosti klinične farmacije v bolnišnici s pomočjo metod umetne inteligence

Doktorandka 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 oz. kompetence kliničnih farmacevtov je razvrstila v skladu s Kanovim modelom. Izmed 52 aktivnosti in kompetenc kliničnih farmacevtov je bilo identificiranih 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 uvajanju 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 novejšie metode podatkovnega rudarjenja. Le-te so bile v predloženi doktorski disertaciji uspešno implementirane, kar do sedaj v literaturi še ni bilo opisano. Predložena disertacija zato z metodološkimi pristopi in dobljenimi rezultati predstavlja pomemben originalni prispevek k znanosti na področju upravljanju s človeškimi viri v zdravstveni organizaciji.

Boštjan Martinc

Mentor: izr. prof. dr. Tomaž Vovk

Spremljanje zdravljenja epilepsije z zdravili in vloga nekaterih kazalcev oksidativnega stresa

Epilepsija je bolezensko stanje pri katerem se ponavljajo večinoma spontani epileptični napadi. Mehanizmi nastanka in napredovanja bolezni so slabo poznani, zdravljenja pa v večini primerov poteka simptomatsko s pomočjo protiepileptičnih učinkovin. Kandidatovo delo lahko razdelimo v dva sklopa. V prvem sklopu je razvil analizo metodo za terapevtsko spremljanje koncentracij novejših protiepileptičnih učinkovin 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.

Kandidat 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 v bolnikih. Kromatografska metoda za določanje pregabalina in spektrofluorimetrična metoda za določanje analogov γ -amino butirne kisline na mikrotiterskih ploščicah s pomočjo derivatizacije sta enostavni, hitri ter primerni za določanje vsebnosti in hitrosti sproščanja učinkovin iz farmacevtskih 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 se zdravijo s predstavniki starejše generacije, v primerjavi z bolniki, ki se zdravijo s predstavniki novejše generacije

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

Maja Radivojša Matanović

Mentorica: doc. dr. Pegi Ahlin Grabnar

Somentor: izr. prof. dr. Iztok Grabnar

Razvoj in vrednotenje temperaturno odzivnih hidrogelov z nanokompleksi za subkutano podaljšano sproščanje heparina

Področje doktorske disertacije Maje Radivojša Matanović, mag.farm. so napredni dostavni sistemi za podkožno dajanje heparina. Heparin je antikoagulacijska zdravilna učinkovina, ki se pogosto uporablja 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 Maja Radivojša Matanović razvila in temeljito ovrednotila dostavni sistem za podaljšano sproščanje heparina, ki temelji na temperaturno odzivnih hidrogelih. Pokazala je, da je z izbiro ustreznih polimerov mogoče izdelati formulacijo, ki je na sobni temperaturi tekoča in se lahko injicira, 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 originalni 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 5-dnevno 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.

Ana Herman

Mentor: izr. prof. dr. Matjaž Jeras

Somentorica: prof. dr. Kristina Gruden

Mikro RNA v plazemskih vzorcih zdravih oseb in bolnikov z malignim gliomom

Najpomembnejši originalni prispevki doktorskega dela Ane Herman k preučevanju vloge plazemskih mikroRNA (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 povezovali z glioblastomom, ter diferencialno izraženimi miRNA, in sicer s pomočjo inovativne uporabe bioinformacijskega 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.

Katja Čerpnjak

Mentorica: prof. dr. Mirjana Gašperlin

Somentor: prof. dr. Franc Vrečer

Solubilizacija slabo topne učinkovine s samo-mikroemulgirajočimi sistemi vgrajenimi v trdne farmacevtske oblike

Področje doktorske disertacije Katje Čerpnjak, mag. farm., so na lipidih osnovani samomikroemulgirajoči sistemi (v nadaljevanju 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 visokimi proizvodnimi stroški, je bil namen doktorskega dela predvsem pretvorba tekočih SMES v trdne farmacevtske oblike. Za modelno učinkovino je bil izbran slabo topen nesteroidni antirevmatik naproksen.

Katja Čerpnjak 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 signifikantno 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. Preskusila je različne metode solidifikacije (sušenje z razprševanjem, adsorpcija 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 ZU na ključne lastnosti trdnih SMES. Za proučevanje tega segmenta je uporabila najsodobnejše metode, med njimi tudi Ramansko mapiranje. V zadnjem delu naloge se je osredotočila na izdelavo tablet in minintablet, izdelanih iz SMES prahov. Rezultati doktorske naloge so mednarodno primerljivi in objavljeni v 4 člankih s faktorjem vpliva.

Avtoričin originalni prispevek k znanosti je predvsem poglobljena študija načrtovanja in razumevanja vpliva različnih metod, pomožnih snovi in koncentracije učinkovine na nastanek SMES s ciljanimi fizikalno-kemijskimi in biofarmacevtskimi lastnostmi izdelka, kar podpira tehnološko konkurenčnost trdnih SMES za izboljšanje solubilizacije slabo topnih učinkovin.