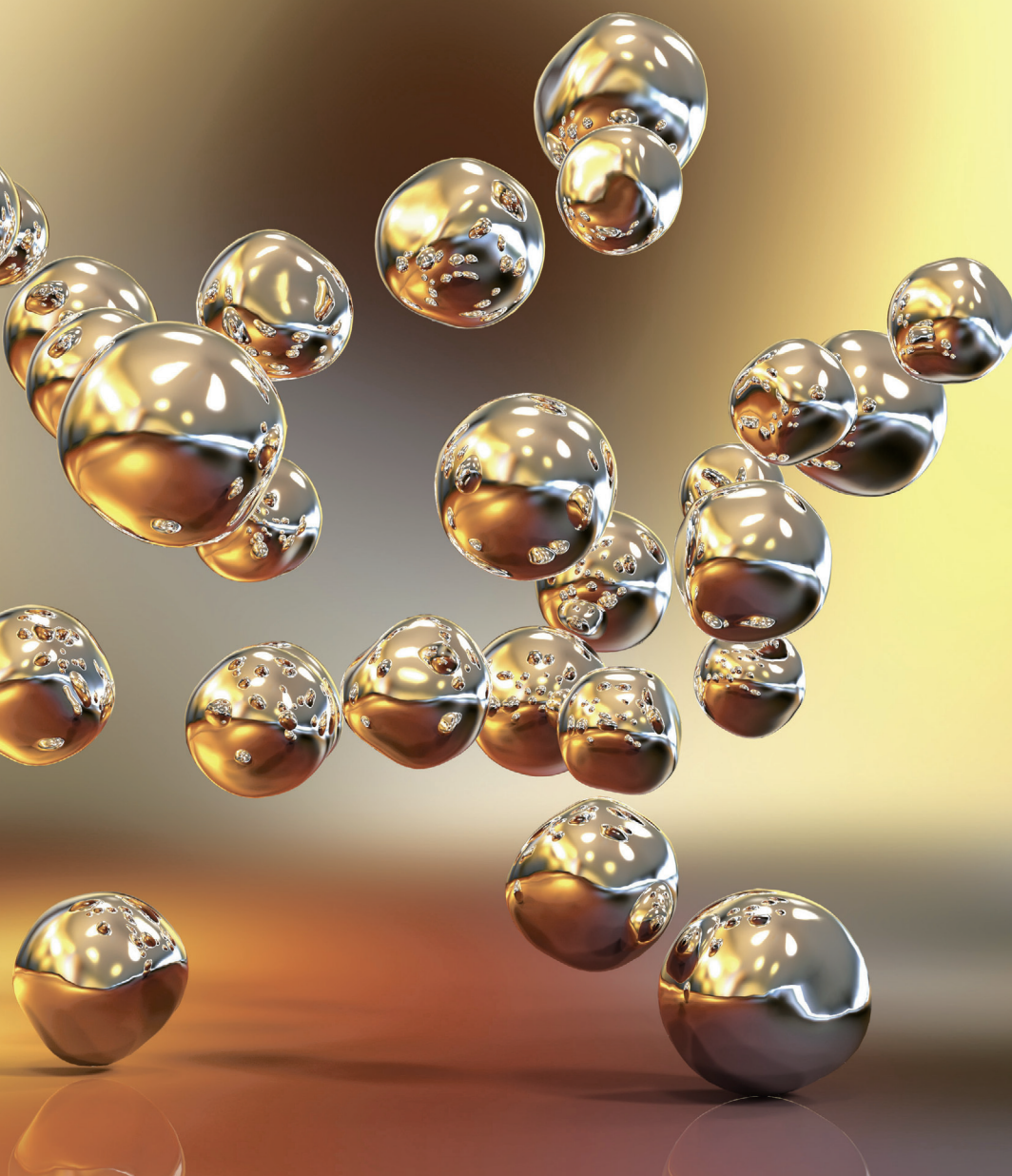


FARMACEVTSKI VESTNIK

št. 3





STROKOVNO GLASILO SLOVENSKE FARMACIJE | PHARMACEUTICAL JOURNAL OF SLOVENIA

FARMACEVTSKI VESTNIK

št. 3 | julij 2025 | letnik 76

ODGOVORNA UREDNICA:
Mojca Kerec Kos

GLAVNA UREDNICA:
Dunja Urbančič

UREDNIŠKI ODBOR:
Žiga Jakopin
Marjetka Korpar
Mitja Kos
Anja Pišlar
Andrea Šetina
Matjaž Tuš
Tomaž Vovk
Alenka Zvonar Pobirk

IZDAJATELJSKI SVET:
Miroslava Abazovič
Matejka Cvirn Novak
Sara Kenda
Smiljana Milošev Tuševljak
Janez Mravljak
Helena Pavšar
Aljaž Sočan

NASLOV UREDNIŠTVA /
ADDRESS OF THE EDITORIAL OFFICE:
Slovensko farmacevtsko društvo,
Dunajska cesta 184a, 1000 Ljubljana
T.: +386 (01) 569 26 01
Transakcijski račun pri Novi LB d.d. Ljubljana:
02010-0016686585.

Prispevki v Farmacevtskem vestniku so odprto dostopni v skladu z licenco CC BY-NC 4.0.



Izhaja petkrat letno.
Letna naročnina je 70 EUR.
Za tuje naročnike 100 US\$.

Tiska: COLLEGIUM GRAPHICUM
Fotografija na naslovnici: Shutterstock
Naklada: 3.600 izvodov

Farmacevtski vestnik (Pharmaceutical Journal of Slovenia) is published 5 times a year by the Slovenian Pharmaceutical Society, Subscription rate in inland 70 EUR other countries US\$ 100.

Farmacevtski vestnik sofinancira Javna agencija za znanstvenoraziskovalno in inovacijsko dejavnost Republike Slovenije iz sredstev državnega proračuna iz naslova razpisa za sofinanciranje domačih periodičnih znanstvenih publikacij.

Spoštovane članice in člani Slovenskega farmacevtskega društva.

Pred vami je letošnja tretja številka Farmacevtskega vestnika, ki prinaša dva izvorna in tri pregledne znanstvene članke ter en strokovni članek. Med izvirnimi znanstvenimi članki so predstavljeni rezultati raziskave o vlogi cisteinske peptidaze katepsina X pri polarizaciji celic mikroglije. Te imajo ključno vlogo pri ohranjanju homeostaze v možganih, njihova polarizacija pod vplivom različnih dejavnikov pa lahko spodbuja nevrotetije ali pa ima zaščitno funkcijo v možganih. Sledi članek, v katerem so predstavljeni rezultati spletne ankete o stališčih slovenske splošne populacije do ugovora vesti pri lekarniških farmacevtskih. Avtorji obravnavajo etične dileme, ki izhajajo iz navzkrižja med osebnimi prepričanji farmacevtov in pravicami pacientov.

Prvi pregledni članek se posveča uporabi umetne inteligence v sodobni fitoterapiji – od identifikacije rastlinskih vrst in analize bioaktivnih spojin, do napovedovanja terapevtskih učinkov, optimizacije formulacij ter možnosti personalizirane fitoterapije. Sledi članek o klinični učinkovitosti in varnosti cimicifuge ter rastlin s fitoestrogeni pri lajšanju simptomov menopavznih težav. Pri tovrstnih težavah se namreč mnoge ženske odločajo tudi za uporabo rastlinskih pripravkov. V zadnjem preglednem članku je predstavljena RNA kot terapevtska tarča. Njena sposobnost utišanja genov ter usmerjanje epigenetskih modifikacij omogočata razvoj zdravil, kot so protismiselni oligonukleotidi, male interferenčne RNA in aptameri.

V strokovnem članku je predstavljena proizvodnja parenteralnih farmacevtskih oblik. Po kratkem zgodovinskem pregledu avtor izpostavi prihodnje trende, kot sta uvajanje robotskih sistemov brez rokavic in prilagoditve mikrobiološkega vzorčenja znotraj aseptičnih pogojev okolja.

Ne spreglejte tudi novic iz sveta farmacije ter društvenega dogajanja. V tej številki poročamo o jubilejnem simpoziju Slovenskega farmacevtskega društva ob 50. skupščini in 75-letnici ustanovitve društva ter o simpoziju Sekcije farmacevtskih tehnikov. Predstavljeni so tudi letošnji prejemniki Minařikovega odličja in Minařikovih priznanj, ki jim za njihov dragocen prispevek k razvoju farmacevtske stroke še enkrat iskreno čestitamo!

Želiva vam lepo poletje, polno oddiha, prijetnih trenutkov z bližnjimi in nekaj brezskrbnosti.

prof. dr. Mojca Kerec Kos,
odgovorna urednica Farmacevtskega vestnika

asist. dr. Dunja Urbančič,
glavna in tehnična urednica Farmacevtskega vestnika



VSEBINA / CONTENT

IZVIRNI ZNANSTVENI ČLANKI / ORIGINAL SCIENTIFIC ARTICLES

- 151 Klara Kovačič, Anja Pišlar
Vloga cisteinske peptidaze katepsina X pri polarizaciji celic mikroglije
Role of cysteine peptidase cathepsin X in microglia polarization
- 160 Ana Kodrič, Nejc Horvat
Ugovor vesti pri lekarniških farmacevtilih: stališča slovenske splošne populacije
Conscientious objection among community pharmacists: attitudes of the Slovenian general population

PREGLEDNI ZNANSTVENI ČLANKI / REVIEW SCIENTIFIC ARTICLES

- 170 Rade Injac, Nina Kočever Glavač
Uporabnost umetne inteligence v sodobni fitoterapiji
Usability of artificial intelligence in modern phytotherapy
- 177 Samo Kreft
Zdravilne rastline pri menopavzi: klinična učinkovitost in varnost
Medicinal plants in menopause: clinical efficacy and safety
- 184 Petra Seliškar, Martina Hrast Rambaher, Janez Mravljak
RNA kot terapevtska tarča: priložnosti in omejitve v sodobni medicini
RNA as therapeutic target: opportunities and limitations in modern medicine

STROKOVNI ČLANKI / PROFESSIONAL ARTICLES

- 193 Aleš Dimnik
Prihodnost proizvodnje parenteralnih farmacevtskih oblik
The future of parenteral dosage forms manufacturing

NOVICE IZ SVETA FARMACIJE IN DRUŠTVENE VESTI

VLOGA CISTEINSKE PEPTIDAZE KATEPSINA X PRI POLARIZACIJI CELIC MIKROGLIJE ROLE OF CYSTEINE PEPTIDASE CATHEPSIN X IN MICROGLIA POLARIZATION

AVTORICI / AUTHORS:

Klara Kovačič, mag. farm.¹

izr. prof. dr. Anja Pišlar, mag. farm.²

¹ Lekarna Vir, Čufarjeva ulica 23, 1230 Domžale

² Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,
Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: anja.pislar@ffa.uni-lj.si



POVZETEK

Celice mikroglije so glialne celice centralnega živčnega sistema, podobne makrofagom, ki vzdržujejo homeostazo možganov in so ene izmed najpomembnejših prirojnih celic imunskega sistema centralnega živčevja. Pod vplivom patoloških in imunoloških dražljajev pride do polarizacije mikroglije v pro-vnetni fenotip M1, ki spodbuja procese nevrvnetja, ali proti-vnetni fenotip M2, ki izkazuje zaščitno delovanje v možganih. Cisteinski katepsini, ki jih sprošča polarizirana mikroglija fenotipa M1, so vse bolj prepoznani kot pomembni vnetni dejavniki, ki sprožijo signalne poti, kar dodatno vzpodbudi vnetne procese in vodi v nevrodegeneracijo. Med njimi je cisteinska peptidaza katepsin X, ki je že bila prepoznana kot patogeni dejavnik nevrodegeneracije, povzročene z vnetjem, vendar je njena vloga pri polarizaciji mikroglije v posamezen fenotip nepoznana. Rezultati raziskav nakazujejo, da ima katepsin X pomembno vlogo pri polarizaciji mikroglije v pro-vnetni fenotip M1 oziroma proti-vnetni fenotip M2 in predstavlja potencialno terapevtsko tarčo za preprečevanje in zdravljenje nevrodegenerativnih bolezni, povezanih s prekomernim vnetjem.

KLJUČNE BESEDE:

katepsin X, mikroglija, polarizacija, vnetje, zaviralec katepsina X

ABSTRACT

Microglia are glial cells of the central nervous system, similar to macrophages, which maintain homeostasis of the brain and are among the most important cells of the innate immune system of the central nervous system. Under the influence of pathological and immunological stimuli, a polarization of microglia occurs, either into the pro-inflammatory phenotype M1, which promotes the processes of neuroinflammation, or into the anti-inflammatory phenotype M2, which exhibits a protective function in the brain. Cysteine cathepsins, which are released by polarized microglia of the M1 phenotype are increasingly recognized as important inflammatory factors that trigger signaling pathways that further promote inflammatory processes and lead to neurodegeneration. These include the cysteine peptidase cathepsin X, which has already



been recognized as a pathogenic factor in inflammation-induced neurodegeneration, but whose role in the polarization of microglia into a specific phenotype is still unknown. The obtained results suggest that cathepsin X plays an important role in the polarization of microglia into the pro-inflammatory M1 and the anti-inflammatory M2 phenotype and thus represents a potential therapeutic target for the prevention and treatment of neurodegenerative diseases associated with excessive inflammation.

KEY WORDS:

cathepsin X, cathepsin X inhibitor, inflammation, microglia, polarization

1 UVOD

Celice mikroglije so ene izmed najpomembnejših prirojenih celic imunskega sistema in so porazdeljene po celotnih možganih ter so prve v vrsti pri odzivu na patološke poškodbe (1). V zreli obliki pridobijo specifičen razvejan morfološki fenotip, kjer so v tako imenovanem mirujočem stanju (2). Kot take opravljajo številne pomembne naloge v povezavi z ohranjanjem tkivne homeostaze, vključno z odstranjevanjem toksičnih snovi s fagocitozo, imunskim nadzorom in olajšanjem prenosa informacij preko prenašalcev v nevronske sinapsi. Različni fiziološki in patološki dražljaji spodbudijo aktivacijo mikroglije, pri čemer celice mikroglije iz stanja mirovanja polarizirajo v dva fenotipa, fenotip M1 in M2, odvisno od vrste stimulacije (3).

Polarizirana mikroglija fenotipa M1, za katero so značilne ameboidna oblika, visoka mobilnost in močna fagocitna aktivnost, povzroči sproščanje več pro-vnetnih citokinov kot sta tumorje nekrotizirajoči dejavnik α (TNF- α) in interleukin 6 (IL-6) ter reaktivnih kisikovih zvrsti, kemokinov in izražanje inducibilne sintaze dušikovega oksida za nastajanje dušikovega oksida (NO) (4, 5, 6). Na ta način aktivirana mikroglija poskrbi za uničenje patogena in polarizacijo celic T, ki vzpostavijo prilagodljiv imunski sistem (7). Za spodbujanje polarizacije mikroglije v fenotip M1 se tako v pogojih *in vitro* kot tudi *in vivo* uporabljajo različni dražljaji, med drugim interferon γ (IFN- γ) in lipopolisaharid (LPS) (5).

Polarizirana mikroglija fenotipa M2, za katero so značilna tanka in razvejana celična telesa celic mikroglije, pa poveča

izražanje več proti-vnetnih citokinov, med njimi transformirajočega rastnega dejavnika β , interleukinov IL-4 in IL-13, arginaze-1 in membranskega označevalca pripadnosti CD206 (angl. *cluster of differentiation*). S tem izraža svojo vlogo pri alergijskem odzivu, izražanju odstranjevalnih receptorjev (angl. *scavenger receptors*) za fagocitozo, zmanjšanju vnetnih celic, preoblikovanju tkiva in angiogenezi (6, 7). Za spodbujanje polarizacije celic mikroglije v fenotip M2 se uporabljata citokina IL-4 in IL-13. Z nastajanjem proti-vnetnih dejavnikov in z omejevanjem imunskega odziva na patogene mikroglija fenotipa M2 učinkovito zmanjšuje vnetni odziv v centralnem živčnem sistemu ter na ta način prepreči poškodbo tkiva (8, 9).

Nevrovnetje v osnovi predstavlja obrambni mehanizem, ki ščiti možgane pred različnimi dejavniki, kljub temu pa so lahko učinki nevrovnetja na nevrone tako koristni kot tudi škodljivi. Ponavljajoči se vnetni odzivi so škodljivi in vodijo v aktivacijo celic mikroglije v pro-vnetni fenotip M1, pri čemer aktivirana mikroglija predstavlja stalen vir vnetnih citokinov in ostalih vnetnih dejavnikov, ki spodbujajo progresiven propad nevronov, ki vodi v nevrodegenerativna stanja. Poleg omenjenih vnetnih dejavnikov lahko aktivirana mikroglija prekomerno izraža in izloča tudi lizosomske peptidaze, predvsem katepsine, ki so prepoznani kot pomembni patogeni dejavniki vnetnih procesov tekom degenerativnih sprememb v centralnem živčnem sistemu (6).

Lizosomske peptidaze so hidrolitični encimi, ki katalizirajo razgradnjo proteinov. Glede na mesto hidrolize peptidne vezi jih lahko razdelimo na endopeptidaze in eksopeptidaze. Večina jih deluje kot endopeptidaze, ki cepijo peptidne vezi znotraj polipeptidne verige, medtem ko jih le malo deluje kot eksopeptidaze, ki cepijo polipeptidne verige na N- ali C-koncu. Peptidaze glede na katalitično skupino na aktivnem mestu delimo na serinske, cisteinske, aspartatne, glutamatne, asparaginske, treoninske, metalopeptidaze in peptidaze mešanega tipa (6, 10).

Najbolj obsežno skupino lizosomskih peptidaz predstavljajo cisteinske peptidaze, v katero spada 11 katepsinov (katepsini B, C, F, H, K, L, O, S, V, X in W), ki so zelo razširjeni med živimi organizmi. Večina cisteinskih katepsinov (F, K, L, O, S in V) deluje kot endopeptidaze, katepsina C in X delujeta kot eksopeptidazi, medtem ko katepsina B in H izkazujeta tako endopeptidazno kot tudi eksopeptidazno aktivnost. Izražanje cisteinskih katepsinov je odvisno od razporeditve v tkivih in njihove biološke funkcije. Katepsin X deluje kot karboksipeptidaza in se predominantno izraža v imunskih celicah, kot so makrofagi, dendritične celice, limfociti B in naravne celice ubijalke, pokazano pa je bilo tudi njegovo izražanje v mišjih možganskih celicah, predvsem v

nevronih, podvrženih procesu staranja, in celicah mikroglije (6, 10). Višje ravni katepsina X so povezane z različnimi boleznimi, kot so rak, vnetne bolezni, tuberkuloza in z vnetjem povezane nevrodegenerativne spremembe (11). Povišano izražanje katepsina X je bilo pokazano v poškodovanih dopaminergičnih nevronih na celičnem modelu *in vitro* kot tudi *in vivo* na hemiparkinsonskem modelu Parkinsonove bolezni. Hkrati so na vnetnem modelu *in vivo* pokazali povišano izražanje katepsina X v celicah mikroglije na strani lezije v možganih podgan (12, 13, 14). Znatno povečano izločanje katepsina X iz celic mikroglije so opazili kot odgovor na vnetni dražljaj, ki ga povzroči LPS (15, 16). Pomembnost katepsina X pri nevrovnetju je bila nadalje dokazana s pomočjo ireverzibilnega zaviralca katepsina X, AMS36, ki je zavrl sintezo pro-vnetnih molekul in oslabil sproščanje citokinov iz aktivirane mikroglije (16, 17). Kljub temu vloga katepsina X pri nevrovnetju in osnovni mehanizem delovanja do danes ostajata nepojasnjena. Katepsinu X pripisujejo vse pomembnejšo vlogo pri degenerativnih procesih, povezanih z vnetjem, vendar pa njegova natančna vloga pri polarizaciji mikroglije še ni znana.

Namen raziskave je opredeliti raven izražanja in aktivnosti katepsina X v posameznem fenotipu aktivirane mikroglije ter opredeliti njegovo vlogo pri polarizaciji mikroglije v pro-vnetni fenotip M1 oziroma proti-vnetni fenotip M2.

2 METODE

2.1 DELO S CELIČNO LINIJO BV2

Pri eksperimentalnem delu smo uporabljali mišjo adherentno celično linijo BV2 (darilo prof. dr. Biljane Božić Nedeljković, Univerza v Beogradu, Srbija), gojeno v gojišču za celične kulture aDMEM (Gibco, Thermo Fisher Scientific) (angl. *advanced Dulbecco's modified eagle medium*), z izraženimi lastnostmi mikroglije, ki je bila izolirana iz postnatalnih možganov laboratorijskih miši C57BL/6 (18). Celice BV2 smo najprej nacepili na plošče s 6 vdolbinicami z ustrežno gostoto ($2 \times 10^5/1,5$ mL) in jih čez noč inkubirali, da so se pritrdile na podlago. Celice smo naslednji dan stimulirali z reagenti LPS (Sigma-Aldrich) (1 $\mu\text{g/mL}$), IFN- γ (BioLegend) (1 $\mu\text{g/mL}$), IL-4 (BioLegend) (40 ng/mL) in IL-13 (BioLegend) (40 ng/mL) v brez-serumskem gojišču. Za kontrolo smo celice gojili v brez-serumskem gojišču brez dodanih reagentov. V primeru vrednotenja vpliva zaviranja

katepsina X smo celice 1 h pred stimulacijo z reagenti predhodno obdelali z zaviralcem katepsina X AMS36 (10 μM) (Univerza v Ljubljani, Fakulteta za Farmacijo) v brez-serumskem gojišču (12). Kot ustrezno kontrolo zaviralcu smo v enakem deležu uporabili dimetilsulfoksid (Sigma-Aldrich). Po stimulaciji smo celice uporabili za nadaljnje poskuse. Stimulirane celice BV2 smo po 24 h opazovali in slikali z invertnim mikroskopom EVOS XL Core (Olympus) v posameznem vidnem polju pri 20-kratni povečavi. Po opazovanju smo odvzeli supernatante celic mikroglije ter iz njih pripravili celične lizate, ki smo jih uporabili za nadaljnje poskuse. Za določanje koncentracije proteinov v celičnih lizatih smo uporabili metodo DC (angl. *detergent compatible*; združljivo z detergentom), ki temelji na reakciji proteinov z bazično raztopino bakrovega tartrata in s Folinovim reagentom. Najprej pride do reakcije med proteini in bakrom pri bazičnem pH, po kateri sledi redukcija Folinovega reagenta, ki jo povzroči nastala spojina v prvi stopnji. Pride do modrega obarvanja produkta, ki je posledica aminokislin tirozina in triptofana, z absorpcijskim maksimumom pri 750 nm (19). Koncentracijo proteinov v celičnih lizatih smo določili po navodilih proizvajalca kompleta reagentov DC (Bio-Rad), pri čemer smo absorbanco izmerili z avtomatskim čitalcem mikrotitrskih plošč Safire² (Tecan) pri valovni dolžini 750 nm. Koncentracije celokupnih proteinov v vzorcih smo izračunali s pomočjo umeritvene krivulje, ki smo jo izrisali iz izmerjenih povprečnih absorbanc standardov govejega serumskega albumina (BSA) (Sigma-Aldrich).

2.2 VREDNOTENJE POLARIZACIJE CELIC BV2 V FENOTIP M1/M2

Polarizacijo mikroglije v posameznem fenotipu smo preverili z določevanjem označevalca aktivirane mikroglije fenotipa M1 in M2. S testom po Griessu smo določali količino NO v supernatantih stimuliranih celic BV2 posredno preko merjenja nitrita (NO_2^-), ki je značilen za mikroglijo fenotipa M1. Test temelji na reakciji diazotiranja, z uporabo sulfanilamida in N-1-naftiletildiamin dihidroklorida (Promega) v kislih pogojih, pri kateri pride do nastanka obarvane azo spojine, katere absorbanco merimo spektrofotometrično pri valovni dolžini 550 nm (20). Vrednosti NO v supernatantih celic mikroglije smo določili po navodilih proizvajalca (Promega). Koncentracije NO v supernatantih smo izračunali s pomočjo umeritvene krivulje, ki smo jo izrisali iz izmerjenih povprečnih absorbanc standardov.

Za mikroglijo fenotipa M2 je značilna povišana aktivnost encima arginaze-1 v stimuliranih celicah BV2, katero smo določali z uporabo kompleta reagentov za določanje aktivnosti



arginaze (Sigma-Aldrich). Test temelji na reakciji arginaze z argininom, pri čemer nastane sečnina, ki specifično reagira z barvnim reagentom, da nastane obarvan produkt, ki je proporcionalen aktivnosti arginaze (21). Vzorcem, pripravljenih po navodilih proizvajalca kompleta reagentov, smo izmerili absorbanco pri valovni dolžini 430 nm in izračunali aktivnost arginaze po enačbi, podani s strani proizvajalca.

2.3 IZRAŽANJE IN AKTIVNOST KATEPSINA X V STIMULIRANIH CELICAH BV2

Poliakrilamidno gelsko elektroforezo v prisotnosti natrijevega dodecil sulfata smo uporabili za ločbo proteinov pri določanju ravni izražanja katepsina X v stimuliranih celicah BV2. Za detekcijo ločenih proteinov smo uporabili prenos western, pri katerem smo proteine prenesli na nitrocelulozno membrano, ki smo jo nato inkubirali z označenimi protitelesi, specifičnimi za katepsin X. Pri tem smo uporabili dve vrsti protiteles: primarna kozja protitelesa proti katepsinu X (R&D Systems), ki smo jih redčili v razmerju 1 : 100 v 3 % BSA v fosfatnem pufru z natrijevim kloridom (PBS) (Sigma-Aldrich), in sekundarna proti-kozja protitelesa, označena s hrenovo peroksidazo (HRP) (Millipore), ki smo jih redčili v razmerju 1 : 1000 v 3 % BSA v PBS. Z gliceraldehid-3-fosfat dehidrogenazo (GAPDH) smo preverili še enakomernost nanosa vzorcev na gel. Pri tem smo uporabili primarna kunčja protitelesa proti GAPDH (Jackson ImmunoResearch), ki smo jih redčili 10000-krat v 3 % BSA v tris pufru (Riedel-de Haën) z dodanim 0,1 % Tween 20 (Fluka), ter sekundarna proti-kunčja protitelesa, označena s HRP (Millipore), ki smo jih redčili 5000-krat v 5 % mleku (Pomurske mlekarne). Ob dodatku kromogenega substrata je prišlo do nastanka obarvanega kompleksa z encimom, ki smo ga lahko detektirali. Kemiluminescenčni odziv na membrani smo posneli z napravo G-Box, njihovo intenziteto pa smo kvantificirali s pomočjo programske opreme Gene Tools. Rezultate smo normirali na nivo GAPDH in jih prikazali kot relativne vrednosti glede na vzorce ne-stimuliranih kontrolnih celic.

Aktivnost katepsina X v celičnih lizatih smo izmerili z uporabo katepsin X specifičnega fluorogenega substrata Abz-Phe-Glu-Lys(Dnp)-OH (Jiangsu Vcare PharmaTech Co.). Pri tem je prišlo do sprostitve fluorofora, kar smo zaznali kot porast fluorescence, ki smo jo izmerili pri 420 nm v odvisnosti od časa s pomočjo spektrofotometričnega čitalca mikrotitrskih plošč. Rezultate smo podali kot naklon linearnega dela krivulje oziroma fluorescence v odvisnosti od časa.

Izražanje katepsina X v aktivirani mikrogliji in njegovo vezikularno lokalizacijo v lizosomih smo preverili s pomočjo konfokalne mikroskopije. Slednja je mikroskopska tehnika, ki zagotavlja tridimenzionalno optično ločljivost in deluje po principu točkovnega osvetljevanja. Fluorescenčno svetlobo iz posameznih točk vzorca zazna detektor, ki pridobljene informacije s pomočjo računalnika pretvori v sliko ene ravnine celice, iz več ravnin pa lahko pridobimo tridimenzionalno sliko celice (22). Stimulirane celice BV2 smo označili s kozjimi protitelesi proti katepsinu X (redčenje 1 : 100 v 3 % BSA v PBS) (Millipore) in kunčjimi protitelesi proti označevalcu lizosomov membranskemu proteinu 1 (redčenje 1 : 500 v 3 % BSA v PBS) (LAMP1; angl. lysosomal-associated membrane protein 1) (Millipore) ter ustreznimi sekundarnimi oslovskimi protitelesi, konjugiranimi s fluorokromoma AlexaFluor555 in AlexaFluor488 (redčenje 1 : 1000 v 3 % BSA v PBS) (Invitrogen). Slike smo posneli s konfokalnim mikroskopom Carl Zeiss LSM 710 na Inštitutu Jožef Stefan. Za izboljšanje razmerja signal-šum smo uporabili povprečenje signalov, in sicer smo za vsako sliko zajeli 4 zaporedne posnetke. Slike smo analizirali z uporabo programske opreme ZEN 2011.

2.4 STATISTIČNO VREDNOTENJE REZULTATOV

Rezultate smo statistično vrednotili in jih prikazali kot povprečno vrednost neodvisnih bioloških meritev (n) \pm standardna napaka povprečja (SEM). Za analizo več kot dveh vzorcev smo uporabili analizo enosmerne variance (ANOVA). Razlike med dvema vzorcema smo analizirali z uporabo Studentovega t -testa dveh neodvisnih vzorcev z upoštevanjem predpostavke o neenakosti varianc. Če je bila vrednost $P < 0,05$, smo razliko med dvema vzorcema označili kot statistično značilno. Statistično analizo smo izvedli s pomočjo programske opreme Microsoft Excel 365.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Celice mikroglije so rezidenčne imunske celice centralnega živčnega sistema in služijo kot prva obrambna linija, ki zelo hitro zazna patogene, vključno z bakterijami, glivami in virusi (23). Pod takimi pogoji pride do polarizacije mikroglije v fenotip M1 ali M2, pri čemer je potrebno poudariti, da je klasifikacija M1/M2 poenostavitev polarizacije mikroglije,

ki predstavlja ekstremno stanje, in da sta med boleznijo lahko prisotna oba fenotipa, kot tudi vsa vmesna stanja (8, 24). Z raziskavami so pokazali, da polarizirana mikroglija izraža in izloča lizosomske katepsine, med njimi tudi katepsin X, ki je cisteinska peptidaza, kateri pripisujejo patogeno vlogo v nevrodegenerativnih procesih (6). Zaradi slednjega smo želeli opredeliti raven izražanja in aktivnost katepsina X v posameznem fenotipu aktivirane mikroglije ter ovrednotiti njegovo vlogo pri polarizaciji mikroglije v fenotip M1 in M2.

3.1 VREDNOTENJE POLARIZACIJE CELIC BV2 V POSAMEZEN FENOTIP

Vrednotenje vloge katepsina X pri polarizaciji mikroglije smo pričeli s postavitvijo celičnega modela polarizirane mikroglije, pri čemer smo uporabili celično linijo BV2 in stimulantne LPS (1 µg/mL), IFN-γ (1 µg/mL), IL-4 (40 ng/mL) in IL-13 (40 ng/mL) ter ustreznost postavitve modela polarizirane mikroglije v smeri fenotipa M1 oziroma M2 ovrednotili z določanjem ravni pro-vnetnih in proti-vnetnih dejavnikov, ki jih izraža polarizirana mikroglija fenotipa M1 oziroma M2.

Stimulacija celic BV2 z LPS in IFN-γ povzroči spremembo morfologije mikroglije iz okrogle v razvejano obliko, značilno za pro-vnetni fenotip M1, medtem ko pri stimulaciji z IL-4 in IL-13 celice ohranijo ameboidno morfologijo, kar nakazuje na pridobljen proti-vnetni fenotip M2 (slika 1A). Znano je, da je NO dejavnik z mikroglijo posredovane nevrotoksičnosti, pri čemer aktivirana mikroglija spodbuja sočasno nastajanje NO in reaktivnih kisikovih zvrsti, ki pod pro-vnetnimi pogoji povzroči nastanek peroksinitrita, močnega oksidanta, ki povzroči propadanje nevronov (25). V supernatantih stimuliranih celic BV2 z LPS in IFN-γ je prišlo do povišanja koncentracije NO, pri čemer je LPS povzročil znatno večji dvig koncentracije kot IFN-γ. Stimulacija celic z IL-4 in IL-13 na količino NO ni imela vpliva (slika 1B). Arginaza-1 je eden najbolj opredeljenih označevalcev polarizirane mikroglije fenotipa M2, ki pretvarja arginin v ornitin, poliamine in prolin, ki prispevajo k celjenju in preoblikovanju tkiva (8). Ob stimulaciji celic BV2 z IL-4 in IL-13 je prišlo do znatnega povečanja aktivnosti arginaze-1 glede na ne-stimulirane celice, pri čemer med stimulantoma ni prišlo do večjih razlik v aktivnosti (slika 1C). Po drugi strani stimulacija z LPS in IFN-γ na aktivnost arginaze-1 pričakovano ni imela vpliva. Iz rezultatov je torej razvidno, da LPS in IFN-γ spodbujata polarizacijo mikroglije v pro-vnetni fenotip M1, IL-4 in IL-13 pa v proti-vnetni fenotip M2, kar se ujema z rezultati že znanih raziskav (10).

3.2 VREDNOTENJE IZRAŽANJA IN AKTIVNOSTI KATEPSINA X V STIMULIRANIH CELICAH BV2

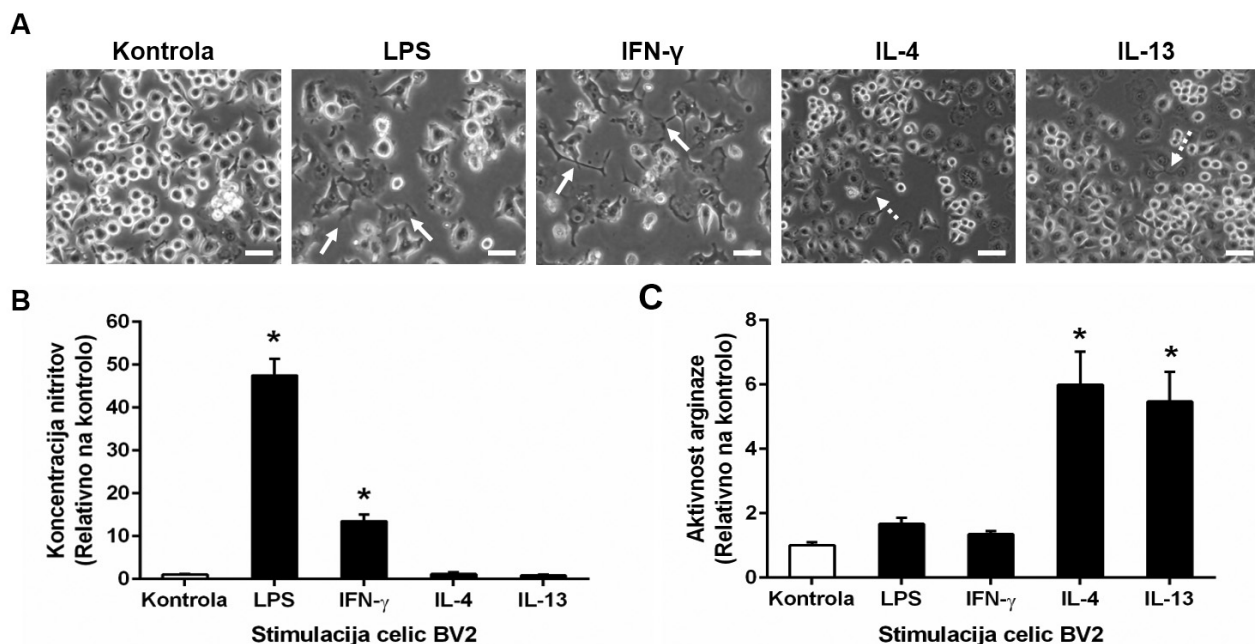
Nadalje smo vrednotili vlogo katepsina X v polarizirani mikrogliji. Z raziskavami so že pokazali, da je katepsin X pomemben dejavnik nevrodegeneracije, za katerega so dokazali, da se izraža in izloča iz aktivirane mikroglije kot odziv na poškodbo nevronov in vnetne dražljaje (26, 27), zato smo v nadaljevanju opredelili izražanje in aktivnost katepsina X v posameznih fenotipih aktivirane mikroglije, fenotipih M1 in M2.

S pomočjo prenosa western smo določili povišano znotrajcelično izražanje katepsina X v celicah BV2, stimuliranih tako z LPS kot IFN-γ (slika 2A), medtem ko stimulacija celic z IL-4 in IL-13 glede na kontrolo ni povzročila sprememb v izražanju katepsina X. Nasprotno se je aktivnost katepsina X po stimulaciji z LPS in IFN-γ zmanjšala, po stimulaciji z IL-4 in IL-13 pa ni prišlo do značilnih sprememb v aktivnosti katepsina X (slika 2B). Povečano znotrajcelično izražanje katepsina X je najverjetneje posledica uporabljenih protiteles proti katepsinu X pri prenosu western, ki prepoznajo vse tri oblike katepsina X: pre-pro-obliko, pro-obliko in zrelo obliko katepsina X. Po drugi strani pa je aktivnost izražena z zrelo obliko, ki se po stimulaciji z LPS in IFN-γ sprošča iz celic mikroglije in posledično privede do zmanjšane aktivnosti katepsina X znotraj celic v primerjavi s stimulacijo z IL-4 in IL-13 (16). Pridobljene rezultate smo želeli še dodatno podkrepiti, zato smo s konfokalnim mikroskopom določili tako izražanje kot tudi vezikularno lokalizacijo katepsina X, pri čemer smo z označevalcem lizosomov LAMP1 opazovali njegovo lokalizacijo v lizosomih (slika 2C). Opazili smo, da se vezikularna lokalizacija katepsina X glede na kontrolo po stimulaciji celic BV2 z IL-4 in IL-13 praktično ne spremeni. Po drugi strani je stimulacija celic z LPS in IFN-γ povzročila zmanjšanje lokalizacije katepsina X v lizosomih, kar potrjuje zgornje rezultate, iz katerih smo predpostavili, da se katepsin X po stimulaciji sprošča iz celic, kar privede do zmanjšanja njegove znotrajcelične aktivnosti.

3.3 VREDNOTENJE VPLIVA ZAVIRALCA KATEPSINA X NA POLARIZACIJO CELIC BV2

Zaradi škodljivega delovanja cisteinskih katepsinov v patoloških procesih nevrodegeneracije, povzročene z nevrovnetjem, predstavljajo zaviralci cisteinskih peptidaz poten-





Slika 1: Vpliv stimulacije celic BV2 na njihovo polarizacijo v fenotip M1 oziroma M2. Celice BV2 smo stimulirali z LPS (1 $\mu\text{g}/\text{mL}$), IFN- γ (1 $\mu\text{g}/\text{mL}$), IL-4 (40 ng/mL) in IL-13 (40 ng/mL) v brez-serumskem gojišču 24 ur. (A) Morfologija celic BV2 po končani stimulaciji. Svetlobni invertni mikroskop pri 20-kratni povečavi. Bele puščice prikazujejo razvejan fenotip M1 (LPS, IFN- γ) in ameboiden fenotip M2 (IL-4, IL-13). Slike so reprezentativne vsaj štirih neodvisnih poskusov ($n \geq 4$). (B) Raven NO v supernantih celic BV2 po končani stimulaciji določena z uporabo testa po Griessu. (C) Znotrajcelična aktivnost arginaze-1 po končani stimulaciji določena z uporabo kompleta reagentov za določanje aktivnosti arginaze. Rezultati so prikazani kot povprečje \pm SEM dveh neodvisnih poskusov ($n = 2$), izvedenih v dveh paralelah, relativno glede na kontrolo. Merilo je 40 μm . * $P < 0,05$.

IFN- γ – interferon gama, IL-4 – interleukin-4, IL-13 – interleukin-13, LPS – lipopolisaharid, NO – dušikov oksid, SEM – standardna napaka povprečja

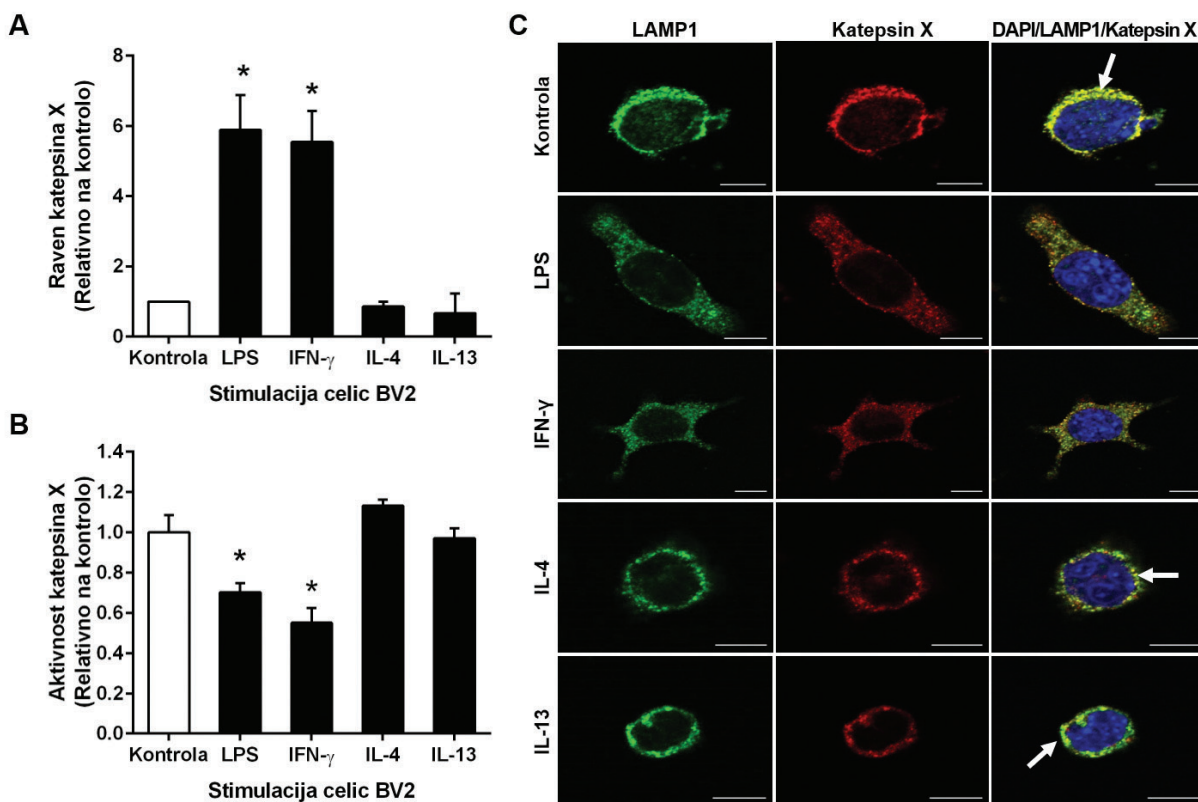
Figure 1: Effect of BV2 cell stimulation on polarization towards M1 and M2 phenotype. BV2 cells were stimulated with LPS (1 $\mu\text{g}/\text{mL}$), IFN- γ (1 $\mu\text{g}/\text{mL}$), IL-4 (40 ng/mL) and IL-13 (40 ng/mL) in serum-free medium 24 h. (A) Morphology of BV2 cells after stimulation. Inverted light microscope at 20x magnification. White arrows show the branched M1 phenotype (LPS, IFN- γ) and the amoeboid M2 phenotype (IL-4, IL-13). Images are selected from at least four independent experiments ($n \geq 4$). (B) NO levels in BV2 cells supernatants after stimulation were determined using the Griess test. (C) Intracellular arginase-1 activity after stimulation was determined using the arginase activity assay kit. Results are shown as mean \pm SEM of two independent experiments ($n = 2$) performed in duplicate, relative to control. Scale bar is 40 μm . * $P < 0.05$.

IFN- γ – interferon gamma, IL-4 – interleukin-4, IL-13 – interleukin-13, LPS – lipopolysaccharide, NO – nitric oxide, SEM – the standard error of the mean

cialno terapevtsko orodje za zaviranje njegove prekomerno proteolitske aktivnosti ter za preprečevanje in zdravljenje nevrodegenerativnih bolezni, ki so povezane s prekomerno aktivacijo mikroglije in posledičnim nevrovnetjem (14, 26). V zadnjem delu raziskovalnega dela smo tako ovrednotili vpliv zaviralca katepsina X AMS36 na polarizacijo mikroglije v posamezen fenotip.

Ob dodatku zaviralca katepsina X AMS36 smo pri stimulaciji celic z LPS in IFN- γ opazili zmanjšano pojavnost razvejane oblike mikroglije v primerjavi s celicami brez prisotnega zaviralca (slika 3A). Po drugi strani prisotnost AMS36

pri stimulaciji z IL-4 in IL-13 ni imela vpliva na spremembo morfologije celic, saj je prevladovala ameboidna oblika mikroglije (slika 3A). Na podlagi pridobljenih rezultatov smo nadalje ovrednotili vpliv AMS36 na označevalca posameznega fenotipa polarizirane mikroglije. Prisotnost zaviralca katepsina X je povzročila znižanje koncentracije NO v supernatantih celic po stimulaciji z LPS in IFN- γ (slika 3B), kar nakazuje na vpliv zaviranja katepsina X na preprečevanje polarizacije v pro-vnetni fenotip M1. Hkrati pa je zaviranje katepsina X dodatno povišalo znotrajcelično aktivnost arginaze-1 po stimulaciji celic z IL-4 in IL-13, pri čemer je

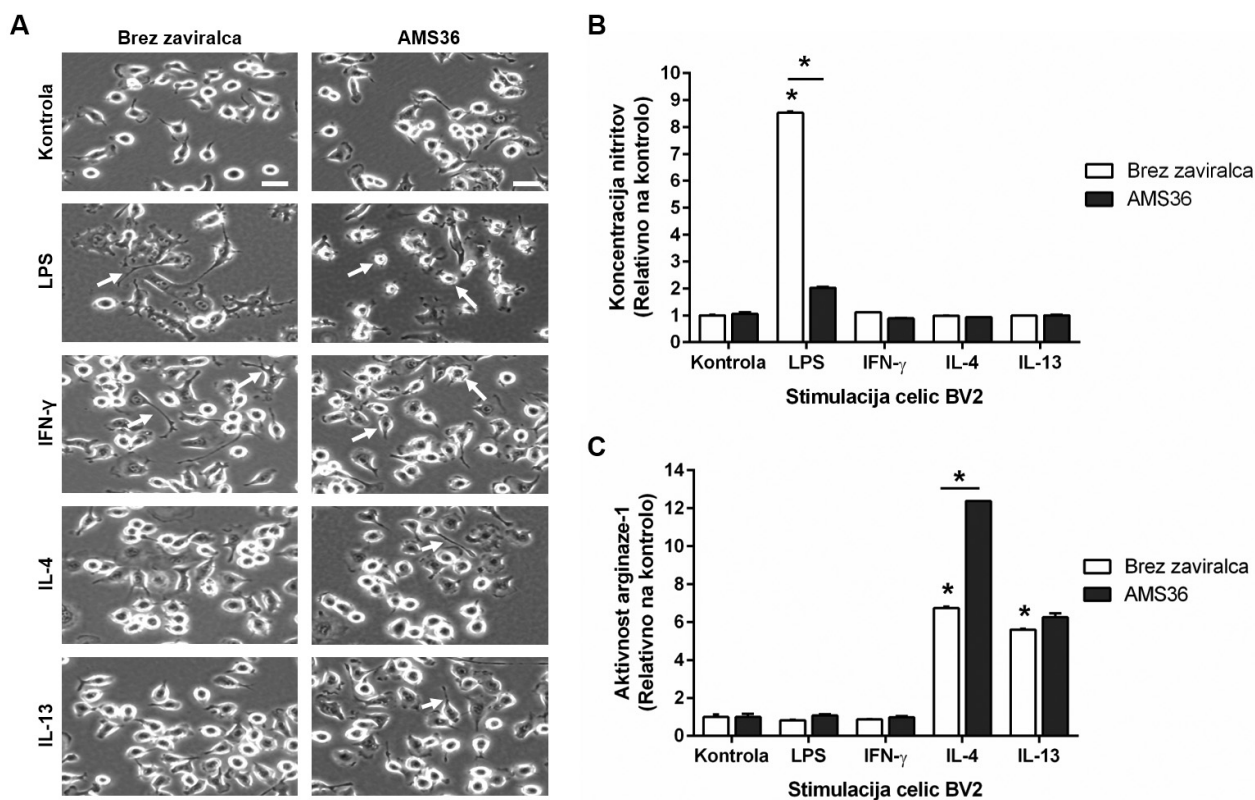


Slika 2: Vpliv stimulacije celic BV2 na izražanje in aktivnost katepsina X. Celice BV2 smo stimulirali z LPS (1 $\mu\text{g}/\text{mL}$), IFN- γ (1 $\mu\text{g}/\text{mL}$), IL-4 (40 ng/mL) in IL-13 (40 ng/mL) v brez-serumskem gojišču 24 h. (A) Raven katepsina X določenega s prenosom western na nitrocelulozno membrano. Uporaba specifičnih protiteles proti katepsinu X ter sekundarnih protiteles, konjugiranih s hrenovo peroksidazo. Rezultati so normirani na raven izražanja GAPDH. (B) Aktivnost katepsina X v celičnih lizatih določena z uporabo specifičnega fluorogenega substrata Abz-Phe-Glu-Lys(Dnp)-OH. Rezultati so prikazani kot povprečje \pm SEM dveh neodvisnih poskusov ($n = 2$), izvedenih v dveh paralelah, relativno glede na kontrolo. Kontrola so celice BV2 gojene v brez-serumskem gojišču brez dodanih reagentov. * $P < 0,05$. (C) Lokalizacija katepsina X v lizosomih stimuliranih celic. Vzorci so imunofluorescenčno označeni z raztopino primarnih protiteles proti LAMP1 (zeleno označeno na sliki) in protiteles proti katepsinu X (rdeče označeno na sliki). Jedra so označena z barvilom DAPI (modro označeno na sliki). Konfokalni mikroskop pri 63-kratni povečavi. Bele puščice prikazujejo lokalizacijo katepsina X v lizosomih. Merilo je 20 μm .

DAPI – diamidino-2-fenilindol, GAPDH – gliceralehid-3-fosfat dehidrogenaza, IFN- γ – interferon gama, IL-4 – interleukin-4, IL-13 – interleukin-13, LAMP1 – z lizosomom povezani membranski protein 1, LPS – lipopolisaharid, SEM – standardna napaka povprečja

Figure 2: Effect of BV2 cell stimulation on the expression and activity of cathepsin X. BV2 cells were stimulated with LPS (1 $\mu\text{g}/\text{mL}$), IFN- γ (1 $\mu\text{g}/\text{mL}$), IL-4 (40 ng/mL) and IL-13 (40 ng/mL) in serum-free medium 24 h. (A) Cathepsin X levels determined by western blotting onto nitrocellulose membranes. Specific antibodies against cathepsin X and secondary antibodies conjugated with horseradish peroxidase were used. The results were normalized to expression level of GAPDH. (B) Cathepsin X activity in cell lysates was determined using the specific fluorogenic substrate Abz-Phe-Glu-Lys(Dnp)-OH after 24-hour stimulation. Results are shown as mean \pm SEM of two independent experiments ($n = 2$) performed in duplicate, relative to control. Control are BV2 cells grown in serum-free medium without added reagents. * $P < 0.05$. (C) Localization of cathepsin X in the lysosomes of stimulated cells. Samples were immunofluorescently labeled with a solution of primary antibodies against LAMP1 (marked in green in the picture) and antibodies against cathepsin X (marked in red in the picture). Nuclei were labeled with DAPI dye (marked in blue in the picture). Confocal microscope at 63x magnification. White arrows show the localization of cathepsin X in lysosomes. Scale bar is 20 μm .

DAPI – 4',6-diamidino-2-phenylindole, GAPDH – glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, IFN- γ – interferon gamma, IL-4 – interleukin-4, IL-13 – interleukin-13, LAMP1 – lysosomal-associated membrane protein 1, LPS – lipopolysaccharide, SEM – the standard error of the mean



Slika 3: Vpliv zaviralca katepsina X na polarizacijo celic BV2. Celice BV2 smo po predhodni obdelavi z AMS36 (10 μ M) stimulirali z LPS (1 μ g/mL), IFN- γ (1 μ g/mL), IL-4 (40 ng/mL) in IL-13 (40 ng/mL) v brez-serumskem gojišču 24 h. Kot ustrezno kontrolno zaviralcu smo uporabili dimetilsulfoksid. (A) Morfologija celic po končani stimulaciji. Svetlobni invertni mikroskop pri 20-kratni povečavi. Bele puščice prikazujejo razvejan fenotip M1 stimuliranih celic z LPS in IFN- γ brez zaviralca (levi stolpec) in ameboiden fenotip oziroma odsotnost razvejanega fenotipa stimuliranih celic z LPS in IFN- γ ob prisotnosti AMS36 (desni stolpec). (B) Raven NO v supernatantih celic BV2 določen z uporabo testa po Griessu. (C) Znotrajcelična aktivnost arginaze-1 po končani stimulaciji določena z uporabo kompleta reagentov za določanje aktivnosti arginaze. Rezultati so prikazani kot povprečje \pm SEM dveh neodvisnih poskusov ($n = 2$) relativno na kontrolo. Merilo je 40 μ m. * $P < 0,05$. IFN- γ – interferon gama, IL-4 – interlevkin-4, IL-13 – interlevkin-13, LPS – lipopolisaharid, NO – dušikov oksid, SEM – standardna napaka povprečja

Figure 3: Effect of cathepsin X inhibitor on BV2 cell polarization. After pre-treatment with AMS36 (10 μ M), BV2 cells were stimulated with LPS (1 μ g/mL), IFN- γ (1 μ g/mL), IL-4 (40 ng/mL) and IL-13 (40 ng/mL) in serum-free medium 24 h. Dimethyl sulfoxide was used as a corresponding inhibitor control. (A) Cell morphology after stimulation. Inverted light microscope at 20x magnification. White arrows show the branching M1 phenotype of cells stimulated with LPS and IFN- γ without the inhibitor (left column) and the amoeboid phenotype or absence of the branching phenotype of cells stimulated with LPS and IFN- γ in the presence of AMS36 (right column). (B) NO levels in BV2 cell supernatants determined using the Griess assay. (C) Intracellular arginase-1 activity after stimulation was determined using the arginase activity kit. Results are shown as mean \pm SEM of two independent experiments ($n = 2$) relative to the control. Scale bar is 40 μ m. * $P < 0.05$. IFN- γ – interferon gamma, IL-4 – interleukin-4, IL-13 – interleukin-13, LPS – lipopolysaccharide, NO – nitric oxide, SEM – the standard error of the mean

bilo to povišanje opaznejše pri stimulaciji celic BV2 z IL-4 (slika 3C). Dobljeni rezultati nakazujejo, da zaviranje katepsina X, poleg preprečevanja polarizacije mikroglije v pro-vnetni fenotip M1, spodbuja polarizacijo mikroglije v

proti-vnetni fenotip M2, kar nakazuje na pomembno vlogo zaviranja katepsina X pri preprečevanju in zdravljenju nevrodegenerativnih bolezni, preko uravnavanja polarizacije mikroglije v fenotip M1 in M2.

4 SKLEP

Raziskave so že pokazale, da samo zaviranje polarizacije mikroglije v pro-vnetni fenotip M1 ni dovolj za učinkovito zdravljenje nevrodegenerativnih boleznih, saj je za slednje hkrati potrebno tudi spodbujanje polarizacije mikroglije v proti-vnetni fenotip M2 (28). Pokazali smo, da ima kathepsin X pomembno vlogo pri polarizaciji celic mikroglije v fenotip M1 oziroma M2, pri čemer zaviranje kathepsina X zavira polarizacijo mikroglije v fenotip M1, hkrati pa nakazuje na spodbujanje polarizacije mikroglije v fenotip M2, kar bi pomembno doprineslo k preprečevanju progresije nevrodegenerativnih boleznih. Na podlagi teh spoznanj bi bil razvoj spojin, ki bi z zaviranjem kathepsina X uravnale premik polarizacije aktivacije mikroglije v oba fenotipa, M1 in M2, pomemben za preprečevanje in zdravljenje nevrodegenerativnih boleznih, ki so povezane z vnetnimi procesi, za katere je odgovorna tudi aktivirana mikroglija. Rezultati raziskave predstavljajo podlago za nadaljnje raziskave, ki bi vrednotile vpliv zaviranja kathepsina X na uravnavanje polarizacije mikroglije M1 in M2 ter posledično zaščitno vlogo zaviranja cisteinske peptidaze kathepsina X pri nevrodegenerativnih boleznih.

5 LITERATURA

1. Kwon HS, Koh SH. *Neuroinflammation in neurodegenerative disorders: the roles of microglia and astrocytes*. 2020;9.
2. Kettenmann H, Hanisch UK, Noda M, Verkhratsky A. *Physiology of Microglia*. 2011;461–553.
3. Lowry JR, Klegeris A. *Emerging roles of microglial cathepsins in neurodegenerative disease*. *Brain Res Bull*. 2018;139:144–56.
4. Jurga MA, Paleczna M, Kuter Z K. *Overview of General and Discriminating Markers of Differential Microglia Phenotypes*. 2020;14.
5. Moehle MS, West AB. *M1 and M2 Immune Activation in Parkinson's Disease: Foe and Ally?* *Neuroscience*. 2014;59–73.
6. Pišlar A, Bolčina L, Kos J. *New insights into the role of cysteine cathepsins in neuroinflammation*. *Biomolecules*. MDPI. 2021.
7. Orihuela R, McPherson CA, Harry GJ. *Microglial M1/M2 polarization and metabolic states*. *Br J Pharmacol*. 2016;665.
8. Cherry JD, Olschowka JA, Kerry O'banion M. *Neuroinflammation and M2 microglia: the good, the bad, and the inflamed*. *J Neuroinflammation*. 2014;11(98).
9. Tsai CF, Chen GW, Chen YC, Shen CK, Lu DY, Yang LY, idr. *Regulatory effects of quercetin on M1/M2 macrophage polarization and oxidative/antioxidative balance*. *Nutrients*. 2022;14(1).
10. Hergouth L. *Nivo izražanja in aktivnosti cisteinskih kathepsinov S in X na vnetnem modelu nevrodegeneracije*. Magistrska naloga; Ljubljana, 2022.
11. Kos J, Vižin T, Fonovi UP, Pišlar A. *Intracellular signaling by cathepsin X: Molecular mechanisms and diagnostic and therapeutic opportunities in cancer*. *Semin Cancer Biol*. 2015;31:76–83.
12. Pišlar AH, Zidar N, Kikelj D, Kos J. *Cathepsin X promotes 6-hydroxydopamine-induced apoptosis of PC12 and SH-SY5Y cells*. *Neuropharmacology*. 2014;82:121–31.
13. Pišlar A, Tratnjek L, Glavan G, Živin M, Kos J. *Upregulation of cysteine protease cathepsin X in the 6-hydroxydopamine model of parkinson's disease*. *Front Mol Neurosci*. 2018;11.
14. Pišlar A, Tratnjek L, Glavan G, Zidar N, Živin M, Kos J. *Neuroinflammation-Induced Upregulation of Glial Cathepsin X Expression and Activity in vivo*. *Front Mol Neurosci*. 2020;13.
15. Wendt W, Schulten R, Stichel CC, Lübber H. *Intra- versus extracellular effects of microglia-derived cysteine proteases in a conditioned medium transfer model*. *J Neurochem*. 2009;110(6):1931–41.
16. Pišlar A, Božič B, Zidar N, Kos J. *Inhibition of cathepsin X reduces the strength of microglial-mediated neuroinflammation*. *Neuropharmacology*. 2017;114:88–100.
17. Pišlar A, Biljana NB, Perić M, Jakoš T, Nace Zidar -, Kos J, idr. *Cysteine Peptidase Cathepsin X as a Therapeutic Target for Simultaneous TLR3/4-mediated Microglia Activation*. *Mol Neurobiol*. 2022;2258–76.
18. C8-B4 | ATCC. [cited 2021 Dec 3]. Available from: <https://www.atcc.org/products/crl-2540#detailed-product-information>
19. DC Protein Assay | Bio-Rad Laboratories. [cited 2021 Dec 29]. Available from: <https://www.bio-rad.com/en-si/product/dc-protein-assay?ID=22faf97a-6b8d-4763-8b97-3dc530dcab66>
20. Griess Reagent System. [cited 2021 Dec 4]. Available from: https://worldwide.promega.com/-/media/files/resources/protocols/technical-bulletins/0/griess-reagent-system-protocol.pdf?rev=8b478e337acd43be863d7787c80ea1c6&sc_lang=en
21. *Arginase Activity Assay Kit Catalog Number MAK112*. Sigma Aldrich. 2020.
22. Mueller M. *Introduction to Confocal Fluorescence Microscopy*. 2. izd. Washington: SPIE publications; 2005. 1–82.
23. Lyu J, Xie D, Bhatia TN, Leak RK, Hu X, Jiang X, idr. *Microglial/Macrophage polarization and function in brain injury and repair after stroke*. *CNS Neurosci Ther*. 2021;27:515–27.
24. Goldmann T, Prinz M. *Role of microglia in CNS autoimmunity*. *Clin Dev Immunol*. 2013;2013.
25. Sierra A, Navascués J, Cuadros MA, Calvente R, Martín-Oliva D. *Expression of Inducible Nitric Oxide Synthase (iNOS) in Microglia of the Developing Quail Retina*. *PLoS One*. 2014;9(8):106048.
26. Pišlar A, Božič B, Zidar N, Kos J. *Inhibition of cathepsin X reduces the strength of microglial-mediated neuroinflammation*. *Neuropharmacology*. 2017;114:88–100.
27. Wendt W, Schulten R, Stichel CC, Lübber H. *Intra- versus extracellular effects of microglia-derived cysteine proteases in a conditioned medium transfer model*. *J Neurochem*. 2009;110(6):1931–41.
28. Yang Z, Liu B, Yang L en, Zhang C. *Platycodigenin as Potential Drug Candidate for Alzheimer's Disease via Modulating Microglial Polarization and Neurite Regeneration*. *Molecules*. 2019;24(18).

UGOVOR VESTI PRI LEKARNIŠKIH FARMACEVTIH: STALIŠČA SLOVENSKE SPLOŠNE POPULACIJE

CONSCIENTIOUS OBJECTION AMONG COMMUNITY PHARMACISTS: ATTITUDES OF THE SLOVENIAN GENERAL POPULATION

AVTORJA / AUTHORS:

asist. dr. Ana Kodrič, mag. farm.

doc. dr. Nejc Horvat, mag. farm.

*Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,
Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana*

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: nejc.horvat@ffa.uni-lj.si



POVZETEK

Uveljavljanje ugovora vesti se nanaša na farmacevte, ki zavračajo izdajo zdravil na podlagi moralnih ali verskih prepričanj, kar generira etične dileme zaradi kolizije farmacevtovega osebnega prepričanja s pravicami pacientov. V raziskavi smo želeli osvetliti stališča slovenske splošne populacije glede te pravice lekarniških farmacevtov. Na podlagi sistematičnega pregleda literature smo pripravili vprašalnik in izvedli spletno anketo na vzorcu slovenske splošne populacije. Predvidevanja, da je lekarniških farmacevtov z ugovorom vesti zelo malo, so se potrdila z redkimi izkušnjami pacientov. Večina anketirancev je v okviru raziskave za ugovor vesti farmacevtov slišala prvič, a jih je 65 % izražalo pozitiven odnos do omogočanja uveljavljanja ugovora vesti lekarniškim farmacevtom, v večji meri so v splošnem ugovoru vesti naklonjeni nižje izobraženi in verniki. Hkrati je večina anketirancev pričakovala zagotovljeno izdajo zdravil, bodisi s strani farmacevta z ugovorom vesti, pri čemer bi prevladala pravica pacienta nad prepričanji farmacevta, ali drugega farmacevta v lekarni.

KLJUČNE BESEDE:

lekarniški farmacevti, spletna anketa, splošna populacija, ugovor vesti

ABSTRACT

The exercise of conscientious objection applies to pharmacists who refuse to dispense medications based on moral or religious beliefs, creating ethical dilemmas due to the conflict between the pharmacist's personal convictions and patients' rights. This study aimed to explore the attitudes of the Slovenian general population regarding this right among community pharmacists. A questionnaire was developed based on a systematic literature review, and an online survey was conducted on a sample of the Slovenian general population. The assumption that very few community pharmacists invoke conscientious objection was confirmed by the rare experiences reported by patients. Most respondents had heard about conscientious objection among pharmacists for the first time in this study, yet 65% supported allowing pharmacists to exercise this right. Support was higher among religious and less-edu-

cated individuals. However, most respondents expected guaranteed medication access, either from the objecting pharmacist, prioritizing patient rights, or from another pharmacist within the pharmacy.

KEY WORDS:

community pharmacists, conscientious objection, general population, online survey

1 UVOD

Svoboda izražanja misli in govora, opredeljena v 46. členu Ustave Republike Slovenije, predstavlja temelj za pravico do ugovora vesti. Ustava navaja, da je ugovor vesti dopusten v primerih, ki jih določi zakon, če se s tem ne omejujejo pravice in svoboščine drugih oseb (1). Zakon o zdravniški službi v 49. členu določa, da lahko zdravnik odkloni zdravniški poseg, če presodi, da ni v skladu z njegovo vestjo in če ne gre za nujno zdravniško pomoč (2). Pravno podlago za ugovor vesti pri zdravstvenih delavcih najdemo tudi v Zakonu o zdravstveni dejavnosti, ki v 56. členu določa, da zdravstveni delavec lahko zavrne izvedbo posega, ki nasprotuje njegovi vesti in etičnim smernicam, ne sme pa odkloniti nujne medicinske pomoči (3). Kodeks lekarniške deontologije pa navaja, da je farmacevtski strokovni delavec za svoje delo odgovoren pred svojo vestjo, pacientom in družbo (4). Pri lekarniških farmacevtskih se pravica do ugovora vesti uveljavlja v primerih, ko farmacevt nasprotuje izdaji zdravil, ki so po njegovem mnenju v nasprotju z njegovimi moralnimi ali verskimi prepričanji. V slovenskem prostoru je bil konec leta 2024 v medijih posebej odmeven primer zavrnitve izdaje peroralne kontracepcije iz naslova ugovora vesti lekarniškega farmacevta. Omenjeni dogodek je odprl široko razpravo o zagotavljanju pravice do uveljavljanja ugovora vesti farmacevtov v lekarnah. Temu je sledila sprememba Zakona o lekarniški dejavnosti (ZLD-1), s katero je zakonodajalec zagotovil določnost pravne ureditve in predvidljivost ravnanja tako za paciente kot za farmacevtske strokovne delavce. Nova zakonodaja prinaša absolutno prepoved ugovora vesti ter prioritizacijo pacientovih pravic (5, 6). Lekarniške farmacevte tako postavlja v neenak položaj v primerjavi z ostalimi zdravstvenimi delavci, za katere bo še naprej veljala ureditev uresničevanja pravice do ugovora vesti. Ob času objave članka je v teku ustavna presoja določbe 21.a člena Zakona o lekarniški dejavnosti,

ki farmacevtom v lekarnah onemogoča uveljavljanje ugovora vesti. Zahtevo za oceno ustavnosti je 25. aprila 2025 na Ustavno sodišče vložil Sindikat farmacevtov Slovenije. Sočasno poteka tudi zakonodajni postopek za sprejetje zakona o pomoči pri prostovoljnem končanju življenja, pri čemer še ni jasno, ali bo morebitna omejitev ugovora vesti veljala tudi za farmacevte pri pripravi učinkovin, predvidenih za izvajanje tega zakona (7).

V zdravstvu najpogosteje prihaja do konflikta med pravico zdravstvenega delavca do zavrnitve medicinskega posega, npr. izdaje zdravila, na podlagi ugovora vesti ter pravico pacienta do zdravstvene oskrbe in zagotavljanja dostopa do zdravil. Takšni primeri povzročajo trk temeljnih etičnih načel in privedejo do nastanka etičnih dilem (8). V literaturi najdemo številne razloge, ki podpirajo ali nasprotujejo možnosti uveljavljanja ugovora vesti s strani farmacevtov. Med argumenti, ki podpirajo pravico lekarniških farmacevtov do uveljavljanja ugovora vesti, so:

- farmacevtom je treba omogočiti, da živijo skladno s svojimi moralnimi in verskimi prepričanji, saj to preprečuje njihovo duševno stisko,
- farmacevti so zgolj ljudje in ne morejo vedno delovati popolnoma v skladu z zakonom oz. željami strank,
- strokovno izvajanje izdaje zdravil zajema tudi preverjanje varnosti uporabe predpisanih kombinacij zdravil, poučitev o ustreznih uporabi zdravila in zavrnitev neprimernih zdravil po osebni presoji in
- priznavanje pravice do ugovora vesti bi pripomoglo k dvigu profesionalnega statusa lekarniškega farmacevta na nivo zdravnikov (9–14).

Po drugi strani pa obstajajo argumenti proti ugovoru vesti pri lekarniških farmacevtskih:

- ugovor vesti farmacevtov ovira dostop pacientov do zdravstvenih storitev (predvsem kontracepcije),
- lekarniški farmacevti ne predpisujejo terapije, ampak samo izvajajo nadzor nad izdajo zdravil,
- lekarniški farmacevti ne morejo sprejemati klinično zanesljivih etičnih odločitev, saj nimajo vpogleda v pacientovo zdravstveno kartoteko (npr. peroralna kontracepcija se lahko uporablja tudi za zdravljenje endometriozе) in
- napačno razumevanje mehanizma delovanja določenih zdravil (npr. peroralna kontracepcija lahko vpliva na sluznico, da postane neprimerna za ugnezdenje, kar se po mnenju zagovornikov splava ne šteje za abortivno dejanje) (9–14).

Tematika ugovora vesti je v slovenskem prostoru in tujini razmeroma neraziskana, še posebej pa primanjkuje študij, ki bi osvetlile pogled splošne populacije na to vprašanje. Vprašanje ugovora vesti lekarniških farmacevtov je bilo



vedno aktualno, vendar pa je ta tematika v luči novele ZLD-1D še posebej aktualna, saj se pojavljajo dileme glede ravnovesja med osebnimi prepričanji posameznikov in njihovimi poklicnimi obveznostmi zagotavljanja oskrbe. Medtem ko nekateri menijo, da so lekarniški farmacevti dolžni zagotoviti dostop do vseh zakonitih in predpisanih zdravil ter storitev, drugi zagovarjajo pravico lekarniških farmacevtov, da na podlagi svojih osebnih prepričanj in vrednot zavrnejo izvedbo določenih storitev z uveljavljanjem ugovora vesti. Namen raziskave je zato osvetliti pogled slovenske splošne populacije na uveljavljanje pravice ugovora vesti pri lekarniških farmacevtih.

2 METODE

2.1 ANKETA NA VZORCU SPLOŠNE POPULACIJE

Pogled splošne populacije na uveljavljanje ugovora vesti pri lekarniških farmacevtih smo raziskali s pomočjo vprašalnika. Vsebinsko veljavnost vprašalnika smo zagotovili s sistematičnim pregledom literature. Izvedli smo ga v podatkovni bazi PubMed z iskalnim nizom »(conscientious OR conscience OR consciousness OR conscientiousness) AND pharmacist AND patient«. Čeprav se noben od 101 najdenega članka ni neposredno osredotočal na pogled splošne populacije na ugovor vesti lekarniških farmacevtov, smo podrobneje preučili 28 člankov, ki so širše obravnavali področje ugovora vesti ali vključevali perspektivo pacientov. Ti so nam omogočili oblikovanje vsebinsko relevantnih vprašanj. Odgovori nanje bi lahko v prihodnosti prispevali k vzpostavitvi jasnejših pravnih okvirjev za uveljavljanje ugovora vesti pri lekarniških farmacevtih ter k oblikovanju lekarniške prakse, ki bi uravnoteženo upoštevala pravice in poklicne odgovornosti lekarniških farmacevtov ter potrebe in pričakovanja pacientov. Vprašalnik smo razdelili na štiri vsebinske sklope: (a) splošni pogled na ugovor vesti, (b) zakonodajni vidiki uveljavljanja ugovora vesti, (c) izkušnje z ugovorom vesti in (d) sociodemografske značilnosti. Anketiranci so na mnenjska vprašanja odgovarjali na 4-stopenjski Likertovi lestvici strinjanja s trditvijo (1 – Se ne strinjam, 2 – Delno se ne strinjam, 3 – Delno se strinjam, 4 – Se strinjam). Zaradi občutljive tematike smo pri vsakem vprašanju dodali možnost, da anketiranci ne odgovorijo. S pilotnim testiranjem, v katerega smo vključili 16 priložnostno

izbranih posameznikov, smo ovrednotili ustreznost vsebine vprašalnika, njegovo razumljivost in časovni okvir reševanja. Na podlagi izsledkov pilotnega testiranja smo sklopu vprašanj, vezanem na pravne vidike ugovora vesti, dodali pojasnila in vprašanja preoblikovali tako, da niso bila preveč strokovna.

Raziskava je bila izvedena na naključno izbranem vzorcu polnoletnih prebivalcev Republike Slovenije, pri čemer smo prostovoljce pridobili v sodelovanju z agencijo Valicon, ki se ukvarja z raziskovanjem javnega mnenja in ima aktivno bazo uporabnikov spletnih panelov za izpolnjevanje anket. Raziskave so se anketiranci udeležili prostovoljno, kar so izrazili z Izjavo o zavestni in svobodni privolitvi, hkrati pa so imeli možnost kadarkoli odkloniti sodelovanje. Pri izvedbi ankete smo zagotovili anonimnost anketirancev. Podatki so bili zbrani anonimno v centralni bazi družbe Valicon. Ta pri zbiranju in obdelavi podatkov dosledno spoštuje načela varovanja zasebnosti, kot ju opredeljujeta kodeksa ESOMAR in AAPOR. V skladu s temi smernicami so vsi podatki anketirancev anonimizirani na način, ki onemogoča neposredno ali posredno identifikacijo posameznikov. Vse spremenljivke oziroma podatkovna polja, ki bi lahko razkrivala identiteto anketirancev, so iz podatkovnih zbirk in poročil odstranjene, odgovori pa so fizično ločeni od morebitnih identifikacijskih podatkov. Pridobili smo tudi soglasje o etični sprejemljivosti raziskave s strani Komisije za medicinsko etiko (št. sklepa 0120-403/2023/6).

Velikost vzorca smo določili na podlagi predhodnih študij s področja ugovora vesti in predvidene statistične analize. Pri tem smo upoštevali število neodvisnih spremenljivk v binarni logistični regresiji, ki jih je bilo šest, skupaj s slamatimi spremenljivkami približno 30. Na podlagi priporočila o vsaj desetih enotah na spremenljivko, smo določili ciljno velikost vzorca na 300 izpolnjenih vprašalnikov (15). Vprašalnik in spremno pismo smo poslali spletnemu panelu v elektronski obliki. Anketiranje je potekalo 6 dni (december 2023), pridobili smo 303 izpolnjene vprašalnike.

2.2 STATISTIČNA ANALIZA

Sociodemografske podatke (starost, spol, veroizpoved, dokončana izobrazba) ter odgovore na posamezna vprašanja smo analizirali z metodami opisne statistike (frekvence oz. povprečje in standardni odklon). S testom χ^2 smo ugotavljali, ali starejši v primerjavi z mlajšimi in bolj izobraženi v primerjavi z manj izobraženimi v večji meri podpirajo ugovor vesti farmacevtov pri izdaji pripravkov za prostovoljno končanje življenja, ali bolj izobraženi v večji meri pričakujejo izdajo zdravila v nujnih primerih kljub ugovoru vesti farma-

cevtu in ali bi se verniki v primeru zavrnitve izdaje zdravila zaradi uveljavljanja ugovora vesti farmacevta redkeje pisno pritožili in/ali pravno ukrepali kot ateisti. Z binarno logistično regresijo smo ugotavljali, katere sociodemografske značilnosti pacientov napovedujejo strinjanje z ugovorom vesti lekarniških farmacevtov. V ta namen smo odgovora »Se ne strinjam« in »Delno se ne strinjam« združili v eno kategorijo, odgovora »Delno se strinjam« in »Se strinjam« pa v drugo kategorijo. Analize smo izvedli v programu IBM SPSS Statistics v29.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

V raziskavi so sodelovali 303 anketiranci, stari med 18 in 75 let (povprečje 47 let, st. odklon 14,5), med katerimi je bilo 52 % žensk. Slaba polovica (45 %) anketirancev je imela srednješolsko izobrazbo, več kot polovica anketirancev je bila pripadnikov ene izmed religij, najpogosteje katoliške (58 %). Sociodemografske značilnosti anketirancev prikazuje preglednica 1.

Preglednica 1: Sociodemografske značilnosti anketirancev.

Table 1: Sociodemographic characteristics of the respondents.

Sociodemografska značilnost	Kategorije	Delež oseb
Spol (N=303)	Ženske	48,5 %
	Moški	51,5 %
Starost (v letih) (N=303)	18–29	15,5 %
	30–44	29,7 %
	45–59	31,4 %
	60–75	23,4 %
Izobrazba (N=301)	Osnovna šola oz. nedokončana osnovna šola	2,7 %
	Gimnazija, srednja ali poklicna šola	45,2 %
	Višja ali visokošolska izobrazba	20,3 %
	Univerzitetna izobrazba ali višje	31,9 %
Veroizpoved (N=292)	Katoliška	57,9 %
	Protestantska	1,0 %
	Pravoslavna	1,4 %
	Islamska	0,7 %
	Nisem pripadnik nobene veroizpovedi	38,7 %
	Drugo	0,3 %

3.1 SEZNANJENOST IN IZKUŠNJE Z UVELJAVLJANJEM UGOVORA VESTI LEKARNIŠKIH FARMACEVTOV

Seznanjenost z uveljavljanjem ugovora vesti lekarniških farmacevtov, ki je bilo v času raziskave še možno, je bila med splošno populacijo nizka, saj je 82 % anketirancev v okviru raziskave za ugovor vesti farmacevtov slišalo prvič. Raziskave kažejo, da so zavrnitve izdaje zdravil zaradi etičnih zadržkov redke (9, 16–18), kar kažejo tudi rezultati naše raziskave. O izkušnji z zavrnitvijo izdaje zdravila je poročalo 9 anketirancev, vendar predvidevamo, da je bil zaradi neustreznega razumevanja ugovor vesti razlog za zavrnitev izdaje le v treh primerih, medtem ko je v ostalih primerih šlo za strokovno presojo lekarniškega farmacevta ali nerazpoložljivost zdravila.

3.2 POGLED SPLOŠNE POPULACIJE NA UGOVOR VESTI LEKARNIŠKIH FARMACEVTOV

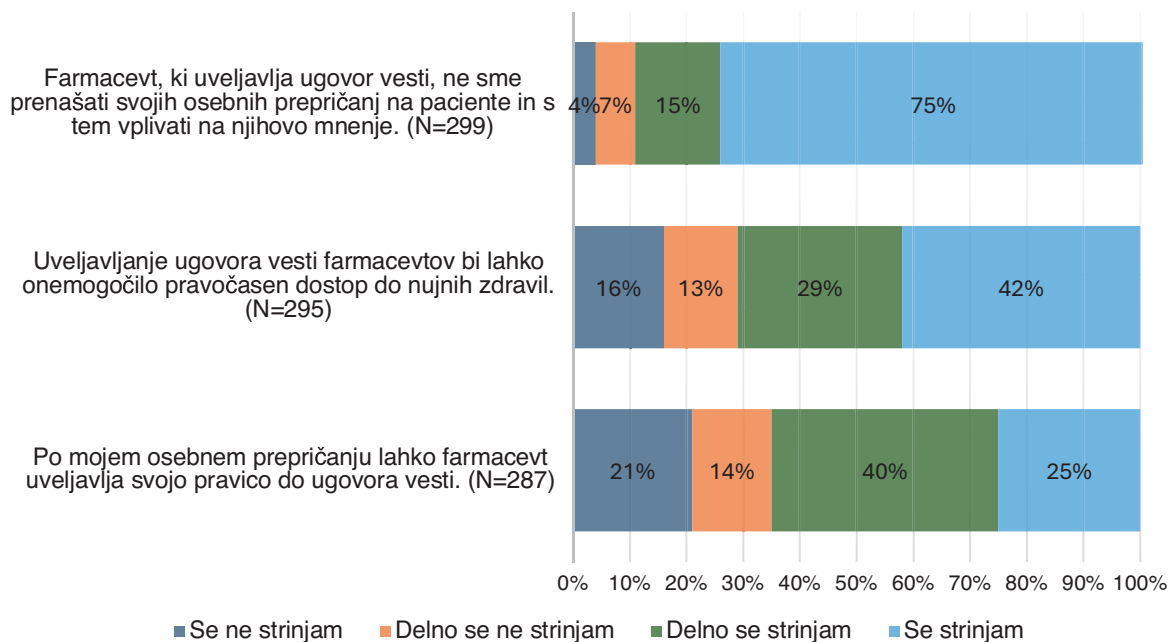
Približno dve tretjini anketirancev (65 %) ima pozitiven odnos do omogočanja uveljavljanja ugovora vesti lekar-



niškim farmacevtom (slika 1). Rezultati logistične regresije (model statistično značilen: $p = 0,025$; Nagelkerke $R^2 = 0,07$) so pokazali, da spol in starost nimata značilnega vpliva na sprejemanje ugovora vesti, medtem ko so imeli približno dvakrat večje obete za naklonjenost ugovoru vesti lekarniških farmacevtov manj izobraženi anketiranci ($OR=1,783$; 95-% interval zaupanja: 1,022–3,109; $p = 0,042$) in pripadniki katere izmed veroizpovedi ($OR=2,185$; 95-% interval zaupanja: 1,310–3,644; $p = 0,03$). Religioznost se v literaturi pogosto omenja kot dejavnik, ki vpliva na odnos posameznikov do moralno občutljivih vprašanj, vendar raziskav, ki bi neposredno preučevale povezavo med religioznostjo laikov in sprejemanjem ugovora vesti pri farmacevtih, do zdaj ni bilo. Naša študija je prva, ki se izrecno posveča temu vprašanju. Rezultati kažejo, da bolj verni posamezniki pogosteje izražajo podporo pravici farmacevtov do ugovora vesti. Eden od možnih razlogov za to bi lahko bil, da religiozne tradicije pogosto poudarjajo pomembnost delovanja v skladu z vestjo, kar lahko oblikuje tudi stališča vernikov do pravice drugih, da ravnajo po lastnih moralnih prepričanjih. Raziskav, ki bi sistematično preučevale razloge za takšna stališča med laiki, ni. So pa podobni vzorci bolj raziskani med zdravstvenimi delavci, kjer številne študije kažejo, da zdravniki, farmacevti in medicinske sestre z močnejšo religiozno identiteto pogosteje podpirajo ali uveljavljajo ugovor vesti, predvsem pri zdravstvenih storitvah, ki vključujejo umetno prekinitve nosečnosti, kontracepcijo in oploditev z biomedicinsko pomočjo (17, 19, 20). Pomembno ugotovitev naše raziskave predstavlja tudi povezava med izobrazbo anketirancev in odnosom do ugovora vesti pri farmacevtih. Manj izobraženi anketiranci so imeli približno dvakrat večje obete za podporo pravici lekarniških farmacevtov do ugovora vesti kot tisti z višjo izobrazbo. Eden od možnih razlogov za to je, da je nižja izobrazba pogosto povezana z višjo stopnjo religioznosti (21), slednjo pa smo v naši študiji identificirali kot pomemben napovedni dejavnik za podporo ugovoru vesti. Ker so bolj verni posamezniki – tako med laično populacijo kot med zdravstvenimi delavci (22) – pogosteje naklonjeni uveljavljanju ugovora vesti in ker hkrati pogosteje živijo na podeželskih območjih (23), kjer je dostopnost do lekarn pogosto omejena v primerjavi z urbanim okoljem, lahko to v praksi na teh območjih dodatno oteži dostop do določenih zdravil ali storitev. V primerih, ko uporabniki nimajo realne možnosti obiska druge lekarne, se pojavijo vprašanja o zagotavljanju enakovredne in nemotene oskrbe, kar nakazuje potrebo po premisleku o ustreznih regulativnih in organizacijskih me-

hanizmih v takih okoljih. Kljub precej razširjeni naklonjenosti do možnosti uveljavljanja ugovora vesti lekarniških farmacevtov odgovori anketirancev nakazujejo na sprejemanje ugovora vesti, če imajo zagotovljeno pravočasno izdajo zdravila (sliki 1 in 4). Skrb, da bi uveljavljanje ugovora vesti lekarniških farmacevtov lahko onemogočilo pravočasen dostop do zdravil, je izrazila večina (71 %) anketirancev, še več pa jih meni, da farmacevti ne smejo prenašati svojih osebnih pogledov na paciente in s tem vplivati nanje (90 %). V raziskavi so se na nekaterih mestih pojavila navidezna protislovja med izraženimi stališči anketirancev – denimo hkratna podpora pravici do ugovora vesti in pričakovanje, da bo zdravilo vselej izdano. Do omenjenega neskladja prihaja zaradi prepletanja osebnih pričakovanj oz. spoštovanja osebnih vrednot in družbenih pričakovanj, kot sta dostopnost zdravstvenih storitev in profesionalnost zdravstvenih delavcev. Možno je, da anketiranci izražajo načelno podporo ugovoru vesti, hkrati pa pričakujejo, da bo sistem zagotovil nemoteno preskrbo z zdravili. Rezultati tako nakazujejo na potrebo – v primeru, da bi bila pravica do uveljavljanja ugovora vesti lekarniških farmacevtov spet formalno uvedena – po jasnejši zakonski ureditvi ugovora vesti lekarniških farmacevtov in rešitvah, ki bi omogočile učinkovito usklajevanje teh pričakovanj ter preprečile morebitne konflikte v praksi. Možne rešitve, ki izhajajo iz pričakovanj splošne populacije, vključujejo laikom dostopno bazo podatkov o lekarniških farmacevtih z ugovorom vesti in njihovo mesto zaposlitve ter zagotavljanje neprekinjenega dostopa do zdravil s sistemsko organizacijo dela, ki bi zagotavljala stalno prisotnost vsaj enega farmacevta brez ugovora vesti v vsaki lekarni.

V literaturi se pojavljajo razprave o tem, ali naj stroka omogoči zavrnitev izdaje katerega koli zdravila iz verskih oz. moralnih razlogov ali le v specifičnih, vnaprej določenih primerih, opredeljenih glede na vrste zdravil ali razloge za zavrnitev izdaje (9, 10). Le 16 % anketirancev meni, da bi lekarniškim farmacevtom moralo biti omogočeno uveljavljanje ugovora vesti v vseh primerih, ne glede na vrsto zdravila, ki je predmet izdaje. Najmanj anketirancem se zdi dopustno uveljavljanje ugovora vesti v primeru izdaje zdravil za zdravljenje kroničnih bolezni, antibiotikov, zdravil za zdravljenje duševnih motenj, protibolečinskih zdravil ter različnih oblik kontracepcije (slika 2). Pri slednji je zaradi najpogostejšega uveljavljanja ugovora vesti lekarniških farmacevtov najverjetnejši trk pravice pacientov do dostopa do zdravil ter pravice farmacevtov do uveljavljanja ugovora vesti (22). V literaturi najdemo tudi podatke o uveljavljanju ugovora vesti pri izdaji antidepressivov, psihotropnih in protibolečinskih



Slika 1: Pogled splošne populacije na ugovor vesti farmacevtov.
 Figure 1: The general population's view on pharmacists' conscientious objection.

zdravil ter zdravil za HIV-pozitivne bolnike in zdravil za zdravljenje erektilne disfunkcije (9, 11, 16, 17, 24). Anketiranci so izkazali največje razumevanje pri možnosti uveljavljanja ugovora vesti pri izdaji zdravil za uporabo, ki je drugačna od opredeljene v navodilih za uporabo (31 %), ter pripravkov za prostovoljno končanje življenja (29 %). Na pogled glede sprejemanja ugovora vesti pri slednjih nista imela statistično značilnega vpliva starost in izobrazba anketirancev.

3.3 ODZIVANJE ANKETIRANCEV NA POTENCIALNO UVELJAVLJANJE UGOVORA VESTI LEKARNIŠKIH FARMACEVTOV

Zavrnitev izdaje zdravila zaradi uveljavljanja ugovora vesti s strani lekarniškega farmacevta lahko pacienta postavi v nezavidljiv položaj. Če bi do tega prišlo, bi bila skoraj polovica (47 %) anketirancev presenečena, 61 % pa bi želelo razumeti razloge lekarniškega farmacevta za takšno odločitev. Čustvene reakcije na zavrnitev bi bile večinoma negativne – 42 % anketirancev bi občutilo zaskrbljenost, 36 % jezo,

32 % razočaranje in 17 % ponižanje. Kljub negativnim občutkom bi se odzivi močno razlikovali. Medtem ko bi se mnogi (36 %) razjezili, saj menijo, da jim zdravilo pripada, ker jim ga je predpisal zdravnik, kar ponazarja navedek enega izmed anketirancev: »Ga počim na gobec, če ima ugovor vesti, naj si najde drugo službo.«, bi nekateri reagirali mirneje. Ti bi bodisi poskusili prepričati lekarniškega farmacevta, naj jim zdravilo vseeno izda (18 %), bodisi do zdravila ne bi skušali priti, kot je zapisala ena izmed anketirank: »Prisillio bi me k premisleku, če to res rabim.« Zanimivo je, da bi nekoliko več anketirancev, ki bi kljub zavrnitvi želeli priti do zdravila, raje obiskalo drugo lekarno, kot pa ga prejeli od drugega farmacevta v isti lekarni. Slednje kaže na vpliv izkušnje z zavrnitvijo izdaje na pacientovo zadovoljstvo oz. zaupanje v lekarno, kjer je zaposlen farmacevt z ugovorom vesti, in verjetnost za njegov obisk te lekarnice v prihodnje, saj se četrtnina anketirancev v lekarno, kjer jim je bila zavrnjena izdaja zaradi ugovora vesti, ne bi vrnila. Več kot polovica anketirancev (62 %) meni, da bi morali pacienti, ki jim je bila izdaja zdravila zavrnjena zaradi uveljavljanja ugovora vesti, vložiti pisno pritožbo ali pravno ukrepati. Pri tem nismo zaznali razlik glede na izobrazbo ali versko pripadnost anketirancev.





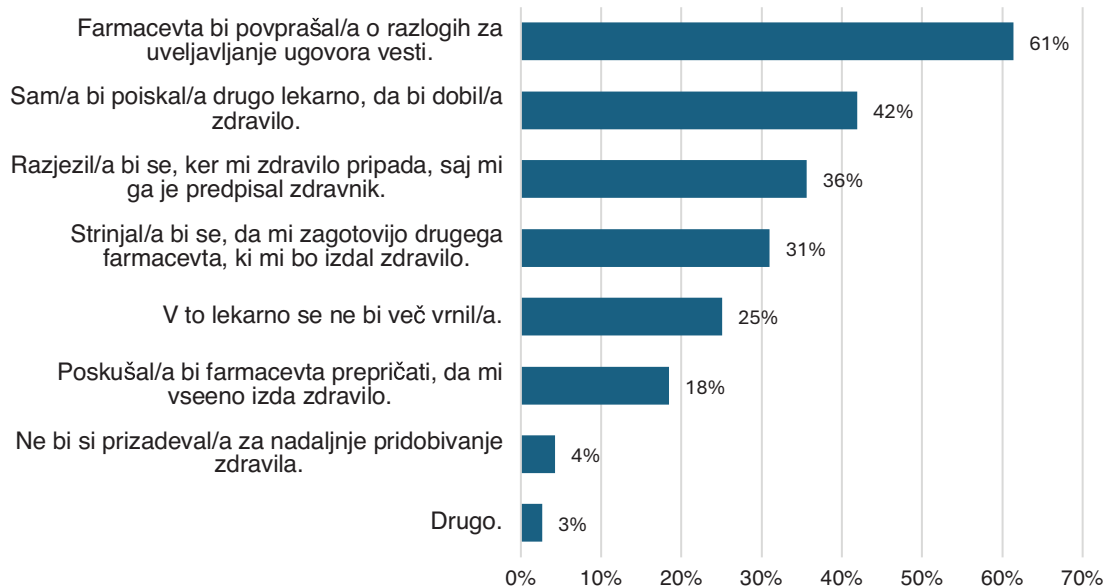
Slika 2: Vrste zdravil, za katere je po mnenju anketirancev dopustno uveljavljanje ugovora vesti farmacevtov.

Figure 2: Types of medicines for which respondents consider pharmacists' conscientious objection acceptable.

3.4 POGLED SPLOŠNE POPULACIJE NA REGULATORNE VIDIKE UGOVORA VESTI FARMACEVTOV

Večina anketirancev (70 %) je mnenja, da bi morala biti dostopna baza podatkov, v kateri bi lahko vsak pacient preveril, ali določen lekarniški farmacevt uveljavlja ugovor vesti, kar bi verjetno vplivalo na izbiro lekarne, ki jo bodo obiskali. Anketiranci se v večini (86 %) strinjajo tudi, da bi morala lekarna zagotoviti prisotnost vsaj enega farmacevta, ki ne uveljavlja ugovora vesti. Večina (70 %) jih meni tudi, da je farmacevt ob zaposlitvi v lekarni svojemu delodajalcu dolžan razkriti osebna prepričanja, ki bi lahko vplivala na izvajanje oskrbe pacientov. Literatura navaja, da nekateri lekarniški farmacevti zavračajo ne le izdajo zdravil, temveč tudi pre-

usmeritev pacienta k drugemu farmacevtu, kar lahko dodatno oteži dostop do zdravila (25). Da bi se izognili nevšečnostim za pacienta, mora biti zavrnitev izdaje izvedena na način, ki pacientu ne povzroča stresa ali strahu. Lekarniški farmacevt, ki uveljavlja ugovor vesti naj bi pacienta usmeril k drugemu farmacevtu ali v drugo lekarno na razumni razdalji. Če izdaje drugje ni mogoče pravočasno zagotoviti, naj bi imela pacientova pravica do dostopa do zdravila prednost pred uveljavljanjem ugovora vesti (13, 26). Skladno s tem je tudi mnenje anketirancev, saj večina (86 %) meni, da bi moral lekarniški farmacevt v takem primeru zdravilo izdati ne glede na svoj ugovor vesti (slika 4). S tem se statistično značilno pogosteje strinjajo anketiranci z nižjo izobrazbo (osnovnošolsko ali srednješolsko) v primerjavi s tistimi z višjo izobrazbo (visokošolsko ali univerzitetno) ($\chi^2(df, 3) = 11,16; p = 0,011; \text{Cramérjev } V = 0,195$).



Slika 3: Odziv anketirancev na uveljavljanje ugovora vesti farmacevtov ob izdaji zdravila. Anketiranci so lahko izbrali več odgovorov.

Figure 3: Respondents' reactions to pharmacists' conscientious objection when dispensing medication. Respondents could select multiple answers.

3.5 OMEJITVE RAZISKAVE

Raziskava ima nekaj metodoloških omejitev. Ena izmed njih je nesorazmerno velik delež anketirancev iz zasavske regije, kar lahko omejuje reprezentativnost vzorca. To omejitev smo omilili z ustreznim uteževanjem podatkov pred statistično obdelavo. Reprezentativnost smo zagotavljali na ravni stratifikacije vzorca in z naknadno post-stratifikacijo (z uteževanjem) realiziranega vzorca po izbranih karakteristikah. Realizirani vzorec v celoti je na ta način reprezentativen za ciljno populacijo glede na kombinacijo spola, štirih starostnih razredov ter statistične regije. Treba je upoštevati, da Valicon temelji na neverjetnostnem panelu, kar pomeni, da vzorec vključuje posameznike, ki so se prostovoljno vključili v bazo za spletno anketiranje. Posledično vzorec lahko v določenih demografskih ali vedenjskih značilnostih odstopa od splošne populacije.

Poleg tega smo v raziskavi zagotovili vsebinsko in razvidno veljavnost uporabljenega vprašalnika, nismo pa preverjali notranje skladnosti, konstruktne veljavnosti in zanesljivosti vprašalnika. Celovita validacija vprašalnika presega namen te raziskave.

Poleg tega smo ocenili tudi napovedno moč modela, ki pa je zaradi nizkega Nagelkerke R^2 omejena. To pomeni, da model pojasni le majhen delež variance v odvisni spremenljivki – torej ima omejeno sposobnost napovedovanja.

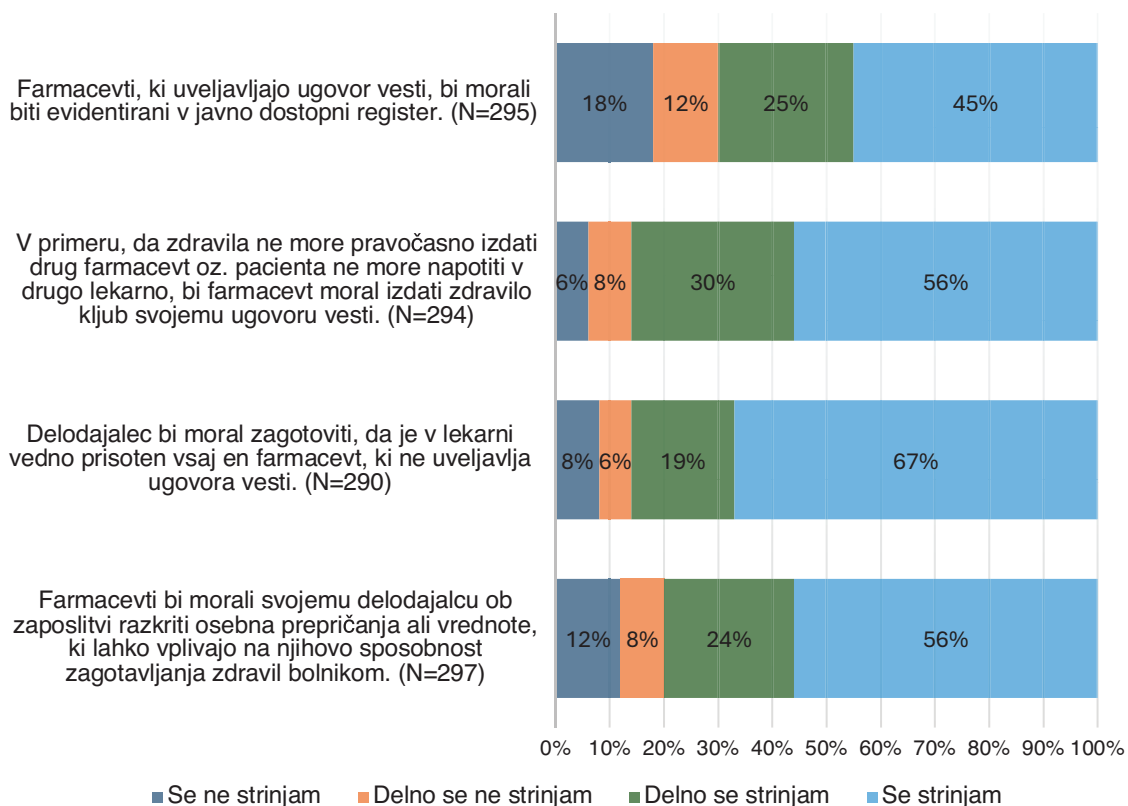
Statistična značilnost tudi ne pomeni nujno praktične pomembnosti, še posebej ob nizkem Nagelkerke R^2 .

Nazadnje je pomembno izpostaviti še čas izvedbe raziskave, saj je bila ta opravljena leta 2003. Zaradi velike medijske odmevnosti tematike ob sprejetju ZLD-1 je lahko seznanjenost laikov z ugovorom vesti lekarniških farmacevtov v času izvedbe raziskave drugačna kot danes.

4 SKLEP

Nova zakonodaja na področju lekarniške dejavnosti je podala jasne pravne okvirje in postavila pravice pacientov nad pravice farmacevtskih delavcev, a postavila lekarniške farmacevte v neenak položaj v primerjavi z drugimi zdravstvenimi delavci. Anketiranci v raziskavi so izkazali načelno podporo ugovoru vesti lekarniških farmacevtov, vendar le do točke, ko bi imeli zagotovljeno pravočasno izdajo zdravil. Rezultati tako kažejo na potrebo po jasnih strokovnih smernicah in regulativnih rešitvah, ki bi hkrati varovale pravice lekarniških farmacevtov v kontekstu ugovora vesti in hkrati zagotavljale profesionalno obravnavo pacientov, če bi bila lekarniškim farmacevtom znova na razpolago pravica do





Slika 4: Pogled splošne populacije na regulatorne vidike ugovora vesti farmacevtov.

Figure 4: The general population's view on the regulatory aspects of pharmacists' conscientious objection.

uveljavljanja ugovora vesti. Potencialne rešitve vključujejo registre lekarniških farmacevtov z ugovorom vesti ter priporočilo lekarniškim ustanovam glede ustrezne organizacije dela, ki bi zagotavljala neprekinjeno prisotnost farmacevta brez ugovora vesti v vsaki lekarni. Čeprav bi zagotavljanje nemotenega dostopa pacientom do zdravil kljub potencialnemu uveljavljanju ugovora vesti (redkih) farmacevtov za lekarne lahko predstavljalo velik organizacijski izziv, bi se v praksi morda lahko doseglo ravnovesje med pravicami pacientov in možnostjo uresničevanja pravice do ugovora vesti za farmacevtske delavce.

5 IZJAVA

Zahvaljujemo se Ani Mariji Kralj za opravljeno delo v okviru magistrske naloge.

6 LITERATURA

1. Ustava RS, Uradni list RS, št. 33/91-I, 28. 12. 1991 [Available from: <http://pisrs.si/Pis.web/pregledPredpisa?id=USTA1>
2. Zakon o zdravniški službi (ZZdrS), Uradni list RS, št. 72/06, 18. 11. 1999. Available from: <https://pisrs.si/pregledPredpisa?id=ZAKO1395>
3. Zakon o zdravstveni dejavnosti, Uradni list RS, št. 23/05, 21. 02. 1992 Available from: <http://pisrs.si/Pis.web/pregledPredpisa?id=ZAKO214>
4. Lekarniška zbornica Slovenije. Kodeks lekarniške deontologije (2019).
5. Zakon o spremembah in dopolnitvah Zakona o lekarniški dejavnosti – ZLD-1D. Uradni list RS, št. 112/24, 27. 12. 2024. Available from: <https://pisrs.si/pregledPredpisa?id=ZAKO9160>
6. Mišič L. Ugovor vesti v zdravstveni in lekarniški dejavnosti. Medicina in pravo. Januar 2025.
7. Sindikat farmacevtov Slovenije. Farmacevti ne smejo biti edina izjema brez pravice do ugovora vesti [Dostopano: 5-6-2025]. Available from: <https://www.sifarm.si/sifarm-farmacevti-ne-smejo-biti-edina-izjema-brez-pravice-do-ugovora-vesti>.

8. Fino LB, Basheti IA, Saini B, Moles R, Chaar BB. Exploring pharmacy ethics in developing countries: a scoping review. *Int J Clin Pharm*. 2020;42(2):418-35.
9. Piecuch A, Gryka M, Kozłowska-Wojciechowska M. Attitudes towards conscientious objection among community pharmacists in Poland. *Int J Clin Pharm*. 2014;36(2):310-5.
10. Deans Z. Conscientious objections in pharmacy practice in Great Britain. *Bioethics*. 2013;27(1):48-57.
11. Vischer RK. Conscience in context: pharmacist rights and the eroding moral marketplace. *Stanford Law Pol Rev*. 2006;17(1):83-119.
12. Flynn DP. Pharmacist conscience clauses and access to oral contraceptives. *J Med Ethics*. 2008;34(7):517-20.
13. Wall LL, Brown D. Refusals by pharmacists to dispense emergency contraception: a critique. *Obstet Gynecol*. 2006;107(5):1148-51.
14. Baergen R, Owens C. Revisiting pharmacists' refusals to dispense emergency contraception. *Obstet Gynecol*. 2006;108(5):1277-82.
15. Field A. *Discovering statistics using SPSS, third edition*. Sage Publications, London, 2009: 264-315, 686-701.
16. Lee RY, Moles R, Chaar B. Mifepristone (RU486) in Australian pharmacies: the ethical and practical challenges. *Contraception*. 2015;91(1):25-30.
17. Davidson LA, Pettis CT, Joiner AJ, Cook DM, Klugman CM. Religion and conscientious objection: a survey of pharmacists' willingness to dispense medications. *Soc Sci Med*. 2010;71(1):161-5.
18. Peter D. Hart Research Associates. *A survey among the general public and licensed pharmacists in New jersey and Oregon conducted on behalf of RHTP*. [Dostopano: 22-1-2025]. Available from: <http://ec.princeton.edu/news/survey.html>.
19. Curlin FA, Nwodin C, Vance JL, Chin MH, Lantos JD. To die, to sleep: US physicians' religious and other objections to physician-assisted suicide, terminal sedation, and withdrawal of life support. *Am J Hosp Palliat Care*. 2008;25(2):112-20.
20. Davis S, Schrader V, Belcheir MJ. Influencers of ethical beliefs and the impact on moral distress and conscientious objection. *Nurs Ethics*. 2012;19(6):738-49.
21. Hungerman DM. The effect of education on religion: Evidence from compulsory schooling laws. *J Econ Behav Organ*. 2014;104:52-63.
22. Kodrič A, Kreslin A, Horvat N. Ugovor vesti v slovenskih javnih lekarnah: seznanjenost, odnos in uporaba. *Farm vestn*. 2023;74.
23. Statistični urad Republike Slovenije. *Verska, jezikovna in narodna sestava prebivalstva Slovenije. Št. 2*. Ljubljana, 2003.
24. Evans EW. Conscientious objection: a pharmacist's right or professional negligence? *Am J Health Syst Pharm*. 2007;64(2):139-41.
25. Stein R. Pharmacists' rights at front of new debate; because of beliefs, some refuse to fill birth control prescriptions. *Washington Post*. 2005;Mar 28:A1, A10.
26. Gallagher CT, Holton A, McDonald LJ, Gallagher PJ. The fox and the grapes: an Anglo-Irish perspective on conscientious objection to the supply of emergency hormonal contraception without prescription. *J Med Ethics*. 2013;39(10):638-42.



UPORABNOST UMETNE INTELIGENCE V SODOBNI FITOTERAPIJI

USABILITY OF ARTIFICIAL INTELLIGENCE IN MODERN PHYTOTHERAPY

AVTORJA / AUTHORS:

viš. znan. sod. dr. Rade Injac, mag. farm.
izr. prof. dr. Nina Kočevar Glavač, mag. farm.

*Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,
Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana*

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: nina.kocevar.glavac@ffa.uni-lj.si



1 UVOD

Umetna inteligenca je področje računalništva, ki se ukvarja z razvojem sistemov, sposobnih opravljati naloge, ki obi-

POVZETEK

Integracija umetne inteligence v sodobno fitoterapijo nadgrajuje tradicionalne pristope proučevanja zdravilnih rastlin, saj ponuja napredna orodja za njihove raziskave, razvoj in klinično uporabo. Umetna inteligenca omogoča hitro in zanesljivo identifikacijo rastlinskih vrst, analizo bioaktivnih spojin, napovedovanje terapevtskih učinkov ter optimizacijo formulacij za ciljno usmerjene terapije. Razvija se tudi na področju personalizacije fitoterapije, katere cilj je z individualnim prilagajanjem zdravljenja glede na genetske, presnovne in okoljske dejavnike posameznika zagotoviti optimalen načrt zdravljenja oz. obravnave. Kljub nedvomnim prednostim pa se umetna inteligenca sooča tudi z izzivi, kot so neustrezna kakovost vhodnih in izhodnih podatkov, potreba po interdisciplinarnem sodelovanju ter etične in regulativne omejitve, ki trenutno njeno uporabo omejujejo. V članku naslavljamo ključne točke integracije umetne inteligence v sodobno fitoterapijo.

KLJUČNE BESEDE:

bioaktivne spojine, fitoterapija, umetna inteligenca, zdravilne rastline

ABSTRACT

The integration of artificial intelligence into modern phytotherapy enhances traditional approaches to the study of medicinal plants and provides advanced tools for their research, development and clinical application. Artificial intelligence facilitates the rapid and reliable identification of plant species, the analysis of bioactive compounds, predicts their therapeutic effects and optimises formulations for targeted treatments. Artificial intelligence also improves personalisation in phytotherapy by tailoring interventions to individual genetic, metabolic and environmental factors. Despite its undisputed benefits, artificial intelligence also faces challenges such as the insufficient quality of input and output data, the need for interdisciplinary collaboration, and ethical and regulatory issues that currently limit its use. In this article, we address the key points of integrating artificial intelligence into modern phytotherapy.

KEY WORDS:

artificial intelligence, bioactive compounds, medicinal plants, phytotherapy

čajno zahtevajo človeško inteligenco. Sem spadajo sposobnosti, kot so učenje, sklepanje, reševanje problemov, zaznavanje okolja in razumevanje naravnega jezika (1). Najstarejši zgodovinski mejnik razvoja umetne inteligence sega v petdeseta leta prejšnjega stoletja, ko je Alan Turing predstavil znameniti Turingov test, ki preverja, ali lahko stroj posnema človeško razmišljanje. Med odmevnejšimi preboji je tudi šahovski dvoboj iz leta 1997, ko je superračunalnik z imenom Deep Blue prvič premagal svetovnega prvaka Garija Kasparova. V zadnjih letih smo pričča izjemnemu razmahu uporabe umetne inteligence v številnih gospodarskih sektorjih, medicini, izobraževanju itd., vključno z uporabo generativne umetne inteligence, ki je postala dostopna širši javnosti (1).

Sodobna fitoterapija je področje znanosti, ki raziskuje zdravilne rastline in njihove bioaktivne spojine, njihove mehanizme delovanja, učinkovitost in varnost za uporabo v medicinske namene ter temelji na izsledkih farmakoloških in kliničnih raziskav. V svojem ožjem, uporabnem pomenu pa definicija sodobne fitoterapije vključuje t. i. na dokazih temelječo uporabo rastlinskih pripravkov, vključno z zdravili rastlinskega izvora, pogosto kot del celostne obravnave bolezenskih stanj (2, 3).

Sodobno fitoterapijo je v zadnjem desetletju revolucionarno spremenila vključitev umetne inteligence, saj ponuja nove rešitve in izboljšuje učinkovitost tega področja tako na ravni bazičnih in kliničnih raziskav kot tudi na ravni izdelave zdravil in drugih pripravkov rastlinskega izvora (slika 1). V članku predstavljamo ključna področja, kjer umetna inteligenca povečuje uporabnost sodobne fitoterapije, in sicer prepo-

znavanje in razvrščanje rastlin, fitokemijsko karakterizacijo, napovedovanje terapevtskih učinkov in interakcij, personalizirano fitoterapijo, optimizacijo pridelave in žetve zdravilnih rastlin ter področje raziskav in razvoja.

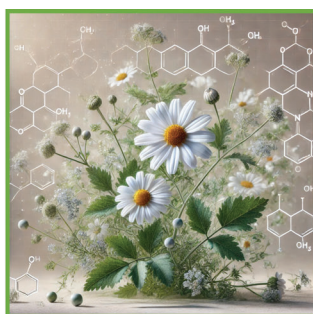
2 PREPOZNAVANJE IN RAZVRŠČANJE RASTLIN

Tradicionalne metode, kot so morfološke, anatomske in genetske analize, so bile dolgo časa osnova za proučevanje rastlinskih vrst. Vendar pa so te metode časovno potratne in zahtevajo visoko raven strokovnega znanja. Z vključevanjem umetne inteligence te omejitve hitro premagujemo in povečujemo zanesljivost in učinkovitost prepoznavanja in razvrščanja rastlin (4–6).

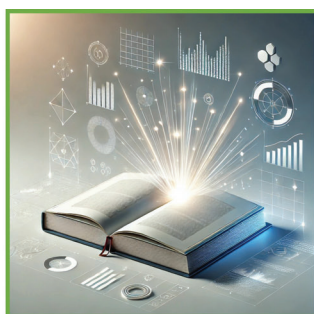
Uporaba umetne inteligence pri botanični identifikaciji temelji na algoritmih strojnega učenja in računalniškega vida, ki omogočajo analizo slik rastlin, vključno z listi, cvetovi, plodovi in drugimi morfološkimi značilnostmi. S pomočjo obsežnih podatkovnih baz slik in oznak algoritmi pridobijo sposobnost prepoznavanja različnih vrst rastlin in njihovih lastnosti (5, 6). Pri tem so še posebej učinkovite tehnike globokega učenja, kot so konvolucijske nevronske mreže (5).

Glavne prednosti uporabe umetne inteligence pri identifikaciji in razvrščanju rastlin so:

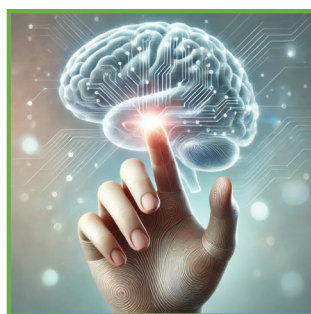
- samodejna prepoznavna vrst: umetna inteligenca analizira slike rastlin in določi pripadajočo vrsto (5);



RASTLINE IN SPOJINE



ZNANJE IN PODATKI



ANALIZA



KONČNA UPORABA

Slika 1: Shematska predstavitev uporabe umetne inteligence v sodobni fitoterapiji: od identifikacije rastlin in bioaktivnih spojin do izdelave pripravkov rastlinskega izvora in uporabe za zdravljenje. Sliko smo ustvarili z umetno inteligenco DALL·E 3 (OpenAI).

Figure 1: Schematic representation of the use of artificial intelligence in modern phytotherapy: from the identification of plants and bioactive compounds to the manufacturing of herbal preparations and treatment. Image was generated with artificial intelligence DALL·E 3 (OpenAI).



- razvrščanje na osnovi genetskih podatkov: algoritmi obdelujejo genomske sekvence za razvrščanje rastlin in določijo njihovo evlucijsko sorodstvo (7);
- mobilne aplikacije za široko uporabo: aplikacije, kot so PI@ntNet®, Planta® in Biodiversa®, omogočajo uporabnikom, da enostavno prepoznajo rastline s fotografiranjem s pametnim telefonom.

Umetna inteligenca ima velik potencial zlasti v deželah, kot je Slovenija, kjer bogata biotska raznovrstnost zahteva oz. omogoča raznolike raziskave in stalno spremljanje rastlinskih sestojev. Botanični raziskovalci lahko z uporabo teh tehnologij izboljšajo kartiranje rastlinskih vrst, spremljanje invazivnih vrst in analizo ekosistemov.

Uporaba umetne inteligence pri prepoznavanju in razvrščanju rastlin je pomemben korak naprej tudi v raziskavah na področju sodobne fitoterapije, zlasti kliničnih raziskav. Kakovostna karakterizacija uporabljenega rastlinskega materiala (rastlinskih drog in rastlinskih izvlečkov) je namreč ključnega pomena za relevantnost rezultatov in kakovost raziskave.

Čeprav je tehnologija obetavna, pa prinaša tudi izzive in omejitve. Glavni so povezani z neustrezno kakovostjo podatkov (npr. nepopolne ali netočne podatkovne baze slik), omejenim dostopom do globalnih virov podatkov in potrebo po natančnejših algoritmih, ki bolje prepoznavajo tudi rastline v različnih okoljskih razmerah (5, 6). S povečanjem zanesljivosti in dostopnosti teh orodij bomo izboljšali razumevanje rastlinske raznovrstnosti, kar bo koristilo tako znanosti kot tudi ohranjanju narave.

3 ANALIZA RASTLINSKIH BIOAKTIVNIH SPOJIN IN FITOKEMIJSKA KARAKTERIZACIJA

Bioaktivne spojine iz rastlin, v angleškem izrazoslovju znane tudi kot fitokemikalije, so produkti rastlinskega metabolizma, ki izražajo pomembne farmakološke učinke. Rastlinske bioaktivne spojine imajo ključno vlogo tudi pri raziskavah na področjih farmacije in medicine, prehrane in kozmetike (7–9). Tradicionalne metode za njihovo analizo, kot so kromatografske in spektroskopske metode, predstavljajo temelj fitokemijske karakterizacije rastlinskega materiala, vendar zahtevajo veliko časa, specializirane opreme in strokovnega znanja (6). Sodobni pristopi, ki vključujejo umetno inteligenco, obetajo znatno izboljšanje učinkovitosti in zanesljivosti teh postopkov (8).

Uporaba umetne inteligence pri fitokemijski karakterizaciji temelji na algoritmih strojnega učenja in globokega učenja, ki omogočajo hitro obdelavo in analizo velikih količin podatkov. Spektralni podatki, pridobljeni s tehnikami, kot sta tekočinska kromatografija, sklopljena z masno spektrometrijo (LC-MS), in jedrska magnetna resonanca (NMR), se lahko obdelajo z umetno inteligenco za identifikacijo in razvrščanje spojin ter napovedovanje njihove bioaktivnosti (9).

Prednosti uporabe umetne inteligence vključujejo (8, 9):

- samodejno prepoznavanje bioaktivnih spojin: algoritmi hitro analizirajo spektre in predlagajo strukture spojin na podlagi primerjave s spojinami iz podatkovnih baz;
- napovedovanje bioaktivnosti: na osnovi molekulskih struktur modeli umetne inteligence napovejo terapevtski potencial spojin;
- optimizacija raziskovalnih procesov: algoritmi omogočajo zmanjšanje časa in stroškov, povezanih z analizami.

Pri uporabi umetne inteligence za vrednotenje rastlinskih bioaktivnih spojin je pomembno opozoriti na izzive, kot so kakovost vhodnih podatkov, omejen dostop do obsežnih podatkovnih baz in potreba po interdisciplinarnem pristopu med znanstveniki (8).

4 NAPOVEDOVANJE TERAPEVTSKIH UČINKOV BIOAKTIVNIH SPOJIN

Bioaktivne spojine iz rastlin imajo velik potencial za razvoj novih zdravil in terapevtskih strategij. Zaradi njihove kemijske raznolikosti in kompleksnosti je raziskovanje njihovih terapevtskih učinkov zahtevno in dolgotrajno. Umetna inteligenca pa prinaša nove priložnosti za hitrejše in natančnejše napovedovanje njihovega biološkega delovanja in terapevtskega potenciala (10–12).

Umetna inteligenca uporablja algoritme strojnega učenja, ki obdelujejo obsežne podatkovne baze molekulskih struktur in profilov bioaktivnosti. Ti algoritmi identificirajo vzorce in odnose med kemijskimi lastnostmi spojin in njihovimi terapevtskimi učinki. Med ključne tehnologije spadajo globoko učenje, molekulsko modeliranje in simulacije interakcij med ligandi in tarčnimi beljakovinami (10–12).

Prednosti uporabe umetne inteligence pri napovedovanju terapevtskih učinkov bioaktivnih spojin so:

- hitro presejanje spojin: algoritmi analizirajo na tisoče bioaktivnih spojin in prednostno razvrstijo tiste z največjim terapevtskim potencialom (10);

- napovedovanje mehanizmov delovanja: umetna inteligenca omogoča simulacijo interakcij spojin z biološkimi tarčami, kar pomaga razumeti njihovo delovanje na molekularni ravni (11);
- odkrivanje novih terapevtskih indikacij: algoritmi predlagajo nove uporabe za že znane rastlinske zdravilne učinkovine (12).

Med ključnimi izzivi teh pristopov velja izpostaviti potrebo po dostopu do kakovostnih podatkovnih baz, pomanjkanje standardizacije rastlinskega materiala in potrebo po validaciji napovedovanja na podlagi eksperimentalnih podatkov (12, 13).

5 PERSONALIZIRANA FITOTERAPIJA

Kot velja za klasične (pol)sintezne zdravilne učinkovine, se lahko odziv posameznika močno razlikuje tudi pri učinkovinah v pripravkih rastlinskega izvora zaradi genetskih, presnovnih in okoljskih dejavnikov. Umetna inteligenca se intenzivno razvija tudi na tem področju in odpira priložnosti uporabe personalizirane fitoterapije, ki temelji na prilagajanju zdravljenja specifičnim potrebam posameznika (13–15). Kako umetna inteligenca omogoča personalizirano fitoterapijo? Umetna inteligenca uporablja podatke, kot so genomski profil, anamneza, prehranjevalne navade in življenjski slog, na podlagi katerih oblikuje optimalen načrt zdravljenja oz. obravnave. Algoritmi strojnega učenja pri tem analizirajo velike količine podatkov in iščejo vzorce, ki povezujejo rastlinske bioaktivne spojine s posameznikovimi potrebami (13).

Prednosti uporabe umetne inteligence v personalizirani fitoterapiji so (13–15):

- individualiziran pristop: na podlagi podatkov o genih in metabolizmu posameznika umetna inteligenca priporoči rastlinske bioaktivne spojine oz. zdravilne učinkovine, ki bodo najbolj učinkovite;
- optimizacija odmerkov: algoritmi prilagodijo odmerke rastlinskih pripravkov glede na posameznikove značilnosti v presnovi ali morebitne interakcije z drugimi zdravili;
- prepoznavanje kontraindikacij: umetna inteligenca identificira možne alergijske reakcije in druge neželene učinke. Poleg izzivov zbiranja kakovostnih podatkov in integracije različnih podatkovnih virov nas umetna inteligenca v personalizirani fitoterapiji postavlja tudi pred izzive etičnih in

regulativnih vprašanj, kot so varovanje osebnih podatkov ter pridobivanje soglasij in pristranskost algoritmov v primeru deležnikov (npr. podjetij), ki prispevajo svoje podatke (13, 16).

Vključevanje umetne inteligence v razvoj personalizirane fitoterapije ima trenutno največji potencial zlasti v državah, kjer ima fitoterapija dolgo tradicijo uporabe v tradicionalni ali sodobni medicini.

6 NAPOVEDOVANJE INTERAKCIJ

Interakcije med klasičnimi zdravili in pripravki oz. zdravili rastlinskega izvora (17–19) so pomemben vidik varne uporabe fitoterapije zlasti pri pacientih, ki uporabljajo več zdravil oz. pripravkov hkrati. Rastline vsebujejo številne bioaktivne spojine, ki lahko vplivajo na farmakokinetiko (absorpcijo, porazdeljevanje, metabolizem, izločanje) in farmakodinamiko (mehanizme delovanja) zdravil. Umetna inteligenca omogoča napovedovanje teh interakcij, kar prispeva k zmanjšanju tveganj in izboljšanju varnosti zdravljenja (17–19). Pri tem uporablja algoritme strojnega učenja za analizo obsežnih podatkovnih baz, ki vključujejo kemijske strukture, molekulske tarče, farmakološke lastnosti in znane interakcije (17). Tehnologije, kot so modeli globokega učenja in molekularno sidranje, omogočajo simulacijo interakcij med rastlinskimi bioaktivnimi spojinami in klasičnimi učinkovinami na molekularni ravni.

Prednosti uporabe umetne inteligence pri napovedovanju interakcij so:

- zgodnje odkrivanje tveganj: algoritmi prepoznajo rastlinske bioaktivne spojine, ki vstopajo v interakcije z določenimi zdravili (18);
- napovedovanje mehanizmov interakcij: umetna inteligenca omogoča razumevanje, kako rastlinske spojine vplivajo na encime, receptorje in druge molekulske tarče, povezane z zdravili (18);
- optimizacija terapij: s pomočjo napovedi lahko zdravniki prilagodijo odmerke zdravil ali predlagajo alternativne rastlinske pripravke (19).

Eden ključnih izzivov napovedovanja interakcij s pomočjo umetne inteligence je pomanjkanje celovitih podatkov o interakcijah. Poleg tega je treba razviti standardizirane pristope za validacijo ustreznosti napovedi umetne inteligence (17).



7 PRIDELAVA IN ŽETEV ZDRAVILNIH RASTLIN

Zdravilne rastline oz. rastlinske droge in izvlečki so osnovna surovina za proizvodnjo zdravil in drugih pripravkov rastlinskega izvora. Proizvajalci se že v začetni fazi proizvodnje srečajo z izzivi zagotavljanja učinkovitosti, varnosti in kakovosti, saj vsebnost rastlinskih učinkovin in t. i. analizičnih markerjev variira glede na številne okoljske dejavnike, čas žetve in postopke nadaljnje obdelave. Umetna inteligenca ponuja inovativne rešitve za optimizacijo gojenja in spravila zdravilnih rastlin, s čimer pomaga pri doslednem zagotavljanju visoke kakovosti in učinkovitosti rastlinskih pripravkov kot tudi večjo trajnost proizvodnje zdravilnih rastlin (20–22). Pri tem umetna inteligenca uporablja in analizira podatke o pridelovalnih pogojih, kot so sestava tal, podnebni dejavniki, namakalni režimi in čas žetve. Na podlagi teh informacij algoritmi strojnega učenja napovejo optimalne razmere za rast rastlin ter določijo najboljši čas za spravilo, ko je koncentracija bioaktivnih spojin najvišja (20–21).

Prednosti uporabe umetne inteligence (20–22):

- natančno spremljanje pogojev rasti: senzori in algoritmi umetne inteligence spremljajo vlago, temperaturo, pH tal in druge ključne dejavnike ter predlagajo optimizacijo pogojev v realnem času;
- napovedovanje optimalnega časa žetve: na podlagi podatkov o rasti in fitokemijskih analizah umetna inteligenca določi čas, ko zdravilne učinkovine dosežejo največjo koncentracijo;
- zmanjšanje stroškov in odpadkov: s prilagoditvijo pridelovalnih postopkov umetna inteligenca zmanjša porabo virov, kot so voda, gnojila in energija, ter zmanjša tveganje za izgubo pridelka.

Primeri uporabe umetne inteligence za optimizacijo gojenja rastlin in s tem kakovosti rastlinskih drog se že pojavljajo v praksi (21):

- sistem pametnega kmetovanja: umetna inteligenca omogoča spremljanje rasti rastlin in samodejno prilagajanje pogojev za rast;
- optimizacija vsebnosti bioaktivnih spojin: algoritmi napovejo, kako pridelovalne metode vplivajo na vsebnost ključnih spojin, kot so alkaloidi, flavonoidi in hlapne spojine (eterična olja).

Za prihodnost posebej pomembna je integracija teh tehnologij v manjših ekoloških kmetijah, kjer je optimizacija virov ključnega pomena. Glavni izzivi vključujejo visoke stro-

ške uvajanja tehnologije in potrebo po specifičnih podatkovnih bazah za lokalne rastlinske vrste. Kljub temu razvoj umetne inteligence obljublja povečanje učinkovitosti in trajnosti pridelave zdravilnih rastlin, kar bo prispevalo k boljši konkurenčnosti na globalnem trgu (21).

8 RAZISKAVE IN RAZVOJ

Podobno kot na številnih drugih področjih farmacije in medicine se tudi v fitoterapiji sodobne raziskave soočajo z izzivi, kot so kompleksnost rastlinskih spojin, dolgotrajni laboratorijski postopki in visoki stroški razvoja (23). Umetna inteligenca prinaša preboj na tem področju z avtomatizacijo procesov, analizo velikih količin podatkov in napovedovanjem terapevtskega potenciala rastlinskih bioaktivnih spojin, pri čemer je ključna tudi integracija drugih znanstvenih ved, kot so npr. bioinformatika, kemoinformatika, kemometrika in farmakologija (23–26).

Prednosti uporabe umetne inteligence na področju raziskav in razvoja so (23, 25):

- hitrejša identifikacija bioaktivnih spojin: algoritmi analizirajo obsežne baze podatkov kemijskih struktur in predlagajo spojine s potencialnimi terapevtskimi lastnostmi;
- razvoj novih formulacij: s pomočjo optimizacijskih algoritmov umetna inteligenca priporoča idealne kombinacije rastlinskih izvlečkov za specifične bolezni.

Znanstveniki raziskujejo naslednje praktične aplikacije umetne inteligence s področja raziskav in razvoja (23):

- virtualni presejalni postopki: umetna inteligenca nadomešča tradicionalne metode presejanja spojin z računalniškimi simulacijami, kar znatno skrajša čas raziskav;
- razumevanje kompleksnih mehanizmov sinergizma: umetna inteligenca razkriva, kako več bioaktivnih spojin deluje sinergistično za izboljšanje učinkovitosti;
- odkrivanje novih indikacij bioaktivnih snovi: algoritmi analizirajo obstoječe podatke o zdravilnih rastlinah in predlagajo nove terapevtske uporabe.

Menimo, da bi lahko uvedba umetne inteligence v slovenski farmaciji, kjer se fitoterapija razvija kot pomembno področje farmacije oz. medicine, pospešila raziskave lokalnih zdravilnih rastlin, izboljšala kakovost izdelkov domače proizvodnje in povečala konkurenčnost na evropskem in mednarodnem trgu.

Med glavnimi izzivi so pomanjkanje standardiziranih podatkovnih baz, potreba po validaciji napovedi umetne inteli-

gence v laboratorijskih pogojih in visoki začetni stroški uva-
janja tehnologije (23).

9 SKLEP

Umetna inteligenca predstavlja pomemben potencial za izboljšanje uporabnosti fitoterapije v sodobni medicini. Omogoča namreč nadaljnji razvoj področij fitokemijske analize, nadzora kakovosti, kliničnih raziskav in personaliziranega zdravljenja. Vendar pa uresničitev tega potenciala zahteva tudi celovito reševanje izzivov in omejitev, ki jih prinaša umetna inteligenca. Med temi je ključno vprašanje kakovosti in razpoložljivosti podatkov: visokokakovostni in celoviti podatki so ključni za učinkovito učenje modelov umetne inteligence. V fitoterapiji so takšni podatki pogosto razdrobljeni ali nepopolni (npr. pomanjkljivi ali odsotni podatki o botanični identifikaciji rastlinskih vrst, kemizmu rastlinskih izvlečkov, zasnovi kliničnih raziskav). Standardizacija praks zbiranja in deljenja podatkov je bistvenega pomena za premagovanje te ovire. Druga ključna tema izzivov in omejitev so etične dileme, ki so trenutno najbolj aktualne v povezavi s personalizirano fitoterapijo, ter potreba po interdisciplinarnem sodelovanju strokovnjakov. Prepričani smo, da bo imela ob nadaljnjem razvoju tehnologij umetna inteligenca prelomno vlogo v prihodnosti fitoterapije, da bo spodbujala inovacije in izboljšala zdravstveno oskrbo ter prispevala tudi k razvoju farmacevtske znanosti in industrije ter vodila h končnemu cilju izboljšanja človeškega zdravja.

10 LITERATURA

1. Russell S, Norvig P. *Artificial intelligence: A modern approach*. 4th ed. Hoboken: Pearson; 2020.
2. Li FS, Weng JK. Demystifying traditional herbal medicine with modern approach. *Nat Plants*. 2017 Jul 31;3:17109.
3. Koonrungsomboon N, Sakuludomkan C, Na Takuathung M, Klinjan P, Sawong S, Perera PK. Study design of herbal medicine clinical trials: a descriptive analysis of published studies investigating the effects of herbal medicinal products on human participants. *BMC Complement Med Ther*. 2024 Nov 8;24(1):391.
4. Terzi DS. Effect of different weight initialization strategies on transfer learning for plant disease detection. *Plant Pathol*. 2024 Dec;73(9), 2325–43.
5. Wäldchen J, Mäder P. Plant species identification using computer vision techniques: A systematic literature review. *Arch Comput Methods Eng*. 2018 Jan;25(2):507–43.
6. Goëau H, Bonnet P, Joly A. Plant identification based on noisy web data: The amazing performance of deep learning (LifeCLEF 2017). *Conference and Labs of the Evaluation Forum*; 2017 [cited 2025 Jan 20]. Available from: https://ceur-ws.org/Vol-1866/invited_paper_9.pdf
7. Zhang A, Sun H, Yan G, Wang P, Wang X. Mass spectrometry-based metabolomics: applications to biomarker and metabolic pathway research. *Biomed Chromatogr*. 2016 Jan;30(1):7–12.
8. Pillai N, Dasgupta A, Sudsakorn S, Fretland J, Mavroudis PD. Machine learning guided early drug discovery of small molecules. *Drug Discov Today*. 2022 Aug;27(8):2209–15.
9. Saldívar-González FI, Aldas-Bulos VD, Medina-Franco JL, Plisson F. Natural product drug discovery in the artificial intelligence era. *Chem Sci*. 2021 Dec 13;13(6):1526–46.
10. Zhavoronkov A. Artificial intelligence for drug discovery, biomarker development, and generation of novel chemistry. *Mol Pharm*. 2018 Oct;15(10), 4311–3.
11. Duan FL, Duan CB, Xu HL, Zhao YZ, Sukhbaatar O, Gao J, et al. AI-driven drug discovery from natural products. *Advanced Agrochem*. 2024 Sep;3(3):185–7.
12. Yoo S, Yang HC, Lee S, Shin J, Min S, Lee E, et al. A deep learning-based approach for identifying the medicinal uses of plant-derived natural compounds. *Front Pharmacol*. 2020 Nov 30;11:584875.
13. Chu H, Moon S, Park J, Bak S, Ko Y, Youn BY. The use of artificial intelligence in complementary and alternative medicine: A systematic scoping review. *Front Pharmacol*. 2022 Apr 1;13:826044.
14. Ekins S. The next era: Deep learning in pharmaceutical research. *Pharm Res*. 2016 Nov;33(11):2594–603.
15. Ng JY, Cramer H, Lee MS, Moher D. Traditional, complementary, and integrative medicine and artificial intelligence: Novel opportunities in healthcare. *Integr Med Res*. 2024 Mar;13(1):101024.
16. Johnson KB, Wei WQ, Weeraratne D, Frisse ME, Misulis K, Rhee K, et al. Precision medicine, AI, and the future of personalized health care. *Clin Transl Sci*. 2021 Jan;14(1):86–93.
17. Blanco-González A, Cabezón A, Seco-González A, Conde-Torres D, Antelo-Riveiro P, Piñeiro Á, et al. The role of AI in drug discovery: Challenges, opportunities, and strategies. *Pharmaceuticals*. 2023;16(6):891.
18. Zhao Y, Yin J, Zhang L, Zhang Y, Chen X. Drug-drug interaction prediction: Databases, web servers and computational models. *Brief Bioinform*. 2023 Nov 22;25(1):bbad445.
19. Zhang Y, Man Ip C, Lai YS, Zuo Z. Overview of current herb-drug interaction databases. *Drug Metab Dispos*. 2022 Jan;50(1):86–94.
20. Mana AA, Allouhi A, Hamrani A, Rehman S, el Jamaoui I, Jayachandran K. Sustainable AI-based production agriculture: Exploring AI applications and implications in agricultural practices. *Smart Agr Technol*. 2024;7:100416.
21. Khanna A, Jain S, Maheshwari P. Precision agriculture for medicinal plants: A conjunction of technologies. 2022 International Conference on Electrical and Computing Technologies and Applications (ICECTA), Ras Al Khaimah, United Arab Emirates. 2022; 300–304 [cited 2025 Jan 20]. Available from: <http://doi.org/10.1109/ICECTA57148.2022.9990401>
22. Singh H, Bharadvaja N. Treasuring the computational approach in medicinal plant research. *Prog Biophys Mol Biol*. 2021 Sep;164:19–32.



23. Mullowney MW, Duncan KR, Elsayed SS, Garg N, van der Hoofst JJJ, Martin NI, et al. Artificial intelligence for natural product drug discovery. *Nat Rev Drug Discov.* 2023 Nov;22(11):895–916.
24. Yoo S, Yang HC, Lee S, Shin J, Min S, Lee E, et al. A deep learning-based approach for identifying the medicinal uses of plant-derived natural compounds. *Front Pharmacol.* 2020 Nov 30;11:584875.
25. Kim E, Choi AS, Nam H. Drug repositioning of herbal compounds via a machine-learning approach. *BMC Bioinformatics.* 2019 May 29;20(Suppl 10):247.
26. Topol EJ. High-performance medicine: the convergence of human and artificial intelligence. *Nat Med.* 2019 Jan;25(1):44–56.

ZDRAVILNE RASTLINE PRI MENOPAVZI: KLINIČNA UČINKOVITOST IN VARNOST

MEDICINAL PLANTS IN MENOPAUSE: CLINICAL EFFICACY AND SAFETY

AVTOR / AUTHOR:

prof. dr. Samo Kreft, mag. farm.

*Sodobna fitoterapija – farmacevtsko raziskovanje,
razvoj in svetovanje, Samo Kreft, s. p.,
Dolnje Ležeče 2A, 6215 Divača*

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: samo.kreft@gmail.com



1 UVOD

Menopavza je zadnja menstruacija v življenju ženske in običajno nastopi okoli 50. leta starosti, kar je posledica

POVZETEK

V obdobju pred menopavzo lahko nastopijo simptomi, kot so vročinski oblivi, nočno potenje, razdražljivost in težave s koncentracijo. Čeprav je hormonsko zdravljenje učinkovito, za nekatere ženske ni primerno, zato se pogosto uporabljajo tudi rastlinski pripravki. Članek podrobno analizira terapevtske učinke in varnost cimicifuge ter rastlin s fitoestrogeni, kot so soja, črna detelja, hmelj in sabljasti triplat. Obsežne klinične raziskave in metaanalize cimicifuge kažejo na njeno učinkovitost pri lajšanju menopavznih simptomov. Prav tako metaanalize potrjujejo učinke izoflavonov iz soje in črne detelje, ugotovitve pri hmelju in sabljastem triplatu pa so manj temeljite. Evropska agencija za zdravila priznava cimicifugo kot znanstveno dokazano učinkovito in varno, medtem ko drugih rastlin za namen lajšanja menopavznih simptomov še ne priporoča.

KLJUČNE BESEDE:

cimicifuga, fitoestrogeni, izoflavoni, menopavza, rastlinska zdravila

ABSTRACT

Menopause is a natural process that can cause various symptoms, such as hot flushes, night sweats, irritability, and difficulty concentrating. While hormone therapy is effective, it is not suitable for all women, leading to the frequent use of herbal preparations. This article provides a detailed analysis of the therapeutic effects and safety of black cohosh and phytoestrogen-containing plants such as soy, red clover, hops, and fenugreek. Extensive clinical studies and meta-analyses indicate the effectiveness of black cohosh in alleviating menopausal symptoms. Similarly, meta-analyses confirm the effects of isoflavones from soy and red clover, while findings on hops and fenugreek remain less conclusive. The European Medicines Agency recognizes black cohosh as scientifically proven to be effective and safe, while other plants are currently not officially recommended for managing menopausal symptoms.

KEY WORDS:

black cohosh, isoflavones, herbal medicines, menopause, phytoestrogens



zmanjšane funkcije jajčnikov. Prehod v menopavzo, imenovan perimenopavza, se lahko začne več let pred zadnjo menstruacijo in je pogosto povezan z različnimi simptomi, kot so vročinski oblivi, nočno potenje, motnje spanja, nihanje razpoloženja, razdražljivost, depresija, težave s koncentracijo, bolečine v sklepih in kosteh, glavoboli, palpitacije ter parestezije. Ti simptomi lahko pomembno vplivajo na kakovost življenja žensk v tem obdobju (1).

Za lajšanje simptomov se pogosto uporablja hormonsko nadomestno zdravljenje, ki je učinkovito pri zmanjševanju vročinskih oblivov in drugih menopavznih težavah, vendar pa je povezano tudi z določenimi tveganji in kontraindikacijami (1). Zaradi teh tveganj, pa tudi zaradi subjektivnega dožemanja naravnega izvora, se nekatere ženske odločajo za druge možnosti zdravljenja, tudi z uporabo rastlinskih pripravkov (2).

V *Farmaceutskem vestniku* je leta 2021 že objavljen pregled rastlinskih in nerastlinskih izdelkov za lajšanje različnih ženskih težav (3) ter pregled širšega nabora rastlin, ki se uporabljajo za lajšanje menopavznih težav, pri čemer je bil poudarek na njihovih učinkovinah in mehanizmih delovanja (4). V tem članku bomo podrobno analizirali manjši nabor najbolj raziskanih rastlin za lajšanje menopavznih težav, in sicer cimicifugo ter rastline s fitoestrogeni: sojo, črno deteljo in hmelj. Na kratko bomo predstavili še manj znani sabljusti triplat, ki ni bil naveden v člankih v *Farmaceutskem vestniku* leta 2021. Osredotočili se bomo na klinične podatke, varnostni profil ter upravičenost njihove uporabe. Primerjali bomo priporočila relevantnih strokovnih organizacij in združenj, kot so Evropska agencija za zdravila (EMA), Slovensko združenje za reproduktivno medicino in Slovensko menopavzno društvo.

2 CIMICIFUGA

Cimicifuga (lat. *Actaea racemosa* L., sinonim *Cimicifuga racemosa* (L.) Nutt.) je trajnica iz družine zlatičevk (lat. *Ranunculaceae*). Čeprav je družina zlatičevke velika in ima v Sloveniji 19 rodov z do 36 vrstami (5), je cimicifuga edina v fitoterapiji uporabljana vrsta, ki pa v Sloveniji ni avtohtona, če ne štejemo obrobne uporabe preobjede (6). Seznam rastlin pri Javni agenciji za zdravila in medicinske pripomočke (JAZMP) navaja za to rastlino dve možni imeni: poslovenjeno latinsko ime cimicifuga in ime grozdnata svetilka. Odločil sem se, da bom v tem članku uporabljal prvo ime,

ker je krajše, poleg tega pa izraz grozdnata svetilka etimološko ni pravilen, saj se latinski vrstni pridevek *racemosa* ne nanaša na grozdje, temveč na grozdasto socvetje in se prevaja v grozdnata (npr. *Exochorda racemosa* – grozdasta belika; *Muscari neglectum* – grozdasta hrušica), prevod grozdnata pa se uporablja za latinski pridevek *uvaria*, ki se nanaša na grozdje (npr. *Kniphofia uvaria* – grozdnata raketica) (7). Dodaten razlog za uporabo enobesednega izraza je tudi v tem, da se na izdelkih in v strokovni literaturi pojavlja več izpeljank in njihovih kombinacij, kot so gozdnata (brez črke R) in svetilka (z zamenjanima črkama I in L), kar povzroča zmedo.

Cimicifuga izvira iz Severne Amerike in tamkajšnji prebivalci so jo tradicionalno uporabljali ob različnih zdravstvenih težavah, predvsem ginekoloških, pa tudi za lajšanje simptomov menopavze. Danes se pripravki iz cimicifuge uporabljajo v številnih evropskih državah, kjer so registrirani kot zdravila rastlinskega izvora za zdravljenje menopavznih simptomov. V Združenem kraljestvu so njeni izvlečki že od leta 1968 registrirani tudi kot zdravila za simptomatsko lajšanje revmatskih bolečin (8).

2.1 KLINIČNE RAZISKAVE CIMICIFUGE

Klinične raziskave cimicifuge so se začele v 50. letih 20. stoletja, ko je dobilo v Evropi dovoljenje za promet prvo zdravilo s to rastlino (leta 1956 v Nemčiji, zdravilo Remifemin®) (9). Sprva so bile raziskave predvsem opazovalne narave. Leta 1986 je bila v Nemčiji izvedena prva randomizirana, s placebom kontrolirana klinična raziskava, s čimer se je začelo obdobje bolj sistematičnega raziskovanja varnosti in učinkovitosti te rastline. V 90. letih je prišlo do uveljavitve smernic dobre klinične prakse, kar je prispevalo k izboljšanju metodologije raziskav. Leta 1995 je bila izvedena prva klinična raziskava, osredotočena na odvisnost med odmerkom in učinkovitostjo izvlečkov cimicifuge. V obdobju od 2000 do 2015 je bilo objavljenih 28 kliničnih raziskav, v katerih je sodelovalo več kot 11.000 bolnic, od katerih jih je 93 % prejelo standardiziran izopropanolni izvleček. Največja klinična raziskava je bila izvedena v Nemčiji, kjer je bilo vključenih več kot 6.000 bolnic, pri čemer je bila varnost obravnavanih pripravkov spremljana več kot 12 mesecev (10). Metaanaliza devetih s placebom kontroliranih raziskav, objavljena leta 2013 (11), je potrdila učinkovitost izvlečkov cimicifuge za lajšanje menopavznih simptomov. Zdravljenje s cimicifugo je bilo v povprečju 38 % učinkovitejše v primerjavi s placebom ($p \leq 0,0001$). V drugi metaanalizi iz istega leta (12) so klinične raziskave ločili še glede na vrsto izvlečka in regulatorni status. Cimicifuga je

na splošno izkazala dobro do zelo dobro varnost, zlasti za organe, občutljive na estrogen (maternica in dojke), in za jetra, vendar pa so učinkovitost dokazali le pri registriranih zdravilih. Najmočnejše dokaze učinkovitosti so našli za izopropanolni izvleček, za katerega so študije vključevale več kot 11.000 bolnikov, medtem ko so npr. študije za etanolni izvleček vključevale dobrih 500 bolnikov (12).

Leto prej je bila objavljena tudi metaanaliza v okviru Cochranovega pregleda (13), ki pa je dve klinični raziskavi spregledala, med raziskave menopavznih težav je dodala še raziskave z drugačnimi indikacijami, pri katerih cimicifuga ni učinkovita, štiri raziskave pa je neupravičeno izključila. Kot razlog izključitve so navedli, da med objavljenimi podatki raziskav ni bilo standardne deviacije, brez katere naj ne bi bilo možno narediti izračunov za metaanalizo. Spregledali pa so, da so bili v raziskavah objavljeni drugi statistično enakovredni podatki (npr. interval zaupanja). Vse te pomanjkljivosti zmanjšujejo relevantnost zaključkov te raziskave, ki ni pokazala statistično pomembnega učinka cimicifuge (11).

Leta 2021 je bil opravljen sistematični pregled, v katerega so vključili 35 kliničnih raziskav in eno metaanalizo, ki so skupaj vključevale 43.759 žensk, od katerih je bilo 13.096 zdravljenih z izopropanolnim izvlečkom cimicifuge (14). Ugotovili so, da so bili nevrovegetativni in psihološki simptomi menopavze v primerjavi s placebo skupino znatno manj izraziti pri ženskah, ki so jemale izvleček. Večji odmerki izvlečka so bili učinkovitejši in pri psiholoških simptomih je bila učinkovitejša kombinacija s šentjanževko (lat. *Hypericum perforatum*). Tudi metaanaliza iz leta 2023, ki je selektivneje vključila le 22 raziskav na 2.310 ženskah, je podobno pokazala, da so v primerjavi s placebo izvlečki cimicifuge statistično pomembno izboljšali splošne menopavzne simptome, vročinske oblike in somatske simptome (15).

Leta 2010, nato pa še leta 2018 je EMA najprej izdala monografijo (8), ki potrjuje dobro uveljavljeno uporabo (angl. *well established use*; WEU) pripravkov cimicifuge pri menopavznih simptomih, pri čemer sicer ni časovne omejitve uporabe, vendar je po šestih mesecih priporočeno posvetovanje z zdravnikom. Status WEU pomeni, da obstaja dovolj objavljenih kakovostnih kliničnih raziskav, da lahko učinke smatramo znanstveno dokazane. Za nepozornega bralca je dikcija v monografiji morda nekoliko nejasna (»se ne sme uporabljati več kot 6 mesecev brez zdravniškega nasveta«), vendar je iz priloženega izvedenskega poročila jasno, da je ta nasvet posledica stališča, da je pri daljšem samozdravljenju menopavznih simptomov potreben posvet z zdravnikom (16).

2.2 VARNOST CIMICIFUGE

Leta 2006 je EMA objavila izjavo za javnost (17), v kateri je ocenila 42 poročil hepatotoksičnosti, ki so bila zbrana iz evropskih nacionalnih pristojnih organov (34 primerov) ter iz literature (8 primerov). Med njimi je bilo 26 primerov preslabo dokumentiranih, pri petih primerih so lahko ocenili, da cimicifuga ni bila povezana s poškodbami jeter, pri sedmih primerih je bila povezava malo verjetna, le pri štirih je bila povezava možna. Uporabnicam cimicifuge so v tem dokumentu svetovali, naj bodo pozorne na morebiten pojav težav z jetri, zdravnikom in pristojnim organom pa naročili, naj dosledno poročajo o morebitnih težavah. Na podlagi tega poziva je bila kmalu objavljena raziskava (18), v kateri so jetrne teste opravili pri 107 ženskah, ki so več kot eno leto uporabljale ekstremno velike odmerke 500 do 1000 mg suhega izvlečka cimicifuge (običajen terapevtski odmerek je 5 mg suhega izvlečka dnevno). Jetrni testi niso pokazali nobenih sprememb niti pri ženskah, ki so imele okvare jeter že pred začetkom jemanja te rastline. Tudi sistematični pregled raziskav na vzorcu 43.759 žensk ni pokazal nobenih sumov hepatotoksičnosti (14). Na podlagi teh novejših podatkov o varnosti EMA v svojih monografijah iz leta 2010 in 2018 ni odsvetovala uporabe pripravkov iz cimicifuge niti bolnicam, ki so v preteklosti že imele jetrna obolenja, ampak jim je svetovala le previdnost (8, 19).

Ker mehanizem delovanja cimicifuge ni povsem raziskan in ker je hormonsko nadomestno zdravljenje kontraindicirano pri bolnicah s hormonsko odvisnim rakom, se je že zgodaj postavilo teoretično vprašanje, ali ima morda tovrstne vplive na spolne hormone tudi cimicifuga. Temu vprašanju se je posvetilo več predkliničnih (20) in kliničnih raziskav (21) na vzorcu bolnic z rakom, in njihovi rezultati so tovrstne nevarnosti ovrgli. Opazili so celo, da cimicifuga deluje zaščitno in za 20 oz. 17 % zmanjša verjetnost za pojav oz. ponovitev raka na dojkah (9, 18). Tudi sistematični pregled raziskav na vzorcu 43.759 žensk je pokazal, da so ostale ravni hormonov nespremenjene, na estrogen občutljiva tkiva (npr. dojke, endometriji) pa niso bila spremenjena (14). Ena od raziskav na miših, je pokazala, da cimicifuga nima vpliva na pojavnost raka na dojkah, ima pa vpliv na napredovanje bolezni, ko se tumor pojavi (23). Na podlagi teh rezultatov lahko zaključimo, da koristi uporabe izvlečka cimicifuge presegajo tveganja, zato se njihova uporaba priporoča za zdravljenje menopavznih simptomov (14). Pod zdravniškim nadzorom se uporaba priporoča tudi bolnicam s hormonsko odvisnim rakom (8).



3 FITOESTROGENI

Fitoestrogeni so rastlinske spojine, ki po kemijski strukturi niso steroidi, kljub temu pa v telesu delujejo kot agonisti estrogenskih receptorjev. Čeprav fitoestrogeni delujejo kot agonisti estrogenskih receptorjev, njihov učinek ni identičen endogenim estrogenom. Razloga za razlike sta dva: i) nekateri fitoestrogeni delujejo selektivno na določene tipe estrogenskih receptorjev (ER), selektivno na tip beta (ER β), nizek učinek na tip alfa (ER α), kar so izmerili tudi raziskovalci Univerze v Ljubljani, Fakultete za farmacijo (24), in ii) fitoestrogeni imajo tudi druga prijemališča. Med najpomembnejše skupine fitoestrogenov sodijo izoflavoni, lignani, elagitanini in kumestani, ki jih najdemo v različnih rastlinskih vrstah, kot so soja, črna detelja, lan in hmelj. Zanimivo je, da je pri vseh glavnih skupinah fitoestrogenov, ne glede na njihovo kemijsko raznolikost, za fitoestrogenski učinek pomembno, da jih črevesne bakterije pretvorijo v aktivne oblike. Sestava mikrobiote lahko vpliva na posameznikovo sposobnost presnove fitoestrogenov in s tem na njihovi biološki učinkovitosti (25). V nadaljevanju povzemamo informacije o kliničnih učinkih in varnosti nekaterih najpomembnejših rastlin s fitoestrogenim učinkom.

3.1 SOJA

Soja (lat. *Glycine max* (L.) Merr.) je priljubljena stročnica, ki se uporablja v prehrani. Tudi v fitoterapiji se uporabljajo semena oz. izvlečki iz njih, ki so bogati z izoflavoni. Med sojinimi izoflavoni ima genistein najmočnejšo afiniteto za vezavo na ER, sledi mu daidzein. Genistein je zelo selektiven agonist, saj se veže na ER β s 30-krat nižjo afiniteto kot 17 β -estradiol in na tip ER α z 10.000-krat nižjo afiniteto (24, 26).

V obsežni literaturi o sojinih izoflavonih so ugotovitve neenotne. Metaanaliza randomiziranih kontroliranih raziskav iz leta 2012 (27), ki je vključevala 17 raziskav, je pokazala, da so izoflavoni v medianem odmerku 54 mg aglikonskih ekvivalentov, zaužiti v obdobju od šestih tednov do enega leta, pogostost vročinskih oblivov značilno zmanjšali za 20,6 %, njihovo intenzivnost pa za 26,6 %. V najnovejši metaanalizi iz leta 2024 (28), ki je selektivno vključevala le pet študij, opravljenih s skupno 425 ženskami v menopavzi, je prišlo do 50-odstotnega izboljšanja menopavznih simptomov, ki pa ni bilo statistično pomembno, in do statistično pomembnega 41-odstotnega izboljšanja depresije.

Leta 2016 sem sodeloval v skupini strokovnjakov iz petih evropskih držav, ki je pripravila t. i. konsenz (29), da so praktično vse študije z ustreznim protokolom pokazale ugodne rezultate v prid izoflavonov. Obsežni razpoložljivi podatki na ljudeh ne kažejo suma škodljivih učinkov zaradi morebitne interakcije izoflavonov s hormonsko občutljivimi tkivi. Varnost je bila potrjena pri dolgotrajnem več kot tri-letnem vnosu 150 mg izoflavonov na dan. Poleg tega je bilo ugotovljeno, da velik vnos izoflavonov deluje preventivno proti raku dojk. Klinične ugotovitve kažejo na možne koristi izpostavljenosti izoflavonom celo med zdravljenjem raka dojk s tamoksifenom ali anastrozolum (29). EMA je v izjavi za javnost iz leta 2018 navedla, da klinični podatki o uporabi izvlečkov soje ne zadoščajo za sprejetje monografije z uporabo WEU, prav tako pa ni dovolj dokumentacije za tradicionalno rabo (30).

3.2 ČRNA DETELJA

Črna detelja (lat. *Trifolium pratense* L.) spada v družino metuljnic (lat. *Fabaceae*). Ker se ta rastlina v angleščini imenuje »red clover«, je tudi v slovenskih besedilih in celo izdelkih na slovenskem tržišču večkrat predstavljena s tem napačnim imenom. Ime »rdeča detelja« se namreč v slovensščini nanaša na drugo vrsto detelje, ki pa ni terapevtsko uporabna.

Črna detelja vsebuje izoflavone, ki jim pripisujemo večinski pomen pri terapevtskih učinkih. Največ jih je v listih, trikrat manj pa tudi v cvetovih (31). Žal metaanalize, večina kliničnih raziskav in večina izdelkov na tržišču ne navajajo podatka, iz katerega dela rastline so bili pridobljeni izvlečki, kar je velika pomanjkljivost za interpretacijo rezultatov in za sklepanje iz rezultatov raziskav o pričakovanih učinkih izdelkov na tržišču. Deloma je ta pomanjkljivost zmanjšana, če je v raziskavi in izdelku navedena točna količina izoflavonov.

Sistematični pregled in metaanaliza iz leta 2021 (32) sta vključila randomizirane kontrolirane raziskave o uporabi izvlečka črne detelje pri ženskah v menopavzi. Učinkovitost je bila analizirana v osmih kliničnih raziskavah (skupno 1043 udeleženk), ki so ustrezale kakovostnim kriterijem. V večini teh raziskav so udeleženske prejemale izvleček črne detelje s 40–80 mg izoflavonov dnevno. Pogostost vročinskih oblivov se je zmanjšala za 1,73 oblivov na dan. Menopavzni simptomi so se zmanjšali pri ocenjevanju Kuppermanovega menopavznega indeksa in lestvice menopavznih simptomov, ne pa tudi pri Greenejevi klimakterični lestvici. Najboljši učinek je bil opažen pri ženskah, ki so imele več kot pet vročinskih oblivov na dan, pri odmerkih nad 80 mg na dan

in pri pripravkih z višjo vsebnostjo biohanina A. Neželenih učinkov pri tej metaanalizi niso obravnavali. EMA še ni pripravila monografije o tej rastlini.

3.3 HMELJ

Hmelj (lat. *Humulus lupulus* L.) je ovijalka iz družine konopljevke (lat. *Cannabaceae*), torej iste družine kot konoplja. V fitoterapiji in tudi pivovarstvu se uporabljajo hmeljeva ženska socvetja. Že tradicionalno je veljalo, da ima hmelj močno estrogensko aktivnost, saj so ženske, ki so obirale hmelj, začele z menstrualnimi krvavitvami že dva dni po začetku obiranja, kasnejše raziskave pa so to potrdile (33). Terapevtski učinek pripisujemo prenilflavonoidom (34).

V prospektivni, randomizirani, dvojno slepi, s placebom nadzorovani raziskavi (12 tednov, 67 žensk po menopavzi) je bil ocenjen izvleček hmelja, standardiziran na 8-prenilnaringenin (35). Vse skupine so pokazale zmanjšanje menopavznih simptomov po 6 in 12 tednih. Pri nižjem odmerku je bil učinek statistično značilen po 6 tednih, ne pa tudi po 12 tednih. Odnosa med odmerkom in odzivom ni bilo mogoče ugotoviti, saj je bil višji odmerek manj učinkovit od nižjega. V raziskavi na vzorcu 36 žensk niso ugotovili statistično pomembnih sprememb v simptomih (36). V 90-dnevni raziskavi na vzorcu 120 žensk (40–60 let) so tablete s 500 mg hmelja znatno zmanjšale simptome menopavze in vročinske oblike (37).

Čeprav je bilo izvedenih nekaj kliničnih raziskav, ki kažejo obetavne učinke hmelja pri lajšanju menopavznih težav, njihova velikost in kakovost pogosto nista bili na ustrezni ravni, zato EMA izvlečkov hmelja ne svetuje pri tej indikaciji, temveč le kot tradicionalno zdravilo proti nespečnosti in stresu (38). Na slovenskem tržišču ni nobenega zdravila s hmeljem.

3.4 SABLJASTI TRIPLAT

Sabljasti triplat (lat. *Trigonella foenum-graecum* L.) je metuljnica, ki raste v Sredozemlju, severni Afriki in Indiji, kjer se uporablja kot začimba in zdravilna rastlina, ki ji pripisujejo številne učinke (39).

Raziskava iz leta 2006, v kateri so po menopavzi ženskam osem tednov dajali 6 g prahu semen sabljastega triplata, je pokazala izboljšanje vročinskih oblikov in nočnega znojenja (40). V novejši randomizirani, dvojno slepi, s placebom nadzorovani raziskavi iz leta 2020, ki je vključevala le 48 žensk in je trajala le en mesec in pol, so to potrdili (41). Farmakološke raziskave kažejo na fitoestrogenski učinek sabljastega triplata (42). Raziskav je še premalo, zato je EMA sabljati triplat opredelila le kot tradicionalno zdravilo za povečevanje apetita in zdravljenje kožnih težav (43).

4 PRIPOROČILA STROKOVNIH ORGANIZACIJ

EMA v svojih monografijah navaja, da izvlečki korenine cimicifuge znanstveno dokazano (status WEU) lajšajo menopavzne težave, kot so vročinski oblivi in močno potenje (8). Za hmelj in sabljasti triplat je v monografijah navedena tradicionalna raba, vendar za druge indikacije, ki niso neposredno povezane z menopavzo (38, 43). Črna detelja še nima monografije, za sojo pa je EMA napisala izjavo za javnost, v kateri pojasnjuje, da zaradi pomanjkanja raziskav in podatkov o tradicionalni rabi ne bo pripravila monografije (30).

Strokovno stališče Slovenskega združenja za reproduktivno medicino o menopavzni medicini iz leta 2024 ne omenja zdravil rastlinskega izvora (44), pravi pa, da »se prehrana in prehranska dopolnila danes ne priporočajo več kot možna oblika lajšanja vazomotoričnih simptomov« tudi v primerih kontraindicirane hormonske terapije, pri čemer omenja prehranska dopolnila (ne pa zdravil) s sojinimi izoflavoni, cimicifugo, maco, Dong quai, svetlinovim oljem, ginsengom, kanabinoidi, vitaminom E in omega-3 maščobnimi kislinami. Strokovna priporočila o menopavzni medicini, ki sta jih leta 2021 izdala Slovensko menopavzno društvo in Zdravniška zbornica Slovenije (1), o cimicifugi navajajo priporočila skupaj s kategorijo kakovosti dokazov in ravniyo zanesljivosti priporočila. Spodaj navajamo priporočila in kategorije/ravni zanesljivosti. Kvaliteta dokazov je v skladu z Oxfordsko lestvico razvrščena v kategorije 1a, 1b, 2a 2b itn. do 5, kjer 1a pomeni vsaj eno metaanalizo, 1b vsaj eno dobro zasnovano randomizirano klinično študijo, 2a sistematični pregled kohortnih študij, 2b posamezno kohortno študijo ali slabo zasnovano randomizirano klinično študijo. Ravni zanesljivosti priporočil so označene od A do D, pri čemer A pomeni najvišjo stopnjo zanesljivosti.

- Cimicifuga je učinkovita pri odpravljanju klimakteričnih težav (kategorija 1b, raven A).
 - Kombinacija cimicifuge s šentjanževko je pri odpravljanju psihičnih menopavznih težav učinkovitejša kot placebo in/ali CR (kategorija 1b, raven A).
 - Cimicifuga ni pokazala škodljivih vplivov, njena raba je ob upoštevanju priporočil glede dolžine uporabe varna (kategorija 1a, raven A).
 - Cimicifuga se je izkazala kot varna tudi glede vpliva na estrogensko odzivno tkivo človeškega telesa (kategorija 1a, raven A).
- O izoflavonih ta priporočila navajajo:
- Izoflavoni so učinkoviti pri odpravljanju klimakteričnih težav (kategorija 1b, raven A).



- Za doseg največjega učinka je potreben daljši čas kot pri estrogenu (kategorija 1a, raven A).
- Izsledki opazovalnih/intervencijskih raziskav niso podprli hipoteze o rabi izoflavonov in povečanem tveganju za raka dojke (kategorija 2b, raven B).

5 SKLEP

Številne klinične raziskave in metaanalize potrjujejo učinkovitost cimicifuge pri lajšanju menopavznih simptomov. Tudi učinkovitost izoflavonov iz soje in črne detelje je z dokazi podprta, medtem ko so raziskave o delovanju hmelja in sabljastega triplata manj obsežne in dosledne. Kot pri vseh izdelkih rastlinskega izvora priporočamo tudi za lajšanje menopavznih težav predvsem uporabo tistih s statusom zdravila.

6 LITERATURA

- Mlinarič M, Arko D, Barbič M, Pretnar - Darovec A, Darovec J, Geršak K, et al. Strokovna priporočila o menopavzni medicini. Slov menopavzno društvo Zdr Zb Slov. 2021;1–24.
- Kenda M, Kočevar Glavač N, Nagy M, Sollner Dolenc M. Herbal Products Used in Menopause and for Gynecological Disorders. *Molecules* [Internet]. 2021 Dec 8;26(24):7421. Available from: <https://www.mdpi.com/1420-3049/26/24/7421>
- Tomašič M. Zdravila brez recepta in prehranska dopolnila za ženske težave. *Farm Vestn* [Internet]. 2021;360–7. Available from: <http://www.dlib.si/details/URN:NBN:SI:doc-P027Tl6X>
- Gregorič K, Lanišnik-Rižner T, Sinreih M. Rastlinski pripravki za lajšanje simptomov menopavze. *Farm Vestn*. 2021;72:125–131.
- Martinčič A, Sušnik F. MALA FLORA SLOVENIJE - Praprotnice in semenke. DZS; 1984.
- Povšnar M, Koželj G, Kreft S, Lumpert M. Rare tradition of the folk medicinal use of *Aconitum* spp. is kept alive in Solčavsko, Slovenia. *J Ethnobiol Ethnomed* [Internet]. 2017 Dec 8;13(1):45. Available from: <http://ethnobiomed.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13002-017-0171-x>
- Botanični vrt Univerze v Ljubljani. Iskanje rastlin [Internet]. Available from: <https://www.botanicni-vrt.si/component/search/>
- European Medicines Agency. European Union herbal monograph on *Cimicifuga racemosa* (L.) Nutt., rhizoma Final. *Ema/Hmpc/48745/2017*. 2018;
- Henneicke-von Zepelin H-H. 60 years of *Cimicifuga racemosa* medicinal products. *Wiener Medizinische Wochenschrift* [Internet]. 2017 May 2;167(7–8):147–59. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s10354-016-0537-z>
- Briese V, Stammwitz U, Friede M, Henneicke-von Zepelin H-H. Black cohosh with or without St. John's wort for symptom-specific climacteric treatment—Results of a large-scale, controlled, observational study. *Maturitas* [Internet]. 2007 Aug;57(4):405–14. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S037851220700165X>
- Beer AM, Osmers R, Schnitker J, Bai W, Mueck AO, Meden H. Efficacy of black cohosh (*Cimicifuga racemosa*) medicines for treatment of menopausal symptoms—comments on major statements of the Cochrane Collaboration report 2012 “black cohosh (*Cimicifuga* spp.) for menopausal symptoms (review).” *Gynecol Endocrinol*. 2013;29(12):1022–5.
- Beer AM, Neff A. Differentiated evaluation of extract-specific evidence on *cimicifuga racemosa*'s efficacy and safety for climacteric complaints. *Evidence-based Complement Altern Med*. 2013;2013.
- Leach MJ, Moore V. Black cohosh (*Cimicifuga* spp.) for menopausal symptoms. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2012 Sep 12;2012(10). Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD007244.pub2>
- Castelo-Branco C, Gambacciani M, Cano A, Minkin MJ, Rachoń D, Ruan X, et al. Review & meta-analysis: isopropanolic black cohosh extract iCR for menopausal symptoms—an update on the evidence. *Climacteric* [Internet]. 2021;24(2):109–19. Available from: <https://doi.org/10.1080/13697137.2020.1820477>
- Sadahiro R, Matsuoka LN, Zeng B-S, Chen K-H, Zeng B-Y, Wang H-Y, et al. Black cohosh extracts in women with menopausal symptoms: an updated pairwise meta-analysis. *Menopause* [Internet]. 2023 Jul;30(7):766–73. Available from: <https://journals.lww.com/10.1097/GME.0000000000002196>
- Knöss W. Assessment report on *Cimicifuga racemosa* (L.) Nutt., rhizoma. Eur Med Agency - Comm Herb Med Prod [Internet]. 2010;EMA/HMPC/3(March). Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Herbal_-HMPC_assessment_report/2011/05/WC500106358.pdf
- European Medicines Agency. EMEA Public Statement on Herbal Medicinal Products containing *Cimicifuga Racemosa* rhizome - Serious hepatic reactions. 2006;46. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Public_statement/2009/12/WC500016766.pdf
- Firenzuoli F, Gori L, di Sarsina PR. Black Cohosh Hepatic Safety: Follow-Up of 107 Patients Consuming a Special *Cimicifuga racemosa* rhizome Herbal Extract and Review of Literature. *Evidence-Based Complement Altern Med* [Internet]. 2011;2011:1–7. Available from: <http://www.hindawi.com/journals/ecam/2011/821392/>
- European Medicines Agency. European Union herbal monograph on *Cimicifuga racemosa* (L.) Nutt., rhizoma Final. 2010;
- Nißein T, Freudenstein J. Concomitant administration of an isopropanolic extract of black cohosh and tamoxifen in the in vivo tumor model of implanted RUCa-I rat endometrial adenocarcinoma cells. *Toxicol Lett* [Internet]. 2004 May;150(3):271–5. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S037842740400061X>
- Li W. *Cimicifuga racemosa* for treatment of menopausal symptoms in patients with early endometrial cancer after operation. *Acad J Second Mil Med Univ* [Internet]. 2012;562–4. Available from: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/wpr-839725>
- Obi N, Chang-Claude J, Berger J, Braendle W, Slinger T, Schmidt M, et al. The Use of Herbal Preparations to Alleviate

- Climacteric Disorders and Risk of Postmenopausal Breast Cancer in a German Case-Control Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* [Internet]. 2009 Aug 1;18(8):2207–13. Available from: <https://aacrjournals.org/cebip/article/18/8/2207/67734/The-Use-of-Herbal-Preparations-to-Alleviate>
23. Davis VL, Jayo MJ, Ho A, Kotlarczyk MP, Hardy ML, Foster WG, et al. Black Cohosh Increases Metastatic Mammary Cancer in Transgenic Mice Expressing c-erbB2. *Cancer Res* [Internet]. 2008 Oct 15;68(20):8377–83. Available from: <https://aacrjournals.org/cancerres/article/68/20/8377/541690/Black-Cohosh-Increases-Metastatic-Mammary-Cancer>
 24. Gramec Skledar D, Tvrdý V, Kenda M, Zega A, Pour M, Horký P, et al. Applicability of the OECD 455 in-vitro assay for determination of hERa agonistic activity of isoflavonoids. *Toxicol Appl Pharmacol* [Internet]. 2020 Jan;386:114831. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0041008X19304399>
 25. Stojanov S, Kreft S. Gut Microbiota and the Metabolism of Phytoestrogens. *Rev Bras Farmacogn* [Internet]. 2020 Apr 16;30(2):145–54. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s43450-020-00049-x>
 26. Claeson P, Svedlund E. Assessment report on Glycine max (L.) Merr., semen. 2018;44(June):1–40. Available from: www.ema.europa.eu/contact
 27. Taku K, Melby MK, Kronenberg F, Kurzer MS, Messina M. Extracted or synthesized soybean isoflavones reduce menopausal hot flash frequency and severity. *Menopause* [Internet]. 2012 Jul;19(7):776–90. Available from: <https://journals.lww.com/00042192-201207000-00011>
 28. Gencturk N, Bilgic FŞ, Kaban HU. The effect of soy isoflavones given to women in the climacteric period on menopausal symptoms and quality of life: Systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *EXPLORE* [Internet]. 2024 Nov;20(6):103012. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1550830724000922>
 29. Schmidt M, Arjomand-Wölkart K, Birkhäuser MH, Genazzani AR, Gruber DM, Huber J, et al. Consensus: soy isoflavones as a first-line approach to the treatment of menopausal vasomotor complaints. *Gynecol Endocrinol* [Internet]. 2016 Jun 2;32(6):427–30. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/09513590.2016.1152240>
 30. European Medicines Agency. Public statement on Glycine max (L.) Merr., semen. 2018;44(June).
 31. Mikulić M, Atanacković Krstonošić M, Kladar N, Vasiljević S, Katanski S, Mamlić Z, et al. Phytochemical Composition of Different Red Clover Genotypes Based on Plant Part and Genetic Traits. *Foods* [Internet]. 2023 Dec 28;13(1):103. Available from: <https://www.mdpi.com/2304-8158/13/1/103>
 32. Kanady W, Barańska A, Błaszczuk A, Polz-Dacewicz M, Drop B, Kanecki K, et al. Evaluation of Clinical Meaningfulness of Red Clover (*Trifolium pratense* L.) Extract to Relieve Hot Flushes and Menopausal Symptoms in Peri- and Post-Menopausal Women: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Nutrients* [Internet]. 2021 Apr 11;13(4):1258. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6643/13/4/1258>
 33. Koch W, Heim G. Estrogens in hops and beer; preliminary report. *Munch Med Wochenschr* [Internet]. 1953 Jul 31;95(31–32):845. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13087082>
 34. Milligan SR, Kalita JC, Heyerick A, Rong H, De Cooman L, De Keukeleire D. Identification of a Potent Phytoestrogen in Hops (*Humulus lupulus* L.) and Beer. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 1999 Jun 1;84(6):2249–2249. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article/84/6/2249/2864760>
 35. Heyerick A, Vervarcke S, Depypere H, Bracke M, Keukeleire D De. A first prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled study on the use of a standardized hop extract to alleviate menopausal discomforts. *Maturitas* [Internet]. 2006 May;54(2):164–75. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378512205002823>
 36. Erkkola R, Vervarcke S, Vansteelandt S, Rompotti P, De Keukeleire D, Heyerick A. A randomized, double-blind, placebo-controlled, cross-over pilot study on the use of a standardized hop extract to alleviate menopausal discomforts. *Phytomedicine* [Internet]. 2010 May;17(6):389–96. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0944711310000231>
 37. Aghamiri V, Mirghafourvand M, Mohammad-Alizadeh-Charandabi S, Nazemiyeh H. The effect of Hop (*Humulus lupulus* L.) on early menopausal symptoms and hot flashes: A randomized placebo-controlled trial. *Complement Ther Clin Pract* [Internet]. 2016 May;23:130–5. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1744388115000390>
 38. European Medicines Agency. Community herbal monograph on *Humulus lupulus* L., flos. 2014;44(May):0–6. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-monograph/final-community-herbal-monograph-humulus-lupulus-l-flos_en.pdf
 39. Nagulapalli Venkata KC, Swaroop A, Bagchi D, Bishayee A. A small plant with big benefits: Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* Linn.) for disease prevention and health promotion. *Mol Nutr Food Res* [Internet]. 2017 Jun 27;61(6). Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mnfr.201600950>
 40. Hakimi S, Mohammad Alizadeh S, Delazar A, Abbasalizadeh F, Bamdad Mogaddam R, Siiahi MR, et al. Probable Effects of Fenugreek Seed on Hot Flash in Menopausal Women. *J Med Plants* [Internet]. 2006;5(19). Available from: <http://jmp.ir/article-1-658-en.html>
 41. Khanna A, John F, Das S, Thomas J, Rao J, Maliakel B, et al. Efficacy of a novel extract of fenugreek seeds in alleviating vasomotor symptoms and depression in perimenopausal women: A randomized, double-blinded, placebo-controlled study. *J Food Biochem* [Internet]. 2020 Dec 6;44(12). Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jfbc.13507>
 42. Thomas J V., Rao J, John F, Begum S, Maliakel B, IM K, et al. Phytoestrogenic effect of fenugreek seed extract helps in ameliorating the leg pain and vasomotor symptoms in postmenopausal women: A randomized, double-blinded, placebo-controlled study. *PharmaNutrition* [Internet]. 2020 Dec;14:100209. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213434420300347>
 43. European Medicines Agency. European Union herbal monograph on *Trigonella foenum-graecum* L., semen. 2021;31(November 2021). Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-monograph/draft-european-union-herbal-monograph-trigonella-foenum-graecum-l-semen-revision-1_en.pdf
 44. Franić D, Pinter B, Vlasisavljević V, Smovršnik T, Šabović M, Nikolajević J, et al. Strokovna stališča Slovenskega združenja za reprodukativno medicino (SZRM) o menopavzni medicini. *Slov Med J*. 2024;93(c):1–12.



RNA KOT TERAPEVTSKA TARČA: PRILOŽNOSTI IN OMEJITVE V SODOBNI MEDICINI

RNA AS A THERAPEUTIC TARGET: OPPORTUNITIES AND LIMITATIONS IN MODERN MEDICINE

AVTORJI / AUTHORS:

asist. Petra Seliškar, mag. farm.

izr. prof. dr. Martina Hrast Rambaher, mag. farm.

izr. prof. dr. Janez Mravljak, mag. farm.

*Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,
Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana*

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: petra.seliskar@ffa.uni-lj.si



POVZETEK

RNA je ključna biomolekula, ki poleg prenosa genetskih informacij uravnava celične procese in je pomembna terapevtska tarča. Njene regulatorne sposobnosti vključujejo utišanje genov ter usmerjanje epigenetskih modifikacij, kar omogoča razvoj zdravil, kot so protismiselni oligonukleotidi, male interferenčne RNA in aptameri. Protismiselni oligonukleotidi in male interferenčne RNA utišajo informacijsko RNA z vezavo na komplementarna zaporedja, medtem ko aptameri zavirajo interakcije med proteini. Kemijske modifikacije povečujejo stabilnost teh učinkovin. Določanje struktur RNA z metodami, kot so jedrska magnetna resonanca, krioelektronska mikroskopija in sekvenciranje, je ključno za razvoj terapij. Izzivi pri razvoju terapij RNA vključujejo dinamično naravo RNA, omejeno kemijsko raznolikost ter težave pri selektivnem ciljanju.

KLJUČNE BESEDE:

aptameri, male molekule, RNA, siRNA, terapevtski oligonukleotidi

ABSTRACT

RNA is a vital biomolecule that regulates cellular processes and therefore serves as a key therapeutic target. Its regulatory abilities include gene silencing and guiding epigenetic modifications, enabling the development of drugs like antisense oligonucleotides, small interference RNAs, and aptamers. Antisense oligonucleotides and small interference RNAs silence mRNA by binding to complementary sequences, while aptamers inhibit protein-protein interactions. Chemical modifications enhance the stability of these agents. Determining RNA structures using techniques such as nuclear magnetic resonance, cryogenic electron microscopy and sequencing is crucial for therapy development. Challenges in developing RNA-based therapies include RNA's dynamic nature, limited chemical diversity, and difficulties in selective targeting.

KEY WORDS:

aptamers, RNA, small molecules, therapeutic oligonucleotides

1 UVOD

Ribonukleinska kislina, bolj znana kot RNA, je temeljna biomolekula, sestavljena iz nukleotidnih gradnikov. Deluje kot prenašalec genetskih informacij in funkcionalni regulator v celičnih procesih. Strukturno je sestavljena iz riboznega sladkornega ogrodja, fosfatnih skupin in štirih dušikovih baz: adenina, gvanina, citozina in uracila (slika 1A in 1B). Prisotnost uracila namesto timina in sladkorja riboze namesto deoksiriboze loči RNA od deoksiribonukleinske kisline (DNA). Ta edinstvena kemijska sestava omogoča RNA, da se zvije v tridimenzionalne strukture, kar omogoča interakcije s proteini, DNA in drugimi molekulami RNA, kar je ključnega pomena za njene številne funkcije v bioloških procesih (1, 2).

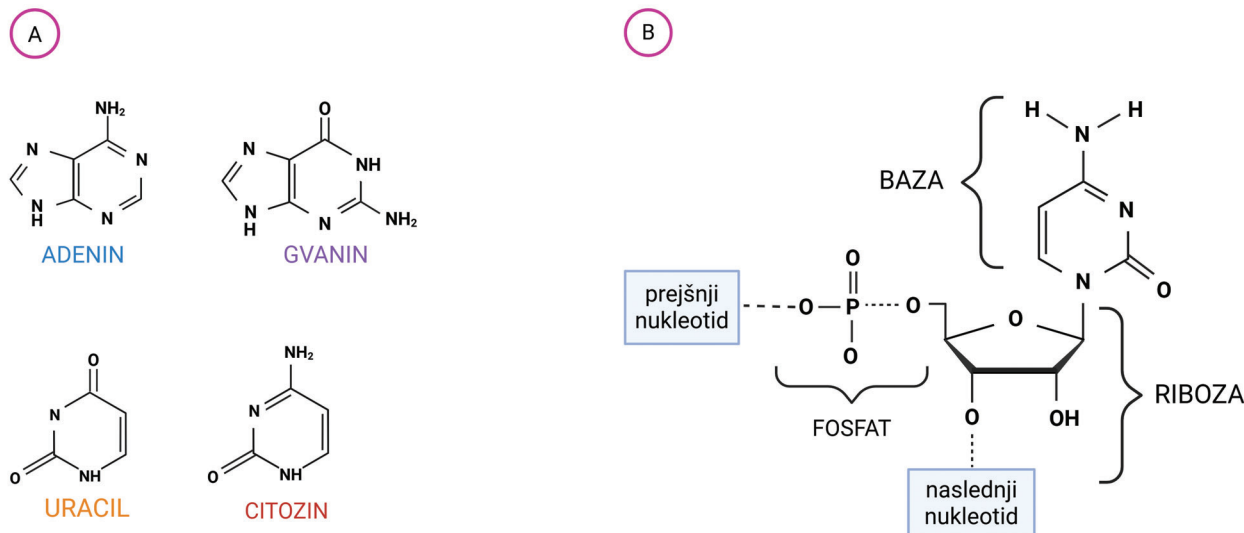
Obstaja več glavnih vrst RNA, vsaka s svojimi značilnimi funkcijami. Informacijska RNA (mRNA) prenaša genetske informacije iz DNA do ribosomov za sintezo proteinov, prenašalna RNA (tRNA) prinaša aminokislino do ribosomov med sintezo proteinov, ribosomska RNA (rRNA) tvori del strukture ribosomov in katalizira tvorbo peptidnih vezi ter nekodirajoče RNA (1). Slednje vključujejo regulatorne RNA, kot so mikroRNA (miRNA) in dolge nekodirajoče RNA

(lncRNA), ki uravnavajo izražanje genov preko interakcije z mRNA, kromatinom ali proteini (1).

2 FUNKCIJE RNA

RNA ima poleg svojih osnovnih funkcij tudi izjemno prilagodljivost. Nekatere molekule RNA, imenovane ribocimi, imajo katalitične lastnosti, kar pomeni, da lahko pospešujejo biokemične reakcije, kot je izrezovanje RNA (angl. *RNA splicing*). Poleg tega RNA tvori tudi genetski material pri različnih virusih, vključno s SARS-CoV-2 in virusom gripe, ki za razmnoževanje in okužbo uporabljajo izključno RNA (3, 4).

Pomembne so tudi regulatorne sposobnosti RNA. Z interakcijami baznih parov med seboj ali z drugimi nukleinskimi kisljinami lahko molekule RNA uravnavajo izražanje genov. Ta lastnost je osnova za mehanizme, kot sta RNA-interferenca (utišanje genov s pomočjo malih interferenčnih RNA, siRNA) in epigenetske modifikacije, ki jih usmerjajo lncRNA. Ta raznolikost funkcij kaže na ključno vlogo RNA v celičnih procesih in poudarja njen pomen kot terapevtsko tarčo za razvoj novih zdravil (5).



Slika 1: (A) Štiri nukleinske baze, ki jih najdemo v RNA. (B) Primer posameznega nukleotida znotraj verige RNA. Povzeto po (1). Slika je bila ustvarjena s programom Biorender.

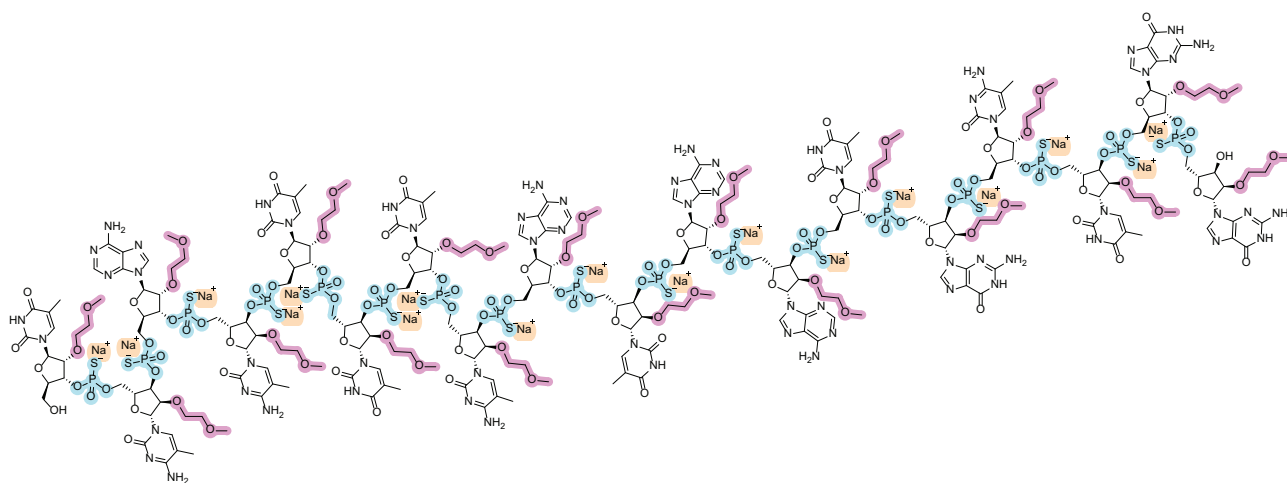
Figure 1: (A) The four nucleic bases found in RNA molecules. (B) Example of a single RNA nucleotide within an RNA chain. Adapted from (1). Created in Biorender.



3 MEHANIZMI DELOVANJA UČINKOVIN NA RNA

Približno 75 % človeškega genoma, ki se prepiše v RNA, predstavlja ogromno področje potencialnih tarč, predvsem zaradi funkcionalne raznolikosti RNA. Medtem ko se le 1,5 % genoma prevede v proteine, molekule RNA opravljajo številne druge vloge, ki jih je mogoče izkoristiti za razvoj terapevtskih spojin (6, 7). RNA lahko moduliramo kot terapevtsko tarčo z različnimi strategijami, ki izkoriščajo njene strukturne in funkcionalne vloge v mehanizmih razvoja bolezni. Trenutno odobreni terapevtski oligonukleotidi na trgu so razdeljeni v tri razrede z različnimi mehanizmi delovanja: protismiselni oligonukleotidi (ASO), siRNA in aptameri. Poleg oligonukleotidov so na trgu in v kliničnem razvoju tudi male molekule, ki delujejo na RNA in modulirajo njeno funkcijo. Med zdravilnimi učinkovinami, ki sta jih odobrila Ameriški vladni urad za zdravila in prehrano (FDA) in Evropska agencija za zdravila (EMA), sta tudi nu-

sinersen (slika 2) za zdravljenje spinalne mišične atrofije in patisiran za zdravljenje dedne transtiretinske amiloidoze. Prvi sodi med ASO in se veže na nezrelo mRNA, ki zapisuje mutirani protein za preživetje motoričnih nevronov (SMN2), s tem uravnava njeno izrezovanje in omogoča povečano prevajanje celotnega proteina. Patisiran na drugi strani sodi med siRNA ter z vezavo na mutirano mRNA divjega tipa za transtiretin sproži razpad te mRNA ter tako zmanjša kopičenje transtiretina in s tem zadrževanje amiloidnih delcev v tkivih in organih. Nasploh so ASO kratke, kemijsko spremenjene verige nukleotidov, ki jih oblikujemo tako, da se vežejo na tarčno mRNA. Delujejo na tri glavne načine. Prvi je preko razgradnje mRNA. Če se ASO veže na tarčno mRNA, lahko aktivira encim RNaza H, ki razgradi mRNA in tako prekine sintezo beljakovine. Naslednji način je preskakovanje eksonov. Z vezavo na pre-RNA namreč lahko ASO spremenijo njeno procesiranje, kar povzroči izključitev določenih eksonov in spremeni končno obliko mRNA; to je še posebej uporabno pri zdravljenju genetskih bolezni, ki so posledica mutacij v eksonih. Zadnji način delovanja je s sterično blokado. S fizičnim zaviranjem določenih



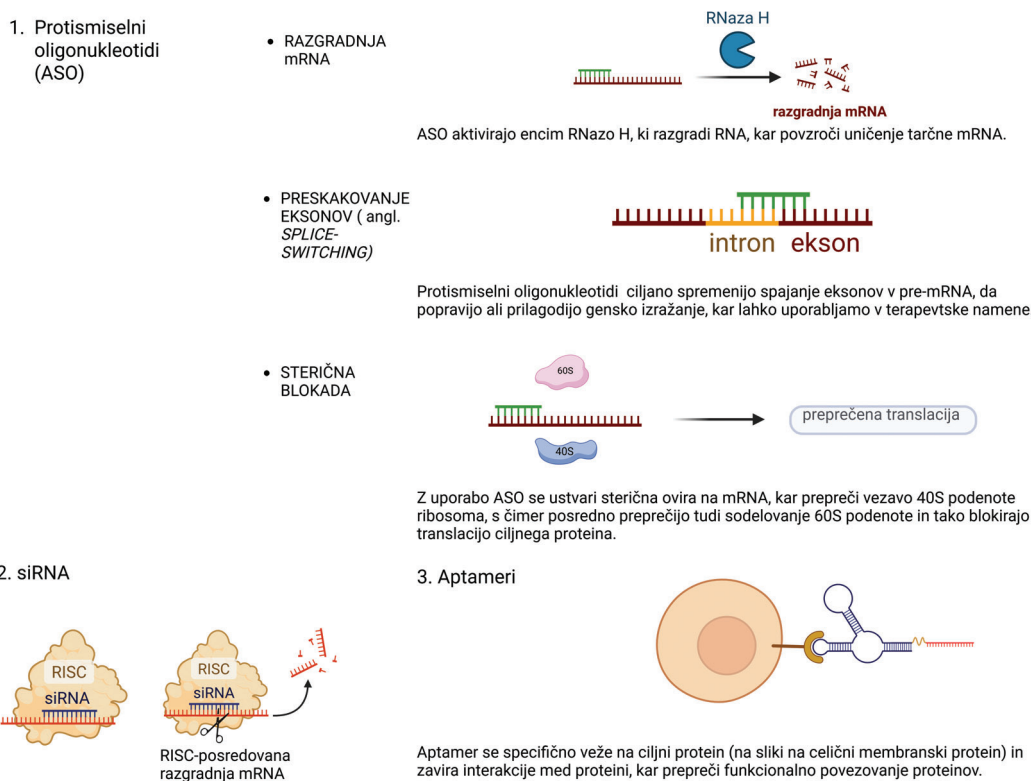
Slika 2: Struktura nusinersena v obliki soli. Protiion Na^+ je obarvan oranžno. Molekula vsebuje 2'-O-metoksietilne modifikacije na 2' položaju riboznega obroča (obarvan roza), ki povečujejo termodinamsko stabilnost vezave na ciljno RNA in zmanjšujejo občutljivost na nukleazno razgradnjo. Fosfatna hrbtenica molekule vsebuje fosforotioatne vezi (obarvano modro) namesto fosfodiestrskih, kar podaljša razpolovno dobo zdravila in izboljša njegovo distribucijo v centralnem živčnem sistemu. Zaradi teh modifikacij je nusinersen bolj stabilen in učinkovitejši kot drugi protismiselni oligonukleotidi brez teh sprememb. Povzeto po (10, 11).

Figure 2: Structure of nusinersen in salt form. Counterion Na^+ is coloured orange. The molecule contains 2'-O-methoxyethyl modifications at the 2' position of the ribose ring (pink colour), which enhance the thermodynamic stability of binding to the target RNA and reduce susceptibility to nuclease degradation. The phosphate backbone of the molecule incorporates phosphorothioate bonds (blue colour) instead of phosphodiester bonds, extending the drug's half-life and improving its distribution in the central nervous system. Due to these modifications, nusinersen is more stable and effective compared to other antisense oligonucleotides lacking these features. Adapted from (10, 11).

mest na mRNA lahko ASO preprečijo translacijo. Drugi razred učinkovin so dvovertične siRNA, ki po vključitvi v z RNA inducirani kompleks za utišanje (angl. *RNA-induced silencing complex*; *RISC*) sprožijo razgradnjo komplementarne mRNA, kar prekine sintezo tarčne beljakovine in s tem zmanjša njeno izražanje. Tretji razred, aptameri, ki predstavljajo kratke verige nukleotidov ali peptidov, se zaradi svoje tridimenzionalne strukture zelo specifično vežejo na tarčne proteine in s tem preprečujejo njihove interakcije z drugimi proteini (slika 3) (8–10). Vsi trije mehanizmi omogočajo natančno uravnavanje genske ekspresije ali translacije in so uporabni v sodobni terapiji. Proizvodnja terapevtskih oligonukleotidov mora biti zasnovana tako, da omogoča hitro prilagajanje spremembam na trgu in hkrati zagotavlja stroškovno učinkovitost. Začetni del proizvodnje izkorišča dobro preučeno fosforamiditno kemijo, znano iz

60. let prejšnjega stoletja, ki uporablja avtomatizirano sintezo na trdnem nosilcu. Po drugi strani je zaključni del proizvodnje, ki obsega korake čiščenja in izolacije, ostal v senci bolj temeljito preučene sinteze, čeprav ga pogosto štejemo za omejujoči korak proizvodnje terapevtskih oligonukleotidov (10).

Kemijske modifikacije, kot so fosforotioatna modifikacija (slika 2), spremembe iz anionskih molekul v nevtralne, metilacija pirimidinskega jedra in druge, lahko povečajo odpornost proti nukleazam, povzročijo višje afinitete, izboljšajo farmakokinetiko in povečajo prehajanje skozi celično membrano. Med pomembnejše modifikacije štejemo tudi 2'-O-metilacijo RNA, ki poveča njeno stabilnost z zaščito pred encimsko razgradnjo (npr. pred RNazami) in zmanjša imunogenost s preprečevanjem neželenih imunskih odzivov. Hkrati izboljša afiniteto in specifičnost baz-



Slika 3: Mehanizem delovanja protismiselnih oligonukleotidov (ASO), malih interferenčnih RNA (siRNA) in aptamerov. mRNA – informacijska RNA, RNaza H – ribonukleaza H, pre-mRNA – predhodna RNA, RISC – z RNA – inducirani kompleks za utišanje. Povzeto po (10). Slika je bila izdelana s programom Biorender.

Figure 3: Mechanism of action of antisense oligonucleotides (ASO), small interfering RNA (siRNA), and aptamers. mRNA - messenger RNA, RNase H - ribonuclease H (an enzyme that catalyzes the cleavage of phosphodiester bonds in RNA), pre-mRNA - precursor RNA (the first product of gene transcription in the nucleus), RISC - RNA-induced silencing complex (a complex that mediates gene silencing triggered by RNA). Adapted from (10). Created in Biorender.

nega parjenja s tarčno RNA, kar je ključno za učinkovitost terapevtskih oligonukleotidov. Obstajajo tudi inovacije pri dostavi, kot so lipidni nanodelci, za izboljšanje terapevtske specifičnosti in stabilnosti (9, 10). Izzivi ostajajo pri učinkovitosti dostave in zmanjševanju neželenih učinkov, ki nastanejo večinoma zaradi preostalih nečistot v učinkovini, vendar ti pristopi poudarjajo vsestranskost RNA kot tarče za zdravila pri rakavih obolenjih, genetskih motnjah in vnetnih boleznih (8).

4 METODE ZA DOLOČANJE STRUKTURE RNA

Določanje strukture RNA je ključno za razumevanje njene funkcije in razvoj strategij, usmerjenih proti RNA. Obstaja več metod za določanje struktur RNA, vsaka ima svoje prednosti in omejitve. Uporabljamo lahko biofizikalne metode (jedrska magnetna resonanca, krioelektronska mikroskopija, rentgenska kristalografija, HORNET), kemijsko sondiranje (SHAPE, dimetilsulfat sondiranje), visokozmogljivostne presejalne metode, računalniške pristope ali kombinacijo teh tehnik (12).

Rentgenska kristalografija omogoča določitev visokoločljivostnih tridimenzionalnih struktur RNA. Postopek vključuje kristalizacijo RNA in analizo uklona rentgenskih žarkov skozi kristal. Čeprav zagotavlja atomsko natančnost, je proces kristalizacije RNA lahko zelo zahteven, zlasti pri molekulah z gibljivimi deli (12).

Jedrska magnetna resonanca (NMR) je uporabna za preučevanje RNA v raztopini, saj omogoča opazovanje dinamičnega obnašanja molekul (13). Posebej učinkovita je pri manjših molekulah RNA in lahko poda informacije o strukturi ter molekularnih interakcijah. Vpogled v lokalne strukturne značilnosti, kot so glikozidni vezni koti, torzijski koti in konformacije sladkornega obroča, nam omogoča NMR (13, 14). Krioelektronska mikroskopija je postala priljubljena pri določanju struktur velikih molekul RNA in RNA-proteinskih kompleksov (15). Vključuje hitro zamrzovanje RNA vzorcev in njihovo slikanje z elektronskim mikroskopom, kar omogoča vizualizacijo zapletenih struktur RNA brez potrebe po kristalizaciji (15). Metoda SHAPE (angl. *selective 2'-hydroxyl acylation analyzed by primer extension*) uporablja reagente, ki selektivno modificirajo osnovni skelet RNA v strukturno prilagodljivih regijah. Tako pridobimo informacije o strukturi RNA na ravni posameznih nukleotidov in ustvarimo natančne modele sekundarne struk-

ture. Metoda SHAPE temelji na kemijski modifikaciji 2'-OH skupin v fleksibilnih delih RNA, kar med sintezo komplementarne DNA ustavi reverzno transkriptazo in omogoči kartiranje strukturno dinamičnih območij. Na voljo sta tudi sondiranje na liniji in dimetilsulfat (DMS) sondiranje (16). Specifična metoda sondiranja DMS je sekvenciranje RNA, ki omogoča natančno kartiranje strukture RNA s pomočjo sekvenciranja. Ta metoda uporablja metilacijo adeninov in citozinov v nesparjenih delih RNA, kar prav tako blokira reverzno transkriptazo, pri čemer visokoprepustno sekvenciranje razkrije nesparjena območja v strukturi RNA. Vse naštetje metode omogočajo visokoločljivostno analizo struktur RNA *in vivo* ali *in vitro*. Metoda HORNET (angl. *holistic RNA structure determination method using atomic force microscopy, unsupervised machine learning and deep neural networks*) je celostni pristop k določanju struktur RNA, ki združuje mikroskopijo na atomsko silo, strojno učenje in globoke nevronske mreže. Ta inovativna tehnika omogoča določanje tridimenzionalnih topoloških struktur RNA, predvsem velikih in prilagodljivih molekul. SHAPE-Seq je tehnika, ki združuje kemijo SHAPE z visokozmogljivim sekvenciranjem, kar omogoča sočasno analizo številnih struktur RNA (16).

Izbira metode za določanje strukture RNA je odvisna od več dejavnikov, kot so velikost RNA, njena fleksibilnost, želena ločljivost in specifično raziskovalno vprašanje. Pogosto kombinacija različnih tehnik omogoča najbolj celovit vpogled v strukturo in funkcijo RNA. Prav tako je mogoče podatke nizke ločljivosti, pridobljene s kemijskim sondiranjem ali krioelektronsko mikroskopijo, združiti s podatki visoke ločljivosti iz NMR ali rentgenske kristalografije, da ustvarimo bolj popolne strukturne modele.

5 CILJANJE RNA Z ZDRAVILNIMI UČINKOVINAMI

Razvoj novih molekul za ciljno vezavo na RNA otežujejo številne omejitve, povezane z RNA kot terapevtsko tarčo. Čeprav je uporaba malih molekul za usmerjanje proti RNA obetavna, je hkrati zelo zahtevna zaradi dinamične narave RNA, omejene kemijske raznolikosti in težav pri doseganju selektivne vezave (17, 18).

Molekule RNA so naravno gibljive in imajo manjšo kemijsko raznolikost kot proteini (RNA je sestavljena iz nukleotidov s 4 različnimi bazami, proteini pa iz 20 aminokislin), kar otežuje načrtovanje malih molekul, ki bi se lahko selektivno

in učinkovito vezale na določene strukture RNA (17). Poleg tega ligandi, ki se vežejo na RNA, pogosto kažejo nizko specifičnost, saj se lahko vežejo na več različnih tarč RNA, kar otežuje razvoj selektivnih zdravil (18). Pri razvoju učinkovin moramo upoštevati tudi, da morajo male molekule tekmovati z zelo velikimi in strukturno zapletenimi ribosomskimi RNA, ki lahko zasenči ciljanje struktur drugih RNA. Strukturni in regulacijski elementi RNA so zapleteni, zato je določanje selektivnosti malih molekul in prepoznavanje tarč RNA še vedno velik izziv. To zahteva napredne metode za identifikacijo in potrditev tarč RNA ter njihovih interakcij z malimi molekulami (18, 19). Terapije usmerjene na RNA, kot so siRNA in ASO, lahko povzročijo nespecifične učinke, vključno z nenamernim (angl. *off-target*) izklonjenjem genov, imunsko aktivacijo in toksičnostjo nosilcev, kar otežuje interpretacijo eksperimentalnih rezultatov in lahko vodi do neželenih učinkov (20).

Obstaja več primerov malih molekul, ki ciljajo specifične RNA. Nekatere so že dostopne na trgu, saj so bile odobrene s strani EMA ali FDA (preglednica 1), nekatere so že bile odobrene in so nato izgubile dovoljenje (preglednica 2). Zaradi hitrega napredovanja področja obstaja tudi veliko število učinkovin, ki so v različnih fazah kliničnih študij (preglednica 3). Nekatere spojine zavirajo nastajanje

miRNA, povezanih z boleznimi (npr. miR-132, ki je trenutno v predkliničnih študijah), medtem ko ASO, kot je nusinersen, cilja pre-mRNA gena *SMN2* in se uporablja za zdravljenje spinalne mišične atrofije (SMA) in je na trgu že od decembra 2016. V razvoju so tudi spojine, kot so IO-NIS_MAPTRx, ki vpliva na alternativno spajanje proteina tau, povezanega z nekaterimi nevrodegenerativnimi boleznimi in je od leta 2022 v 2. fazi kliničnih preskušanj. Poleg tega sta znani dve zdravilni učinkovini, risdiplam in branaplam, ki so jih razvili za zdravljenje spinalne mišične atrofije z modulacijo spajanja RNA (7). Risdiplam je odobreno zdravilo za zdravljenje SMA, ki z modulacijo spajanja gena *SMN2* poveča proizvodnjo funkcionalnega proteina SMN in je na trgu za klinično uporabo. Branaplam je bil razvijan kot peroralno zdravilo za SMA, vendar je bil razvoj za to indikacijo ustavljen zaradi napredka obstoječih terapij, razvoj za Huntingtonovo bolezen pa je bil kasneje prekinjen zaradi varnostnih težav (21). Obstaja tudi protibakterijska učinkovina linezolid, odobrena leta 2000, ki zavira sintezo bakterijskih proteinov z vezavo na 23S rRNA v 50S podenoti ribosoma, kar omogoča učinkovitost proti odpornim sevom (npr. MRSA), vendar lahko dolgotrajna uporaba povzroči zaviranje kostnega mozga zaradi vpliva na mitohondrijsko rRNA (22, 23).

Preglednica 1: Odobrene zdravilne učinkovine, ki ciljajo RNA. Povzeto po (7, 21, 22, 23, 24).

Table 1: Approved therapeutic agents targeting RNA. Adapted from (7, 21, 22, 23, 24).

Zdravilna učinkovina	Tip	Tarča in mehanizem delovanja	Indikacija	Leto odobritve (EMA)
Nusinersen	ASO (SSO)	ASO cilja pre-mRNA transkript gena <i>SMN2</i> in modulira izrezovanje intronov/eksonov (angl. <i>splicing</i>), kar omogoči vključitev eksona 7 v končno mRNA. To povzroči proizvodnjo funkcionalnega SMN proteina	Spinalna mišična atrofija	2017
Inotersen	ASO	TTR mRNA; RNaza H posredovana degradacija mRNA	Dedna transtiretinska amiloidoza s polineuropatijo	2018
Volanesorsen	ASO	ApoC III mRNA; znižanje ApoC III proteina	Družinska hilomikronemija	2019
Patisiran	siRNA	TTR mRNA; RISC-posredovana degradacija mRNA LNP-dostava)	Dedna transtiretinska amiloidoza s polineuropatijo	2018



Golodirsén	ASO (SSO)	DMD mRNA (ekson 53); izrezovanje eksona 53 za delno obnovitev distrofina	Duchennova mišična distrofija	2020
Givosiran	siRNA	ALAS1 mRNA; znižanje deltaaminolevulinske kisline (GalNAc-dostava)	Akutna hepatična porfirija	2020
Lumasiran	siRNA	HAO1 mRNA; znižanje glikolatne oksidaze (GalNAc-dostava)	Primarna hiperoksalurija tip 1	2020
Inklisiran	siRNA	PCSK9 mRNA; znižanje LDL holesterola (GalNAc-dostava)	Družinska heterozigotna hiperholesterolemija	2020
Viltolarsén	ASO (SSO)	DMD mRNA (ekson 53); izrezovanje eksona 53 za delno obnovitev distrofina	Duchennova mišična distrofija	2021
Kasimersén	ASO (SSO)	DMD mRNA (ekson 45); izrezovanje eksona 45 za delno obnovitev distrofina	Duchennova mišična distrofija	2021
Eplontersén	ASO	TTR mRNA; RNaza H posredovana degradacija mRNA (GalNAc-dostava)	Dedna transtiretinska amiloidoza s polineuropatijo	2023
Avacinkaptad pegol	Aptamer	Sestavina komplementa C5; inhibicija komplementnega proteina C5 (PEG dostava)	Suha starostna degeneracija makule	2023
Linezolid	Antibiotik	23S rRNA (bakterijski ribosom); inhibicija proteinske sinteze z blokado iniciacije translacije	Okužbe s po Gramu pozitivnimi bakterijami	2001
Risdiplam	Mala molekula	SMN2 pre-mRNA; modulacija izrezovanja eksona 7 za povečanje funkcionalnega SMN proteina	Spinalna mišična atrofija	2021

ASO – protismiselni oligonukleotid, SSO – oligonukleotid za spremembo izrezovanja, siRNA – mala interferenčna RNA, pre-mRNA – nezrela oblika RNA pred izrezovanjem, RISC – z RNA inducirani kompleks za utišanje, LNP-dostava – lipidni nanodelci za dostavo, GalNAc - N-acetilgalaktozamin, PEG – polietilenglikol, SMN2 – gen za protein za preživetje motoričnih nevronov (angl. Survival motor neuron 2), TTR – transtiretin, ApoC-III – apolipoprotein C-III, DMD – distrofin, ALAS1 – encim za sintezo hema, PCSK9 – encim za regulacijo lipoproteinov nizke gostote.

Preglednica 2: Prekinjen razvoj zdravilnih učinkovin, ki ciljajo RNA. Povzeto po (7, 21, 22, 23, 24).

Table 2: Discontinued development of RNA-targeting medicinal products. Adapted from (7, 21, 22, 23, 24).

Zdravilna učinkovina	Tip	Tarča	Razlog za umik	Leto odobritve	Leto umika
Fomivirsen	ASO	CMV IE2	Nizko povpraševanje (nadomeščena z novimi terapijami)	1998	2006
Mipomersen	ASO	ApoB 100	Varnostni problemi (jetrne okvare)	2013	2019
Pegaptanib	Aptamer	VEGF	Komercialni neuspeh	2006	2017
Branaplam	Mala molekula	SMN2 pre-mRNA / Huntingtin mRNA	Znaki periferne nevropatije, povečane vrednosti NfL, spremembe na možganskih slikah	/	Razvoj ustavljen 2023

ASO – protismiselni oligonukleotid, CMV – citomegalovirus, IE2 – zgodnji virusni protein, ApoB – apolipoprotein B, VEGF – vaskularni endotelni rastni faktor, NfL – lahka veriga neurofilamenta, SMN2 – gen za protein za preživetje motoričnih nevronov, pre-mRNA – nezrela oblika RNA.

Preglednica 3: Učinkovine, ki ciljajo RNA – v kliničnem razvoju. Povzeto po (7, 21, 22, 23, 24).

Table 3: RNA-targeting medicinal products in clinical development. Adapted from (7, 21, 22, 23, 24).

Zdravilna učinkovina	Tip	Tarča	Indikacija	(Pred-)klinični razvoj
Pelakarsen	ASO	Lipoprotein	Kardiovaskularne bolezni	Faza 3
Tofersen	ASO	SOD1 mRNA	Amiotrofična lateralna skleroza	Faza 3
Fitusiran	siRNA	Antitrombin III	Hemofilija	Faza 3
Vutrisiran	siRNA	TTR mRNA	Dedna transtiretinska amiloidoza	Odobren v ZDA 2022
IONIS-MAPTRx	ASO	MAPT mRNA (tau); zmanjšanje proizvodnje tau proteina prek degradacije mRNA	Alzheimerjeva bolezen	Faza 2
Nedosiran	siRNA	LDHA mRNA	Primarna hiperoksalurija	Faza 3
Sepofarsen	EON	CEP290	Leberjeva kongenitalna amavroza	Faza 2/3
Inhibitor miR-132	ASO	miR-132; blokada mikroRNA-132 za preprečevanje patološkega preoblikovanja srca	Srčno popuščanje	Predklinični razvoj

ASO – protismiselni oligonukleotid, SOD1 – superoksid dismutaza 1, siRNA – mala interferenčna RNA, TTR – transtiretin, MAPT – oznaka za gen za tau protein, LDHA – laktat dehidrogenaza A, EON - oligonukleotid za spremembo izrezovanja, CEP290 – gen za fotoreceptorski protein, miR – mikroRNA.

6 SKLEP

RNA predstavlja izjemno obetavno tarčo za razvoj novih zdravil zaradi svoje strukturne in funkcionalne raznolikosti. Njena sposobnost interakcije z drugimi biomolekulami omogoča širok spekter terapevtskih pristopov, kot so protismiselni oligonukleotidi, siRNA in aptameri. Napredek v kemijskih modifikacijah je izboljšal stabilnost, specifičnost in farmakokinetiko teh učinkovin. Kljub temu ostajajo izzivi, kot so dinamična narava RNA, omejena kemijska raznolikost in težave pri selektivnem ciljanju. Določanje struktur RNA z naprednimi metodami, kot so NMR, krio-EM in SHAPE-Seq, je ključno za razumevanje njene funkcije ter načrtovanje učinkovitih terapij. Uspešni primeri zdravil, kot sta nusinersen za zdravljenje spinalne mišične atrofije in linezolid za zdravljenje bakterijskih okužb, dokazujejo potencial RNA-usmerjenih terapij. V prihodnosti bo kombinacija inovativnih tehnologij in racionalnega načrtovanja ključna za premagovanje omejitev ter širjenje uporabe na RNA usmerjenih zdravil.

7 LITERATURA

- Šponer J, Bussi G, Krepl M, Banáš P, Bottaro S, Cunha RA, et al. RNA Structural Dynamics As Captured by Molecular Simulations: A Comprehensive Overview. *Chem Rev.* 2018 Apr 25;118(8):4177–338.
- Ganser LR, Kelly ML, Herschlag D, Al-Hashimi HM. The roles of structural dynamics in the cellular functions of RNAs. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2019 Aug;20(8):474–89.
- Biology LibreTexts [Internet]. 2016 [cited 2025 Feb 3]. 9.13: Ribozymes. Available from: [https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Introductory_and_General_Biology/Biology_\(Kimball\)/09%3A_Regulation_of_Gene_Expression/9.13%3A_Ribozymes](https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Introductory_and_General_Biology/Biology_(Kimball)/09%3A_Regulation_of_Gene_Expression/9.13%3A_Ribozymes)
- Cao C, Cai Z, Xiao X, Rao J, Chen J, Hu N, et al. The architecture of the SARS-CoV-2 RNA genome inside virion. *Nat Commun.* 2021 Jun 24;12(1):3917.
- Wahlestedt C. Targeting long non-coding RNA to therapeutically upregulate gene expression. *Nat Rev Drug Discov.* 2013 Jun;12(6):433–46.
- Fu XD. Non-coding RNA: a new frontier in regulatory biology. *Natl Sci Rev.* 2014 Jun 1;1(2):190–204.
- Childs-Disney JL, Yang X, Gibaut QMR, Tong Y, Batey RT, Disney MD. Targeting RNA structures with small molecules. *Nat Rev Drug Discov.* 2022 Oct;21(10):736–62.
- Dhuri K, Bechtold C, Quijano E, Pham H, Gupta A, Vikram A, et al. Antisense Oligonucleotides: An Emerging Area in Drug Discovery and Development. *J Clin Med.* 2020 Jun 26;9(6):2004.
- Traber GM, Yu AM. RNAi-Based Therapeutics and Novel RNA Bioengineering Technologies. *J Pharmacol Exp Ther.* 2023 Jan;384(1):133–54.
- Abe A, Časar Z. Overview and Recent Advances in the Purification and Isolation of Therapeutic Oligonucleotides. *Org Process Res Dev.* 2025 Jan 17;29(1):15–33.
- PubChem. Nusinersen [Internet]. [cited 2025 Jun 19]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Nusinersen>
- Jackson RW, Smathers CM, Robart AR. General Strategies for RNA X-ray Crystallography. *Molecules.* 2023 Feb 23;28(5):2111.
- Barnwal RP, Yang F, Varani G. Applications of NMR to structure determination of RNAs large and small. *Arch Biochem Biophys.* 2017 Aug;628:42–56.
- Allain FH-T, Varani G. How accurately and precisely can RNA structure be determined by NMR? *J Mol Biol.* 1997 Mar;267(2):338–51.
- Zhang K, Li S, Kappel K, Pintilie G, Su Z, Mou TC, et al. Cryo-EM structure of a 40 kDa SAM-IV riboswitch RNA at 3.7 Å resolution. *Nat Commun.* 2019 Dec 3;10(1):5511.
- Wu Y, Shi B, Ding X, Liu T, Hu X, Yip KY, et al. Improved prediction of RNA secondary structure by integrating the free energy model with restraints derived from experimental probing data. *Nucleic Acids Res.* 2015 Sep 3;43(15):7247–59.
- Falese JP, Donlic A, Hargrove AE. Targeting RNA with small molecules: from fundamental principles towards the clinic. *Chem Soc Rev.* 2021;50(4):2224–43.
- Hargrove AE. Small molecule–RNA targeting: starting with the fundamentals. *Chem Commun.* 2020;56(94):14744–56.
- Disney MD. Targeting RNA with Small Molecules To Capture Opportunities at the Intersection of Chemistry, Biology, and Medicine. *J Am Chem Soc.* 2019 May 1;141(17):6776–90.
- Bereczki Z, Benczik B, Balogh OM, Marton S, Puhl E, Pétervári M, et al. Mitigating off-target effects of small RNAs: conventional approaches, network theory and artificial intelligence. *Br J Pharmacol.* 2025 Jan;182(2):340–79.
- Neurology live [Internet]. 2022 [cited 2025 Jun 20]. Novartis Suspends Phase 2 Study of Huntington Disease Agent Branaplam. Available from: <https://www.neurologylive.com/view/novartis-suspends-phase-2-study-huntington-disease-agent-branaplam>
- Hashemian SM, Farhadi T, Ganjparvar M. Linezolid: a review of its properties, function, and use in critical care. *Drug Des Devel Ther.* 2018 Jun;Volume 12:1759–67.
- Long KS, Vester B. Resistance to Linezolid Caused by Modifications at Its Binding Site on the Ribosome. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012 Feb;56(2):603–12.
- Biochempeg [Internet]. 2023 [cited 2025 Jun 20]. FDA Approved Nucleic Acid Drugs. Available from: <https://www.biochempeg.com/article/410.html#:~:text=To%20date%2C%20there%20have%20been%2022%20FDA%2D,that%20have%20been%20withdrawn%20from%20the%20market.>

PRIHODNOST PROIZVODNJE PARENTERALNIH FARMACEVTSKIH OBLIK

THE FUTURE OF PARENTERAL DOSAGE FORMS MANUFACTURING

AVTOR / AUTHOR:

Aleš Dimnik, mag. farm.

*Novartis farmacevtska proizvodnja d.o.o.,
Verovškova ulica 57, 1000 Ljubljana*

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: ales.dimnik@novartis.com



1 UVOD

Parenteralne farmacevtske oblike so sterilni izdelki, namenjeni aplikaciji z injiciranjem, infundiranjem ali implan-tiranjem v človeško ali živalsko telo (1). Namenjene so neposredni aplikaciji v človeško telo mimo prebavnega

POVZETEK

Članek podaja kratek zgodovinski pregled proizvodnje parenteralnih farmacevtskih oblik ter obravnava temeljne zahteve za njihovo proizvodnjo. V nadaljevanju se osredotoča na pričakovane trende proizvodnje v prihodnje, kot je uvajanje robotskih sistemov brez rokavic tako v industrijski proizvodnji kot tudi v bolnišničnih lekarnah. Z njihovo uvedbo se v celoti odpravi človeške posege v aseptične pogoje okolja, ki predstavljajo najbolj kritičen del proizvodnje parenteralnih farmacevtskih oblik. Hkrati lahko pričakujemo prilagoditve mikrobiološkega vzorčenja znotraj aseptičnih pogojev okolja. Te prilagoditve odražajo predvsem potrebo po uvajanju alternativnih hitrih testov za detekcijo mikroorganizmov ter osredotočanju na spremljanje kritičnih procesnih parametrov, ki imajo ključno vlogo pri zagotavljanju sterilnosti celotne serije farmacevtskega izdelka. V okviru prihodnjih usmeritev velja izpostaviti tudi nadaljnje povečevanje obsega uporabe predhodno sterilizirane primarne ovojnine, napoljenih injekcijskih brizg ter avtomatskih odmer-nikov.

KLJUČNE BESEDE:

hitri mikrobiološki testi, parenteralne farmacevtske oblike, robotski sistemi brez rokavic, trendi, zgodovinski pregled

ABSTRACT

The article provides a brief historical overview of parenteral pharmaceutical dosage forms production and discusses the fundamental requirements for their manufacturing. Further it focuses on expected future trends in production, such as the introduction of gloveless robotic systems in both industrial manufacturing and hospital pharmacies. Their implementation eliminates human intervention in aseptic environments, which represents the most critical aspect of parenteral pharmaceutical production. At the same time, adjustments in microbiological sampling within aseptic conditions can be expected. These adjustments reflect the need for the introduction of alternative rapid tests for microorganisms detection and a greater emphasis on monitoring critical process parameters that play a crucial role in ensuring the sterility of the entire



batch of the pharmaceutical product. Among future directions, it is also important to highlight the continued expansion of the use of pre-sterilized primary packaging, prefilled syringes, and automatic dispensers.

KEY WORDS:

gloveless robotic systems, historical overview, parenteral dosage forms, rapid microbiological methods, trends

trakta, kot nakazuje njihovo ime grškega izvora, »*para enteron*«. Omogočajo dostavo zdravnih učinkovin z nizko biološko uporabnostjo po peroralni aplikaciji ter so ključnega pomena v primeru nujnih stanj, kjer je potreben takojšnji terapevtski učinek. Razen tega omogočajo odmerjanje zdravil bolnikom, ki so nezavestni ali tisti, ki ne morejo jemati zdravil peroralno. S parenteralnim vnosom lahko zagotovimo popolno parenteralno prehrano, prav tako pa nadomeščanje večjih količin tekočin in elektrolitov, na primer bolnikom v primeru dehidracije ali gastrointestinalne infekcije. Najpogostejše se uporabljajo subkutano, intramuskularno in intravensko (2).

Po drugi strani ima parenteralni način aplikacije tudi nekatere slabosti. V primerjavi s peroralnimi farmacevtskimi oblikami je v primeru kakršnegakoli neželenega učinka ali prekoračitve maksimalnega odmerka na voljo omejeno število ukrepov. Ker zdravilo preide v telo mimo telesnih pregrad (črevesje, koža, sluznice), lahko predstavlja veliko tveganje za bolnika v primeru kontaminacije zdravila. Strogi standardi, ki jih je potrebno upoštevati pri proizvodnji tovrstnih farmacevtskih oblik, predstavljajo minimalne zahteve v okviru dobrih proizvodnih praks, ki se z napredkom tehnologije neprestano razvijajo (2).

2 PROIZVODNJA PARENTERALNIH FARMACEVTSKIH OBLIK

2.1 KRATEK ZGODOVINSKI PREGLED

Človek je idejo za uporabo zastrupljenih puščic pri lovu na živali dobil s posnemanjem narave, kjer so kačji zobje, žela os, čebel in sršenov ter klešče pajkov in škorpionov pravzaprav zastrupljene puščice. Parenteralni vnos učin-

kovin je tako uporabljal kot orožje že dolgo preden se je parenteralna aplikacija pričela uporabljati za namene zdravljenja (3).

Prvi poskusi parenteralne aplikacije na področju zdravljenja segajo v obdobje po letu 1628, ko je William Harvey v Frankfurtu v svojem delu »*Anatomska vaja o gibanju srca in krvi pri živalih*« (lat. *Exercitatio Anatomica de Motu Cordis et Sanguinis in Animalibus*) objavil ugotovitve o delovanju krvnega obtoka (4). Znanje o krvnem obtoku se je vse bolj širilo, a so bili poskusi na psih in ljudeh v naslednjih 100 letih večinoma neuspešni zaradi pomanjklivega razumevanja pomena delcev in mikroorganizmov ter posledične uporabe nečistih instrumentov, surovin ter nesterilnih raztopin (5).

Naslednji večji mejnik predstavlja leto 1855, ko je Alexander Wood razvil prvo sodobno injekcijsko brizgo z jeklenim valjem in votlo jekleno iglo (2). Injekcijske brizge so se takrat uporabljale za injiciranje raztopine morfina, ki je bila shranjena sprva v vialah in od približno 1890. leta naprej tudi v ampulah (6). Večji razmah uporabe parenteralnih farmacevtskih oblik se je zgodil v času druge svetovne vojne, ki je ustvarila potrebo po priročnem pakiranju, ki je omogočalo njihov enostaven transport na bojna območja in hitro aplikacijo zdravil proti bolečinam (5).

Razširila se je tudi uporaba ampul, ki so služile za shranjevanje penicilina. Ampule so se sčasoma uveljavile kot najcenejša primarna ovojnina parenteralnih farmacevtskih izdelkov, ki zagotavljajo odlično tesnjenje, glavno pomanjkljivost pa predstavlja možnost kontaminacije s steklenimi delci tekom odpiranja.

Viale so zaradi enostavnejšega rokovanja in manjše možnosti kontaminacije s steklenimi delci v splošnem bolj priročne kot ampule in zato danes predstavljajo najpogostejšo obliko primarne ovojnine za parenteralne farmacevtske oblike, tako za tekoče kot tudi za liofilizate. Zahtevano količino tekočine oziroma rekonstituirane raztopine posesamo v injekcijsko brizgo, s katero jo nato apliciramo v bolnika. Tako kot pri ampulah tudi pri uporabi vial ta korak predstavlja tveganje za kontaminacijo. Poleg tega priprava zdravila predstavlja dodatno obremenitev za zdravstveno osebje. Obe težavi lahko odpravimo z uporabo napolnjene injekcijske brizge (angl. *pre-filled syringe*). Gre za relativno novo farmacevtsko obliko, katere začetki segajo v 80. leta prejšnjega stoletja, ko se je na trgu pojavil insulin v obliki napolnjenih injekcijskih brizg. Od takrat njihova uporaba vseskozi narašča zaradi številnih prednosti tako za proizvajalce zdravil kot za bolnike, med katerimi je najpomembnejše zmanjšano tveganje za kontaminacijo izdelka (6).

2.2 OSNOVNE ZAHTEVE ZA PARENTERALNE FARMACEVTSKE OBLIKE

Parenteralne farmacevtske oblike morajo ustrezati preskusu sterilnosti, kar pomeni odsotnost živih mikroorganizmov in njihovih spor. To je kritični atribut kakovosti parenteralnih farmacevtskih oblik, določen s stopnjo zagotavljanja sterilnosti (angl. *sterility assurance level*; SAL), ki je enaka ali manjša kot 10^{-6} . Ta vrednost izraža verjetnost, da med 1×10^6 steriliziranimi enotami končnega izdelka ni prisotna več kot ena nesterilna enota, pri čemer je v slednji prisoten največ en mikroorganizem (1).

Poleg tega morajo parenteralne farmacevtske oblike ustrezati preskusu na bakterijske endotoksine ali, kadar je utemeljeno in dovoljeno, preskusu na pirogene. Biti morajo praktično brez vidnih delcev in ustrezati preskusu na nevidne delce ter morajo takšne ostati do izteka njihovega roka uporabnosti (1). Pri njihovi izdelavi je potrebno uporabljati zdravilne učinkovine in pomožne snovi najvišje čistote, pri čemer mora biti število pomožnih snovi čim manjše, sestava zdravila pa čim bolj enostavna. Primarna ovojnina mora zagotavljati ustrezno integriteto z namenom preprečevanja mikrobiološke kontaminacije ter prepuščanja kisika in vlage (2).

Aneks 1 k evropskim smernicam dobre proizvodne prakse (angl. *European Union Good manufacturing practice*; EU GMP) je eden poglavitnih dokumentov, ki podaja usmeritve za proizvodnjo, nadzor in sproščanje sterilnih farmacevtskih izdelkov. Zadnja revizija, ki je stopila v veljavo leta 2023, je še dodatno povečala pomen zmanjševanja tveganja za kontaminacijo zdravil v proizvodnji (7). Zahteve so enake tako za industrijsko proizvedena zdravila kot za magistralna zdravila, pripravljena v lekarnah, čeprav se pogoji priprave, oprema in število osebja pomembno razlikujejo (8). Proizvajalec mora med njihovo izdelavo izvajati vse potrebne aktivnosti in previdnostne ukrepe, ki zagotavljajo sterilnost proizvedenih izdelkov od izdelave zdravila do izteka roka uporabnosti. Pri dokazovanju sterilnosti ali drugih vidikov kakovosti izdelka se ne smemo zanašati izključno na proces končne sterilizacije ali preskus kakovosti končnega izdelka, temveč je potrebno upoštevati celoten proces proizvodnje (7).

Priprava sterilnih farmacevtskih izdelkov mora potekati v čistih prostorih, ki jih glede na stopnjo čistosti zraka delimo v štiri razrede: A, B, C in D (preglednici 1 in 2). Vse kritične operacije v proizvodnji sterilnih farmacevtskih izdelkov se morajo izvajati v razredu čistosti A. Primeri kritičnih operacij

pri izdelavi so: polnjenje v primarno ovojnino in zapiranje vsebnikov, procesiranje čepov pred zapiranjem, procesiranje odprtih vsebnikov in ostale primarne ovojnine ter prenos delno zaprtih vsebnikov v liofilizator. Prostori razreda čistosti B služijo kot okolica prostora razreda čistosti A, kadar se kritične operacije izvajajo brez izolatorjev. V prostorih razreda čistosti C in D se izvajajo manj kritične operacije, lahko pa se uporabljajo za pripravo in polnjenje izdelkov, ki jih bomo sterilizirali z eno od metod končne sterilizacije (7).

Za vsak razred čistosti so predpisane akcijske meje za spremljanje števila živih in neživih delcev. Ob preseganju akcijskih mej je potrebno izvesti raziskavo vzroka, pripraviti oceno vpliva na kakovost izdelka (vključno s serijami, proizvedenimi od izvedbe meritve do poročanja o odstopu) ter predpisati korektivne in preventivne ukrepe (7).

3 PRIČAKOVANI TRENDI V PROIZVODNJI PARENTERALNIH FARMACEVTSKIH OBLIK

3.1 UVAJANJE ROBOTSKIH SISTEMOV V PROIZVODNJI

Proizvodnja sterilnih zdravil vključuje aseptično pripravo zdravil ali pripravo zdravil, ki jih na koncu steriliziramo z enim od postopkov končne sterilizacije. Kadar končna sterilizacija ni mogoča, uporabimo postopek aseptične priprave, ki ohranja sterilnost izdelka z uporabo predhodno steriliziranih vhodnih surovin, naprav, pripomočkov in ovojnine v pogojih, ki izključujejo kontaminacijo z mikroorganizmi (1, 7). Postopek aseptične priprave preverjamo s simulacijo procesa z uporabo mikrobnega gojišča, ki ga kasneje inkubiramo in ugotavljamo njegovo mikrobo kontaminacijo. Ta postopek preverjanja se imenuje validacija aseptičnega polnjenja (angl. *media fill test*) (1). Kljub temu, da v okviru validacije aseptičnega polnjenja simuliramo tudi vse možne človeške posege znotraj aseptičnih prostorov, uspešno izvedena validacija še ne zagotavlja sterilnosti proizvedene serije izdelka. Izvedba človeških opravil je namreč spremenljiva, zato vsi človeški posegi znotraj aseptičnih prostorov predstavljajo tveganje za mikrobiološko kontaminacijo izdelka. Najboljša intervencija je tista, ki se ne zgodi oziroma tista, ki jo preprečimo z uspešnim načrtovanjem procesa in opreme. Poglavitni cilj vseh aseptičnih operacij mora biti odstranitev vseh človeških posegov (9).



Preglednica 1: Največje dovoljeno število delcev v zraku po razredih čistosti pri spremljanju pogojev okolja (7).

Table 1: Maximum permitted total airborne particle concentration by cleanroom classification for environmental monitoring (7).

Razred čistosti	Maksimalno dovoljeno število delcev v zraku $\geq 0,5 \mu\text{m}/\text{m}^3$		Maksimalno dovoljeno število delcev v zraku $\geq 5 \mu\text{m}/\text{m}^3$	
	v mirovanju	v obratovanju	v mirovanju	v obratovanju
A	3 520	3 520	29	29
B	3 520	352 000	29	2 930
C	352 000	3 520 000	2 930	29 300
D	3 520 000	Ni vnaprej določeno *	29 300	Ni vnaprej določeno *

* Za razred čistosti D meje v obratovanju niso vnaprej določene. Proizvajalec mora določiti operativne meje na podlagi ocene tveganja in rutinskih podatkov, kjer je to primerno.

Preglednica 2: Največje dovoljeno število živih delcev po razredih čistosti pri spremljanju pogojev okolja (7).

Table 2: Maximum action limits for viable particle contamination by cleanroom classification for environmental monitoring (7).

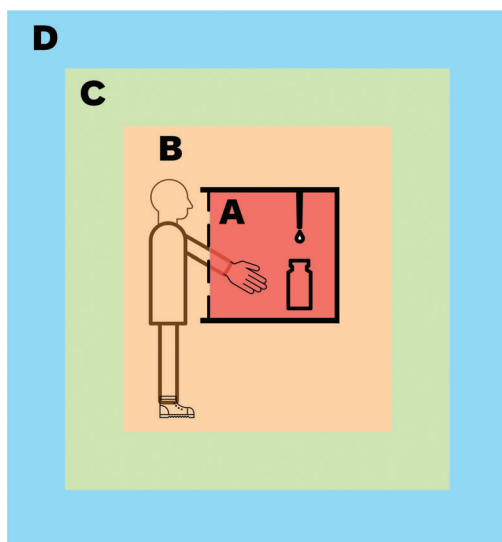
Razred čistosti	Vzorec zraka CFU / m^3	Petrijeve plošče (premer 90 mm) CFU / 4 ure	Kontaktne plošče (premer 55 mm) CFU / ploščo	Odtis orokavičenih rok, vseh 5 prstov na obeh rokah CFU / rokavico
A	Brez rasti			
B	10	5	5	5
C	100	50	25	-
D	200	100	50	-

CFU (angl. colony forming unit) – enota, ki tvori kolonijo

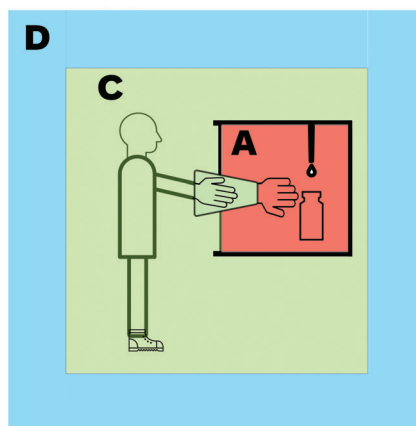
Zaradi zahtev regulatornih organov po nadaljnjem zmanjšanju tveganja kontaminacije z osredotočanjem na zmanjševanje oziroma odstranitev zaposlenih iz aseptičnih pogojev okolja je farmacevtska industrija prešla iz tako imenovanih pregradnih sistemov z omejenim dostopom (angl. *restricted area barrier system*; RABS) na izolatorske polnilne linije (slika 1). Uporaba izolatorjev, ki so dlje časa predstavljali najbolj napredno tehnologijo aseptičnih procesov, se v veliki meri zanaša na številne človeške posege znotraj izolatorja, ki potekajo preko rokavic izolatorja, kot na primer nastavitve opreme, mikrobiološko vzorčenje pogojev okolja ter redni in korektivni posegi. V primeru poškodb rokavic vsi omenjeni posegi predstavljajo tveganje za mikrobiološko kontaminacijo človeškega izvora in se zato rokavice izolatorja štejejo kot njegova najbolj šibka točka (10).

Z uvedbo robotskih izolatorjev brez rokavic (slika 1) se v celoti odstrani človeške posege v aseptično okolje in s tem odstrani možnost kontaminacije človeškega izvora (9). Robotski sistemi so že dodobra uveljavljeni v letalski, elektronski in avtomobilski industriji, medtem ko se na področju farmacije še uveljavljajo. Na področju farmacije se trenutno najpogosteje uporabljajo v okviru pakiranja, v prihodnosti pa bi se lahko razširili v celotno proizvodno verigo, kjer največ prednosti ponujajo v aseptičnih okoljih, kot je na primer polnjenje parenteralnih farmacevtskih izdelkov (11). Poglavitna prednost uporabe robotskih sistemov v aseptičnih pogojih okolja je odstranitev človeških posegov, ki predstavljajo poglavitno tveganje za kontaminacijo serije izdelka. Poleg tega robotski sistemi omogočajo popolno sledljivost procesa, saj se vse njihove operacije podrobno

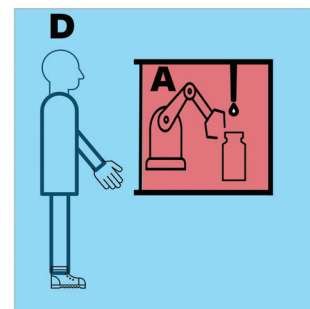
RABS



Izolator



Robotski izolator brez rokavic



Slika 1: Primerjava med pregradnim sistemom z omejenim dostopom (angl. restricted area barrier system; RABS), izolatorjem in robotskim izolatorjem brez rokavic. Okolica sistema RABS mora ustrezati najmanj razredu čistosti B, medtem ko je v okolici izolatorjev razred čistosti lahko C ali D (odvisno od vrste izolatorja). Povzeto in izdelano po (7, 11). Slika je bila izdelana s programom Microsoft Visio.

Figure 1: Comparison between restricted area barrier system (RABS), the isolator and the gloveless robotic isolator. The background environment for RABS should correspond to a minimum of grade B, while the background environment for isolators corresponds to grade C or D (depending on isolator type). Adapted and created from (7, 11). Created in Microsoft Visio.

beležijo. Ogromna množica pridobljenih podatkov omogoča podrobno analizo procesnih parametrov ter identifikacijo njihovih trendov ter vzrokov za neskladja (11).

3.2 UVAJANJE ROBOTSKIH SISTEMOV V BOLNIŠNIČNIH LEKARNAH

Prvi popolnoma robotizirani sistemi za pripravo protirakavih zdravil so se v bolnišničnih lekarnah pojavili v začetku tega tisočletja. Danes je njihova uporaba najbolj razširjena v bolnišničnih lekarnah za pripravo intravenskih protirakavih zdravil. Onkološki bolniki so namreč ena izmed najbolj ogroženih skupin bolnikov, zato priprava njihovih zdravil terja posebno skrb. Robotski sistemi omogočajo zaprto in mikrobiološko nadzorovano okolje razreda čistosti A z minimalnim tveganjem za kontaminacijo, saj človeški posegi niso več potrebni. Sistem sprva izvede identifikacijo zdravila, potrebnih topil ter pripadajočih vsebnikov, čemur sledi samostojna priprava (angl. *compounding*) posameznih odmerkov zdravila. Sistem omogoča zelo natančno odmerjanje zdravila ter zaradi visoke ponovljivosti procesa v veliki meri preprečuje možnost človeških napak v procesu priprave magistralnih

zdravil. Robotski sistemi omogočajo tudi ponovno uporabo delno porabljenih vial s protirakavim zdravilom, kar pomembno vpliva na zmanjševanje stroškov protirakave terapije (12). Poleg tega pa so z njihovo uporabo bolje zaščiteni tudi zaposleni. Podatki namreč kažejo, da je kljub uporabi različnih varnostnih ukrepov med ročno pripravo še vedno možna kontaminacija okolja s protirakavimi zdravili, kar dokazujejo odkriti sledovi pripadajočih zdravilnih učinkovin v vzorcih urina zdravstvenih delavcev (13). Zaradi naštetih prednosti lahko pričakujemo, da se bo uporaba robotskih sistemov v proizvodnih procesih povečevala tako v farmacevtski industriji kot tudi v bolnišničnih lekarnah. V bolnišnični lekarni na Onkološkem inštitutu v Ljubljani priprava protirakavih zdravil že poteka na dveh robotskih enotah (14).

3.3 PRILAGODITEV STRATEGIJE MIKROBIOLOŠKE KONTROLE POGOJEV OKOLJA

Trenutna strategija mikrobiološke kontrole pogojev okolja obsega vzorčenje zraka in vzorčenje površin ter osebja (slika 2) (15). Metode za mikrobiološki nadzor zraka delimo na pasivne



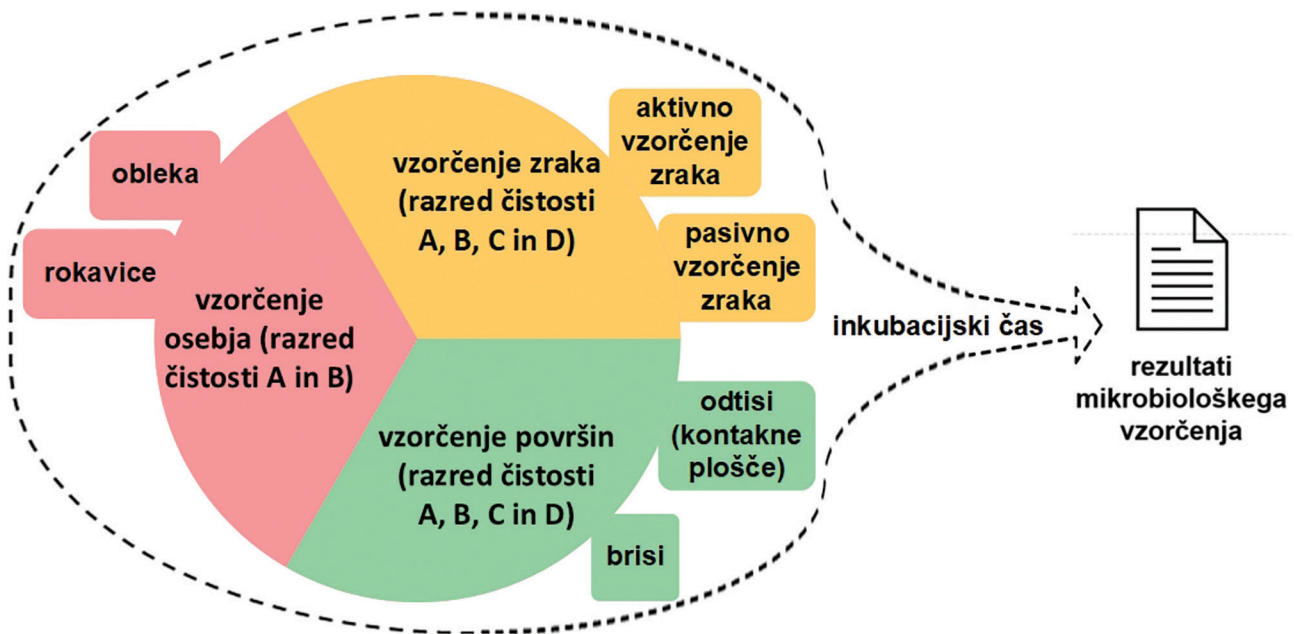
(sedimentacijske) in aktivne (volumetrične). Tradicionalno pasivno metodo vzorčenja zraka izvajamo s steriliziranimi petrijevskami z gojiščem, ki jih izpostavimo okolju, kjer nato predpisan čas (navadno 4 ure) zbirajo lebdeče mikroorganizme zaradi njihovega posedanja na gojišče. Volumetrično metodo izvajamo z aktivnim zbiranjem mikroorganizmov s presesavanjem predpisane količine zraka na gojišče (16). Postavitev merilnih mest je določena z analizo tveganja. Vzorčenje površin poteka v odvisnosti od njihove oblike in velikosti bodisi z uporabo kontaktnih plošč (odtisi) bodisi z uporabo brisov, kontrolo osebja pa z odvzemom odtisov prstov (v rokavicah) in odtisi delovne obleke (17, 18).

Večina mikrobiološke kontrole farmacevtskih izdelkov temelji na indirektni kontroli preko spremljanja mikrobiološke kontrole vstopnih materialov ter mikrobiološke kontrole pogojev okolja. To obsega omejeno količino vzorčenega zraka in površin ter omejen čas, s katerim nadziramo proizvodni proces. Neposredna mikrobiološka kontrola izdelka obsega le manjšo velikost vzorca izdelka. Prvi rezultati mikrobiološkega vzorčenja so zaradi dolgega inkubacijskega časa na voljo šele po nekaj dneh (19). V industriji je zdravilo sproščeno šele, ko so znani vsi rezultati predpisanih analiz (v kolikor je potrebno tudi testa sterilnosti). To pa ne velja

za bolnišnično okolje, kjer je čas med izdelavo in uporabo magistralnih zdravil za parenteralno aplikacijo praviloma tako kratek, da le-ti ne morejo biti podvrženi končni kontroli vseh parametrov kakovosti, predvsem pa ne testiranju sterilnosti, ker bi vse zelene mikrobiološke podatke pridobili le retrogradno, torej po uporabi zdravila (18).

Dolgotrajni mikrobiološki testi za bolnišnično proizvodno okolje niso sprejemljivi. Zato je potrebno pogoje izdelave spremljati z uporabo alternativnih hitrih metod za detekcijo mikroorganizmov oz. čistoče proizvodnih prostorov. Ena izmed njih je bioluminescenčna metoda merjenja celokupnega adenozin trifosfata (ATP), pri kateri lahko pridobimo rezultate že v nekaj minutah. Metoda temelji na merjenju svetlobe, ki se sprosti med specifično encimsko reakcijo. Količina sproščene svetlobe je sorazmerna vsebnosti ATP v vzorcu. To pomeni, da je rezultat, izražen v svetlobnih enotah, sorazmeren številu mikroorganizmov v vzorcu. Metoda je že močno razširjena za oceno ustreznosti mikrobiološke čistosti površin v prehrabni industriji, pa tudi v bolnišničnem okolju na intenzivnih enotah (18).

Drug primer alternativne hitre metode za detekcijo mikroorganizmov je biofluorescenčna metoda vzorčenja zraka, ki omogoča takojšno zaznavo in kontinuirano štetje lebdečih



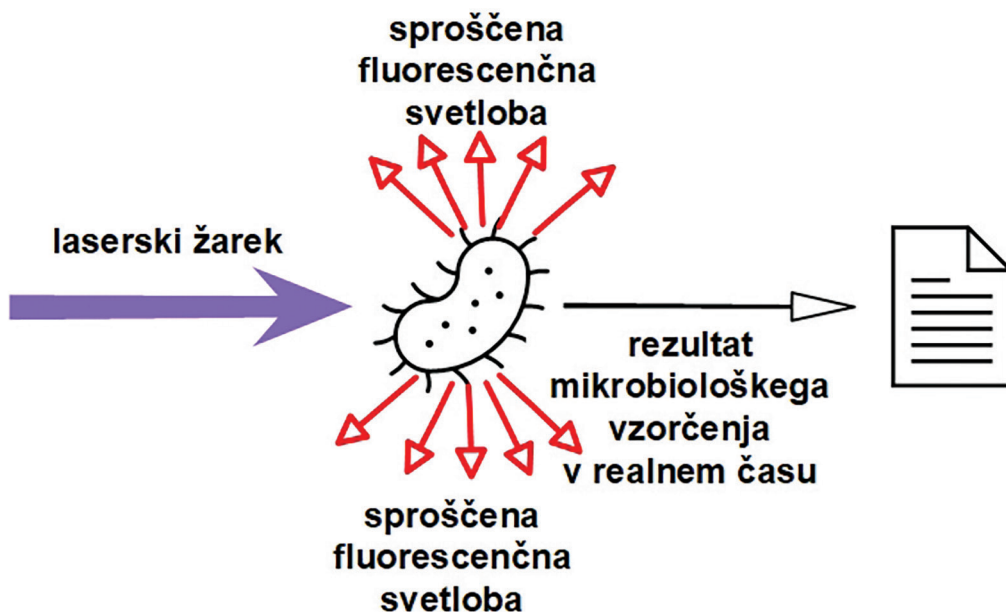
Slika 2: Trenutna strategija mikrobiološke kontrole pogojev okolja. Povzeto in izdelano po (15, 16, 17). Slika je bila izdelana s programom Microsoft Visio.

Figure 2: Current environmental microbiological monitoring strategy. Adapted and created from (15, 16, 17). Created in Microsoft Visio.

mikroorganizmov v proizvodnem prostoru (slika 3). Temelji na zaznavanju bioloških sestavin, kot so reducirana oblika nikotinamid adenin dinukleotida (NADH), riboflavin in dipikolinska kislina (piridin-2,6-dikarboksilna kislina). Gre za univerzalne spojine, ki so prisotne v vseh mikroorganizmih. Metoda temelji na merjenju svetlobe, ki se sprosti po obsevanju vzorca z lasersko svetlobo. Metoda je po načinu izvedbe podobna že uveljavljeni metodi kontinuirane kontrole prisotnosti lebdečih neživih delcev in prav tako omogoča prikaz rezultatov v realnem času. Dodatni posegi operaterjev v kritična področja procesa znotraj aseptičnega prostora med proizvodnim procesom niso potrebni, saj je merilna sonda nameščena v kritična področja že pred začetkom proizvodnje. S tem se zmanjša možnost mikrobiološke kontaminacije, prav tako pa tudi lažno pozitivnih rezultatov (19). Izkušnje kažejo, da so aseptični robotski polnilni sistemi brez rokavic izboljšali aseptični proces polnjenja in zapiranja vsebnikov v tolikšni meri, da je tveganje za mikrobiološko kontaminacijo ali za vnos delcev minimalno. Podatki ene izmed raziskav, ki je potekala med letoma 2018 in 2021 ter je vključevala osem podjetij iz različnih držav, so poka-

zali, da pri 52 simulacijah aseptičnega procesa ni bil kontaminiran noben vsebnik od skupno 184.565 enot. Glede na vzpodbudne podatke mikrobioloških pogojev okolja in glede na to, da v primeru robotskih sistemov brez rokavic človeških posegov v aseptično področje s strani operaterjev ni več, bi v prihodnosti lahko prišlo do prilagoditve strategije mikrobiološke kontrole pogojev okolja. Ta bi se glede na dosežanje izkušnje lahko bolj osredotočala na spremljanje kritičnih procesnih parametrov, ki imajo ključno vlogo pri zagotavljanju sterilnosti celotne serije farmacevtskega izdelka, kot na primer:

- izvedba testa puščanja izolatorja pred izvedbo dekontaminacijskega cikla;
- spremljanje parametrov dekontaminacijskega cikla;
- spremljanje števila neživih delcev v realnem času tekom celotnega proizvodnega procesa;
- spremljanje nadtlaka v realnem času tekom celotnega proizvodnega procesa;
- spremljanje temperature in vlažnosti zraka tekom celotnega proizvodnega procesa, vključno z dekontaminacijskim ciklom (15).



Slika 3: Shematski prikaz biofluorescenčne metode za mikrobiološko vzorčenje zraka. Lebdeči živi delci (bakterije) prečkajo laserski žarek, ki zato odda svetlobo daljše valovne dolžine, ki jo zazna naprava. Rezultat vzorčenja je na voljo v realnem času. Povzeto in izdelano po (19, 20). Slika je bila izdelana s programom Microsoft Visio.

Figure 3: Schematic illustration of the biofluorescence method for microbiological air sampling. Airborne viable particles (bacteria) pass the laser beam and eliminate light of a longer wavelength that is detected by the device. The sampling result is available in real time. Adapted and created from (19, 20). Created in Microsoft Visio.



3.4 ŠIRITEV UPORABE PREDSTERILIZIRANE OVOJNINE

Minilo je desetletje, odkar so se na trgu prvič pojavile za uporabo pripravljene predsterilizirane vial v gnezdih (angl. *ready-to-use pre-sterilized nests of vials*). Zasnovana so bila v sodelovanju s proizvajalci polnilnih linij, da bi odpravili procesne korake, kot so pranje, sušenje in sterilizacija vial (10). S tem si proizvajalci zdravil zmanjšujejo tveganja za kontaminacijo in skrajšujejo čas izdelave serije zdravila, prav tako pa tudi izboljšujejo stroškovno učinkovitost notranjih procesov (21). Z njihovo uvedbo se je zmanjšal obseg stika med samimi vialami ter med vialami in opremo, kar je prispevalo k manjšemu številu poškodovanih vial. Napredek v razvoju robotizacije je omogočil procesiranje predsterilizirane primarne ovojnine v gnezdih, kar je dodatno prispevalo k širitvi njihove uporabe. Dodatno k povečani uporabi predsterilizirane ovojnine prispevajo naraščajoče zahteve za varnost bolnikov (21). Zaradi povečevanja deleža manjših serij in vedno bolj kompleksnih proizvodnih procesov se pričakuje, da se bo potreba po predsterilizirani primarni ovojni povečevala tudi v prihodnje (10).

3.5 NAPOLNJENE INJEKCIJSKE BRIZGE IN AVTOMATSKI ODMERNIKI: TRENDI IN VPLIV NA PROIZVODNJO

Obseg uporabe bioloških zdravil raste vse od uvedbe rekombinantnega insulina leta 1982 in bo glede na napovedi rastel tudi v prihodnje (6). Število odobritev bioloških zdravil je že doseglo oziroma preseгло število odobritev zdravil z malimi molekulami. Posledično se zaradi potrebe po parenteralni aplikaciji bioloških zdravil povečuje uporaba parenteralnih farmacevtskih oblik (22). S tem se povečuje pritisk na zdravstveni sistem, saj lahko intravensko aplikacijo izvede le usposobljeno zdravstveno osebje. Za zdravstveni sistem je ugodneje, če si bolniki lahko zdravilo aplicirajo sami (11, 23).

Za samoinjiciranje je najbolj primerna subkutana aplikacija v obliki napolnjene injekcijske brizge, ki jo je mogoče uporabiti skupaj z avtomatskimi odmerniki. Ključni pogoj za njihovo vpeljavo je ustrezno izobraževanje bolnikov. Tako bi lahko imeli tudi bolniki z rakom možnost, da si določena zdravila samoinjicirajo v domačem okolju (24). Zaradi številnih prednosti, ki jih nudijo napolnjene injekcijske brizge tako proizvajalcem kot tudi bolnikom, je pričakovati, da bo njihova uporaba naraščala tudi v prihodnje. Te spremembe

bodo zahtevale prilagoditev oziroma vpeljavo nove proizvodne opreme in procesov. Posebno pozornost bo potrebno nameniti uporabi sodobnih materialov iz katerih so izdelane napolnjene injekcijske brizge. Zaradi potrebe po natančnem odmerjanju bodo potrebne visoko zmogljive aseptične polnilne linije z možnostjo avtomatskega nadzora mase polnjenja. Vse to zahteva celostno prilagoditev proizvodnega okolja, opreme in validacijskih strategij (5).

4 SKLEP

Zaradi stalnih zahtev po zmanjševanju tveganja za kontaminacijo med proizvodnjo sterilnih zdravil farmacevtska industrija že uporablja robotske izolatorje brez rokavic, ki v celoti odstranijo človeške posege iz aseptičnih prostorov in hkrati ščitijo zaposlene pri pripravi protirakavih zdravil. Pričakujemo, da se bo njihova uporaba v farmacevtski industriji in v bolnišničnih lekarnah povečevala tudi v prihodnje. Dodatno k zmanjševanju tveganja za kontaminacijo pripomorejo tudi hitri testi za detekcijo mikroorganizmov, predvsem biofluorescenčna metoda vzorčenja zraka, ki omogoča detekcijo mikroorganizmov v realnem času brez dodatnih človeških posegov. Prihodnje strategije mikrobiološke kontrole bodo vse bolj temeljile na spremljanju kritičnih parametrov, ki vplivajo na sterilnost izdelkov. V porastu je uporaba predsterilizirane ovojnine, saj poenostavlja proizvodnjo, zmanjšuje kontaminacijska tveganja, skrajšuje čas in povečuje stroškovno učinkovitost.

Za izboljšanje dostopnosti zdravljenja se bo povečevala tudi izdelava parenteralnih oblik v napolnjenih brizgah za samoinjiciranje, zlasti pri subkutani uporabi. Kljub tveganjem, ki jih prinašajo nove tehnologije, so njihove prednosti pomemben korak k varnejši in učinkovitejši proizvodnji zdravil.

5 LITERATURA

1. *Formularium Slovenicum: slovenski dodatek k Evropski farmakopeji: [prvo dopolnilo k šesti izdaji 2024]* [Internet]. Ljubljana: Javna agencija Republike Slovenije za zdravila in medicinske pripomočke (JAZMP); 2024 [citirano 8. september 2024]. Dostopno: <https://www.formularium.si>
2. Nema S, Ludwig JD. *Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications. Vol. 1, Formulation and Packaging. 3rd ed.* London; New York: Informa Healthcare, 2010. p. 1-6.

3. Bohinc P. Koren lečen koren strupen: kulturna zgodovina naravnih učinkovin. *Državna založba Slovenije*. 1992: 55.
4. Ribatti D. William Harvey and the discovery of the circulation of the blood. *J Angiogenesis Res*. 2009 Sep;1(1):3.
5. Sacha G, Rogers JA, Miller RL. Pre-filled syringes: a review of the history, manufacturing and challenges. *Pharm Dev Technol*. 2015 Jan;20(1):1–11.
6. Yoneda S, Torisu T, Uchiyama S. Development of syringes and vials for delivery of biologics: current challenges and innovative solutions. *Expert Opin Drug Deliv*. 2021;18(4):459-70.
7. European Commission. The Rules Governing Medicinal Products in the European Union. Volume 4 EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use. Annex 1. Manufacture of Sterile Medicinal Products [Internet]. *Bruselj*; 2022 [citirano 19. julij 2024]. Dostopno: https://health.ec.europa.eu/system/files/2022-08/20220825_gmp-an1_en_0.pdf
8. Bavčar V, Mitrovič S, Tršan M. Priprava sterilnih magistralnih zdravil v lekarni. *Farm Vestn*. 2022;73(4):327-35.
9. Agalloco J, Akers J. Aseptic Processing: A Vision of the Future [Internet]. 2005 [citirano 8. september 2024]. Dostopno: https://alfresco-static-files.s3.amazonaws.com/alfresco_images/pharma/2014/08/22/936f2151-0a45-4b5c-bda7-ca6d563e647d/article-160407.pdf.
10. Felicity T. Speeding Up Aseptic Processes. *BioPharm International*. 2024 Jun;37(6):7–9.
11. Tanzini A, Ruggeri M, Bianchi E, Valentino C, Vigani B, Ferrari F, et al. Robotics and aseptic processing in view of regulatory requirements. *Pharmaceutics*. 2023 May;15,1581:1-19.
12. Geersing TH, Franssen EJF, Pilesi F, Crul M. Microbiological performance of a robotic system for aseptic compounding of cytostatic drugs. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2019 Mar;130:181–5.
13. Palma E, Bufarini C. Robot-assisted preparation of oncology drugs: The role of nurses. *International Journal of Pharmaceutics*. 2012 Dec;439:286–8.
14. Onkološki inštitut Ljubljana, Bolnišnična lekarna [Internet]. Ljubljana; 2025 [citirano 5. april 2025]. Dostopno: <https://www.onko-i.si/o-nas/sektorji-in-oddelki/bolnisnicna-lekarna>
15. McCall J, Barnard N, Gadiant K, Kasireddy C, Kurtz A, Li Y, et al. Environmental monitoring for closed robotic workcells used in aseptic processing: Data to support advanced environmental monitoring strategies. *AAPS PharmSciTech*. 2022 Aug;23(6):215.
16. Debelak K. Vrednotenje mikrobiološke kakovosti okolja za pripravo farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo na oddelku za intenzivno terapijo Kliničnega oddelka za anesteziologijo in intenzivno terapijo operativnih strok v Univerzitetnem kliničnem centru : enoviti magistrski študijski program farmacija [Internet]. Ljubljana; 2015 [citirano 16. november 2024]. Dostopno: http://www.ffa.uni-lj.si/fileadmin/datoteke/Knjiznica/magistrske/2015/Debelak_Katja_mag_nal_2015.pdf
17. Sabatini L, Paolucci D, Marinelli F, Pianetti A, Sbafo M, Bufarini C, et al. Microbiological validation of a robot for the sterile compounding of injectable non-hazardous medications in a hospital environment. *Eur J Hosp Pharm*. 2020;27:e63-8.
18. Tršan M. Proučevanje bioluminescenčne metode za ocenjevanje mikrobiološke kakovosti prostorov v sterilni proizvodnji v bolnišnici: doktorska disertacija [Internet]. Ljubljana; 2020 [citirano 15. september 2024]. Dostopno: <https://repozitorij.uni-lj.si/lzpisGradiva.php?lang=slv&id=137119>
19. Weber J, Hauschild J, Ijzerman-Boon P, Forng RY, Horsch J, Yan L, et al. Continuous Microbiological Environmental Monitoring for Process Understanding and Reduced Interventions in Aseptic Manufacturing. *PDA J Pharm Sci Technol*. 2019 Mar;73(2):121–34.
20. Behrens D, Schaefer J, Keck CM, Runkel FE. Application of Biofluorescent Particle Counters for Real-Time Bioburden Control in Aseptic Cleanroom Manufacturing. *Applied Sciences* [Internet]. 2022 [citirano 15. september 2024]. Dostopno: <https://www.mdpi.com/2076-3417/12/16/8108/pdf?version=1661416966>
21. Research and Markets. Global Pre-Sterilized/Ready to Use Pharmaceutical Packaging Market Research Raport 203-2035: Robotic Systems Revolutionize RTU Fill and Finish Processes, Glass Vials Lead the Way. *Research and Markets*; 2023 [citirano 20. oktober 2024]. Dostopno: <https://www.globenewswire.com/news-release/2023/10/19/2762920/28124/en/Global-Pre-Sterilized-Ready-to-Use-Pharmaceutical-Packaging-Market-Research-Report-203-2035-Robotic-Systems-Revolutionize-RTU-Fill-and-Finish-Processes-Glass-Vials-Lead-the-Way.html>
22. Felicity T. Facing the Future of Aseptic Manufacturing. *Pharmaceutical Technology Europe*. 2023 Jun;47(6):20–2.
23. Prihodnost biološkega zdravljenja doma – ključna podpora zdravstvenega osebja in sistema [Internet]. Ljubljana; 2021 [citirano 6. oktober 2024]. Dostopno: <https://lek.si/sl/o-nas/za-medije/porocila-za-javnost/1164/prihodnost-biološkega-zdravljenja-doma-kljucna-podpora-zdravstvenega-osebja-in-sistema/>
24. I'ons G. Could pre-filled safety syringes facilitate the adoption of home administration for cancer patients? *J Oncol Pharm Practice*. 2020 Sep;26(8):1934–6.



NOVICE IZ SVETA FARMACIJE

NOVA EVROPSKA UREDBA O HTA PRINAŠA SKUPNE KLINIČNE OCENE

Mitja Kos

Z 12. januarjem 2025 se v Evropski uniji začne uporabljati nova uredba (Uredba 2021/2282/EU), ki uvaja pomembne spremembe pri umeščanju novih zdravil in medicinskih pripomočkov v zdravstveni sistem. Ključna novost je uvedba skupnih kliničnih ocen (angl. *joint clinical assessment*), ki bodo poenotile klinični del presoje novih zdravstvenih tehnologij na ravni celotne EU.

Vrednotenje zdravstvenih tehnologij (angl. *health technology assessment*, HTA) je sistematičen, pregleden in znanstveno utemeljen proces ocenjevanja, katerega namen je podpreti sprejemanje informiranih odločitev o upravičenosti uporabe zdravstvenih tehnologij in njihovi vključitvi v sistem zdravstvenega varstva. Pojem zdravstvena tehnologija pomeni tako zdravila, medicinske pripomočke in druge fizične tehnologije, kot tudi medicinske postopke ter ukrepe za preprečevanje, diagnostiko ali zdravljenje bolezni. HTA se deli na klinični del, ki vključuje varnost, učinkovitost in tehnične lastnosti zdravstvene tehnologije, ter neklinični del, ki poleg etičnih, pravnih in organizacijskih vidikov pomeni tudi ekonomsko vrednotenje zdravstvene tehnologije.

Elemente HTA, ne nujno v idealni obliki, smo že imeli vplejane v Sloveniji pri umeščanju zdravil v okviru Komisije za razvrščanje zdravil na Zavodu za zdravstveno zavarovanje Slovenije (ZZZS) ter drugih zdravstvenih tehnologij v okviru Zdravstvenega sveta pri Ministrstvu za zdravje. Skladno z uredbo se nadgrajuje dosedanje vrednotenje zdravstvenih tehnologij tudi v Sloveniji. Javna agencija Republike Slovenije za kakovost v zdravstvu, ki jo je vlada ustanovila 20. marca 2025 na podlagi Zakona o zagotavljanju kakovosti v zdravstvu, je organ pristojen za izvajanje HTA, kot

je opredeljen v uredbi. V vmesnem času so na Ministrstvu za zdravje ustanovili Sektor za vrednotenje zdravstvenih tehnologij, katerega delovanje bo v nadaljevanju prenešeno na novoustanovljeno agencijo.

Cilj uredbe HTA je zmanjšati podvajanje vrednotenja, povečati učinkovitost odločanja in omogočiti hitrejši dostop pacientov do inovativnih terapij. S tem namenom uredba na ravni držav članic Evropske unije uvaja poenoteno, skupno klinično oceno novih zdravstvenih tehnologij. Poleg skupne klinične ocene uredba predvideva tudi znanstveno svetovanje, prepoznavanje nastajajočih zdravstvenih tehnologij ter oblikovanje metodoloških in postopkovnih smernic. Skupne klinične ocene se bodo sprva izvajale za nova onkološka zdravila, zdravila za napredno zdravljenje in visokorizične medicinske pripomočke, uvrščene v razred IIb ali III, ter diagnostične medicinske pripomočke *in vitro*, uvrščene v razred D. V letu 2028 se bodo skupni klinični oceni pridružila zdravila sirote, do leta 2030 pa vsa nova zdravila, za katera je predvideno pridobiti dovoljenje za promet po centraliziranem postopku. Skupna klinična ocena se bo za zdravila izvajala vzporedno z registracijskim postopkom tako, da bi bila na razpolago čim hitreje po pridobitvi dovoljenja za promet. Pomembno je poudariti, da bo neklinični del ostal v pristojnosti posameznih držav članic, prav tako tudi vrednotenje drugih zdravstvenih tehnologij, ki niso zajete v skupni klinični oceni.

Poenoten sistem HTA na ravni EU pomeni večjo transparentnost in meddržavno usklajenost pri sprejemanju odločitev, dolgoročno pa naj bi pospešil dostop pacientov do novih terapij in zmanjšal administrativne obremenitve predvsem v tistem delu, ki se je do sedaj v posameznih državah članicah podvajal.

Viri:

1. UREDBA (EU) 2021/2282 EVROPSKEGA PARLAMENTA IN SVETA z dne 15. decembra 2021 o vrednotenju zdravstvenih tehnologij in spremembi Direktive 2011/24/E. URL: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/SL/TXT/PDF/?uri=CELEX:32021R2282&qid=1647941813418&from=EN>
2. Zakon o zagotavljanju kakovosti v zdravstvu (ZZKZ). Uradni list RS, št. 102/24. URL: <https://pisrs.si/pregledPredpisa?id=ZAKO9012>

ODKRITJE PEPTIDA LASO S ŠIROKOSPEKTRALNIM DELOVANJEM PROTI ODPORNIM BAKTERIJAM

Nataša Karas Kuželički

Odpornost bakterij na antibiotike je eden izmed največjih izzivov v medicini. V letu 2021 je odpornost na antibiotike povzročila okrog 1,1 milijonov smrti na svetu, predvideva pa se, da bi ta številka do leta 2050 lahko narasla na 1,9 milijonov. Iskanje novih antibiotikov je zato izredno pomembno, še posebno tistih, ki imajo zaradi svojega mehanizma delovanja nižji potencial za nastanek odpornosti. Raziskovalci z Univerze McMaster, Hamilton, Kanada in Univerze v Illinois, Chicago, ZDA so prišli do prebojnega odkritja novega naravnega antibiotika, ki je učinkovit tudi proti najbolj odpornim sevom bakterij. Članek, v katerem opisujejo odkritje in začetno karakterizacijo naravnega antibiotika, je 26. marca 2025 objavila revija Nature.

Raziskovalci so na različnih lokacijah zbrali mikrobiološke vzorce prsti in jih eno leto gojili v laboratoriju. Nato so vzorcem dodali bakterijo *Escherichia coli* in opazovali protibakterijske učinke. Eden izmed vzorcev je izkazoval še posebno visoko protibakterijsko aktivnost, in sicer vzorec bakterij vrste *Paenibacillus*, sev M2. Sekvenciranje genoma in strukturne študije so pokazale, da *Paenibacillus* med drugim izloča peptid, ki ima proteinu laso podobno strukturo oziroma zanko in je odgovoren za protibakterijske učinke. Omenjeni peptid sodi med lariocidine (LAR), ki so izkazali širok spekter protibakterijske aktivnosti, učinkoviti so celo proti *Acinetobacter baumannii*, gram negativni bakteriji, ki jo je Svetovna zdravstvena organizacija označila kot kritični patogen, ki povzroča resne bolnišnične okužbe. Miši, okužene z *Acinetobacter baumannii*, so brez terapije poginile v roku 24 do 28 ur, miši, ki so jih zdravili z LAR, pa so vse preživele do konca eksperimenta, se pravi več kot 48 ur.

Raziskovalci so s serijo poskusov uspeli ugotoviti tudi mehanizem delovanja LAR. S strukturnimi, genetskimi in biokemijskimi študijami so pokazali, da se LAR veže na ribosome v bakterijskih celicah in s tem moti normalno sintezo proteinov, kar vodi v smrt bakterijske celice. Peptid LAR se namreč veže na manjšo podenoto ribosoma (30S), kjer se veže na ribosomsko RNA 16S in aminoacil-tRNA ter tako zavre translakcijo, kar moti translacijo in vodi v sintezo

proteinov z napačnim aminokislinskim zaporedjem. Podobno kot nekateri drugi klinično pomembni naravni antibiotiki, ki delujejo na ribosome, ima tudi LAR zelo nizek potencial za razvoj bakterijske odpornosti. Poleg tega zaenkrat kaže, da LAR ne izkazuje toksičnosti do človeških celic *in vitro*.

Peptidi laso imajo edinstveno tridimenzionalno strukturo s C-končnim repom, ki sega skozi intramolekularni obroč, ki ga tvori vez med serinom in asparaginsko kislino, zaradi česar je njeno struktura zelo stabilna. Pred odkritjem LAR je bilo znano, da imajo nekateri peptidi laso protibakterijske lastnosti. Lasomicin npr. zavira proteazo ClpP in izkazuje aktivnost proti mikobakterijam, medtem ko mikrocilin J25 in kapistruin zavirata delovanje polimeraze RNA in sta aktivna proti Gramnegativnim bakterijam. Do sedaj še ni bilo pokazano, da bi peptidi laso delovali tudi na ribosome. Peptid LAR je zanimiv tudi z vidika, da se veže na druge dele ribosoma kot že poznani antibiotiki, ki delujejo na ribosome. Zato je LAR zelo dobra potencialna spojina vodnica za sintezo novega razreda antibiotikov.

Še zanimivost. Po besedah mikrobiologa Kima Lewisa (Univerza Northeastern, Boston, Massachusetts) se včasih najbolj zanimive stvari skrivajo na očitnih mestih. Bakterijo, ki proizvaja LAR, so odkrili v vzorcu prsti iz vrta enega izmed laboratorijskih tehnikov. Zgodba nekoliko spominja na slučajno odkritje penicilina, ko je Alexander Fleming leta 1928 zaradi slučajne kontaminacije bakterijske kulture s plesnijo vrste *Penicillium* odkril skupino zdravil, ki so spremenila svet.

Viri:

1. Jangra M et al. A broad-spectrum lasso peptide antibiotic targeting the bacterial ribosome. *Nature* 2025 Apr; 640(8060):1022-1030.



DRUŠTVENE VESTI

ACTIVITIES FROM THE SOCIETY

JUBILEJNI SIMPOZIJ SLOVENSKEGA FARMACEVTSKEGA DRUŠTVA OB 50. SKUPŠČINI IN 75-LETNICI USTANOVITVE

Andrijana Tivadar



Prof. dr. Tomaž Vovk, predsednik organizacijskega odbora, ob otvoritvi simpozija ob 50. skupščini SFD.

Med 8. in 10. majem 2025 je bil v Kongresnem centru Bernardin jubilejni simpozij Slovenskega farmacevtskega društva (SFD). Slovensko farmacevtsko društvo namreč letos praznuje izjemen mejnik – 75 let obstoja in nepreki-

njenega delovanja. Že vrsto let poteka maja v Portorožu skupščina društva in simpozij, ki privabi farmacevte z različnih področij dela. Program simpozija ponuja za vsakega nekaj in omogoča povezanost med lekarniško stroko, in-

dustrijo in akademskim okoljem. Strokovna predavanja na tridnevnem jubilejnem simpoziju so bila raznolika, med udeleženci tudi odlično ocenjena.

V četrtek popoldan smo se seznanili z novostmi na področju treh sekcij društva. Katja Pečjak Reven je v imenu regulatorne sekcije predstavila izzive, povezane z digitalizacijo navodil za uporabo zdravil, predsednica homeopatske sekcije dr. Maruša Hribar pa možnosti homeopatije, da postane del celostnega pristopa k zdravljenju. Prof. dr. Aleš Obreza, nekdanji predsednik sekcije za zgodovino farmacije, je predstavil raziskovalno delo na področju materije medike v Avstrijski provincialni farmakopeji iz leta 1794. Tematika bo zajeta tudi v pripravljajoči se znanstveni publikaciji, ki bo dostopna v e-obliki vsem, ki jih zanima zgodovina farmacije. Nedavno smo ponovno uvedli v program simpozija predstavitev izkušenj iz tujine. Gostja Ana Solda, predsednica Hrvaške lekarniške zbornice, je predstavila položaj farmacevtske stroke v sosednji državi Hrva-

ški. Kot piko na i prvemu dnevu smo imeli priložnost prisluhniti nedavno upokojenemu prof. dr. Matjažu Jerasu in zgodbi o njegovi navdihujoči karierni poti, na kateri se je ukvarjal z raziskovanjem naprednih celičnih terapij, ki lahko spremenijo življenje marsikateremu bolniku. Četrtekov program je prikazal raznovrstnost področij, na katerih so aktivni člani našega društva. Tudi tri satelitska predavanja na temo hripavosti in bolečine v grlu in žrelu, vloge rimegepanta pri zdravljenju migrene ter na temo debelosti so bila dobro obiskana.

Poleg strokovnih predavanj je četrtek zaznamovala tudi podelitev Minaříkovih priznanj in odličja v Gledališču Tartini, kjer kot društvo vsako leto izpostavimo izjemne dosežke članov v farmacevtski stroki. Prejemnica najvišjega društvenega priznanja za leto 2025 je farmacevtka Martina Klanjšček iz Lekarne Tolmin. Minaříkova priznanja so prejeli: dr. Maja Jošt, Barbara Koder, Samo Mahovič, prof. dr. Irena Mlinarič-Raščan in Irina Tegelj. Prireditve je vodil dr. Luka



Svečane podelitve priznanj v Gledališču Tartini so se udeležili tudi visoki gostje. V prvi vrsti od leve proti desni Petra Brodnik, članica uprave Kemofarmacije d. d., prof. dr. Rok Dreu, dekan Fakultete za farmacijo Univerze v Ljubljani, Nemanja Jankovič, predsednik uprave Kemofarmacije d. d., prof. dr. Radko Komadina, predsednik Slovenskega zdravniškega društva, Jože Colarič, predsednik uprave Krke d. d., Novo mesto, Vojmir Urlep, predsednik Odbora za podeljevanje društvenih priznanj.

Ličar, zaigrali in zapeli pa sta nepozabni mezzosopranistka Irena Yebuah Tiran in kitaristka Eva Hren. Osrednja pesem Kako lep je ta svet nas je nagovorila, da skušamo v poplavi slabih novic prepoznati lepoto v preprostih stvareh in spoštovati vse, kar nas obdaja. Posebej se nas je dotaknil tudi govor prejemnice Minařikovega odličja, ki ga objavljamo v tej številki Farmaceutskega vestnika.

Tradicionalno se je veselo druženje nadaljevalo na terasi lokala Caffè Teater, za kar je poskrbela podjetje Kemofarmacija, naklonjeno pa nam je bilo tudi vreme.

Petek je bil posvečen zdravljenju astme, kronične obstruktivne pljučne bolezni in cistične fibroze. Predavali so zdravniki in kolegi farmacevti. Svoje znanje so z udeleženci delili: izr. prof. Sabina Škrgat, dr. med., doc. dr. Peter Kopač, dr. med., Tina Morgan, mag. farm., spec., Nataša Pišek, mag. farm., spec., prim. mag. Matjaž Turel, dr. med., Barbara Salobir, dr. med., Katja Kalan, mag. farm., spec., Nina Kuckenberger, mag. farm., spec., dr. Ana Baumgartner, mag. farm. Popoldanska satelitska predavanja so bila zopet odlično ocenjena; predavatelji so izpostavljali pomembne vsebine, med drugim nujno kontracepcijo, kapljice za lajšanje težav z evaporativnim suhim očesom, zniževanje h-LDL, zdravljenje z vdihovalniki.

Ob počastitvi 75-letnice društva in 50. skupščine je 9. maja 2025 zvečer v dvorani Europa Kongresnega centra Bernardin potekala prireditve, na kateri je bil slavnostni govornik prof. dr. Tomaž Vovk, dolgoletni predsednik organizacijskega odbora za pripravo programa simpozija. Ob koncu svojega govora je povzel: »Društvo smo dejansko ljudje, člani društva, zato je pomembno, da ostanemo enotni in povezani, kar bo omogočilo napredek in rast tudi v prihodnje.«

Voditeljica prireditve je bila naša članica Andrea Šetina, ki je med drugim povedala: »Biti del tako velike in raznolike skupnosti je pomemben del naše poklicne identitete, pretekli dosežki društva pa so članom v čast in ponos.«

Del proslave je bila tudi premiera filma, ki smo ga na temo Med preteklostjo in prihodnostjo pripravili posebej za to priložnost. V kratkem dokumentarnem filmu so se predstavili nekateri člani in članice društva, ki so v zadnjih letih soustvarjali programe simpozijev: Marko Anderluh, Nataša Čater, Vladka Češek Bizjak, Andreja Čufar, Jelka Dolinar, Rok Dreu, Nastja Emeršič, Darja Frankič, Tajda Miharija-Gala, Katja Gombač Aver, Lilijana Grosek, Nuša Hameršak, Matjaž Jeras, Samo Kreft, Franc Kozjek, Gašper Marc, Aleš Mrhar, Slavko Pečar, Davorin Poherc, Mojca Prah Klemenčič, Stanislav Primožič, Katja Razinger, Aleš Rotar, Alenka Rutar Pariš, Tone Strnad, Elizabeta Suhadolc, Borut Štrukelj, Janez Toni, Matjaž Tuš, Uroš Urleb, Vojmir Urlep,



Nastop Irene Yebuah Tiran in Eve Hren, 8. maj 2025, Gledališče Tartini.

Tomaž Vovk in Franc Vrečer. Osvetlili so pretekle dosežke ter predstavili svojo vizijo prihodnosti, ki temelji na sodelovanju, strokovnem razvoju in povezovanju vseh deležnikov v farmacevtski skupnosti.

Uradni program ob 75. obletnici društva smo zaključili s pesmijo Skozi leta v izvedbi članov skupine Avtomobili, Marka in Mirka Vuksanovića, in ob spremljavi pevskega zbora Pharmony. Pevski zbor Fakultete za farmacijo Univerze v Ljubljani je prvič nastopal na dogodku SFD, a po slišnem takih priložnosti v prihodnosti pričakujemo še več.

V soboto, 10. maja 2025, smo imeli pred strokovnim delom simpozija skupščino društva. Poročilo o poteku skupščine je objavljeno v tej številki Farmaceutskega vestnika.

Strokovno je bila sobota dan za menopavzo. Neverjetno zanimanje za to temo je vse presenetilo, a predavateljice udeleženk in udeležencev niso razočarale. Navdušile in opolnomočile so jih: prof. dr. Ksenija Geršak, dr. med., doc. dr. Kristina Groti Antonič, dr. med., Melita Stopar Zeme, mag. farm., spec., in Melita Pretnar Silvester, dr. med. Še eno satelitsko predavanje pa je prikazalo novosti pri zdravljenju vazomotornih simptomov, povezanih z menopavzo.

Za nami je še en simpozij z bogato strokovno vsebino, a člani organizacijskega odbora so že v nizkem štartu za snovanje nove uspešne zgodbe. Izbrati morajo vsebine, ki bodo spet obogatile našo farmacevtsko skupnost z znanjem, izkušnjami, vrednotami in doživetji. Za simpozij ob 51. skupščini SFD je namreč že rezerviran Kongresni center Bernardin, in sicer od 14. do 16. maja 2026.

PREJEMNIKI IN PREJEMNICE DRUŠTVENIH PRIZNANJ V SLIKI IN BESEDI (objavljena besedila utemeljitev so bila prebrana na svečani podelitvi)



Na svečani podelitvi Minařikovih priznanj in odličja za leto 2025 v Gledališču Tartini v Piranu, 8. maja 2025 (od leve proti desni): prof. dr. Marko Anderluh, predsednik Slovenskega farmacevtskega društva; Irina Tegelj, prejemnica M. priznanja; prof. dr. Irena Mlinarič-Raščan, prejemnica M. priznanja; Samo Mahovič, prejemnik M. priznanja; Martina Klanjšček, prejemnica M. odličja; Barbara Koder, prejemnica M. priznanja; dr. Maja Jošt, prejemnica M. priznanja; mag. Vojmir Urlep, predsednik Odbora za podeljevanje društvenih priznanj.

dr. MAJA JOŠT, mag. farm., spec., prejemnica Minařikovega priznanja 2025

Maja Jošt je zaposlena na Univerzitetni kliniki za pljučne bolezni in alergijo Golnik. Skozi vso kariero je dokazovala, da ji je vselej mar in je vedno aktivno prispevala trud in znanje za napredek na vseh področjih. Je dolgoletna članica Slovenskega farmacevtskega društva, aktivna je bila v Sekciji kliničnih farmacevtov in v Gorenjski podružnici. V času vodenja lekarne Klinike Golnik je prispevala k dejstvu, da je farmacevtska dejavnost v terciarni ustanovi in zunaj nje pripoznana nepogrešljiv člen oskrbe pacientov,

kar v času, ko je sama začejala farmacevtsko pot, ni bilo samoumevno. Specifično vlogo farmacevta je uveljavila tudi v okviru alergološke dejavnosti v Kliniki Golnik. Na tem področju tudi objavlja v slovenskem in mednarodnem prostoru. Bila je dejavna pri uvajanju ambulant farmacevta svetovalca, saj je sodelovala v pilotnem projektu Zavoda za zdravstveno zavarovanje Slovenije. V zadnjih letih se je osredotočila na implementacijo brezšivne skrbi, najprej v okviru pilotnega projekta v Kliniki Golnik, nato pa na nacionalnem nivoju v skupinah na Ministrstvu za zdravje in Lekarniški zbornici Slovenije. V času strokovnega udejstvovanja je prispevala k izobraževanju



na področju klinične farmacije na Univerzi v Ljubljani, Fakulteti za farmacijo. Bila je mentorica številnim študentom, diplomantom in specialistom. Maja je med sodelavci nepogrešljiva zaradi požrtvovalnosti, predanosti in dobre volje. Z nepopisno potrpežljivostjo je skupaj s kolegi dosegla, da je brezšivna skrb postala s strani zavarovalnice priznana in plačana kognitivna farmacevtska storitev. S tem se je farmacevtska stroka v Sloveniji tako na sekundarnem kot na primarnem nivoju dvignila na povsem novo raven.

BARBARA KODER, mag. farm., spec., prejemnica Minařikovega priznanja 2025

Barbara Koder se je leta 2007 po končanem študiju na Fakulteti za farmacijo v Ljubljani zaposlila v Javnem zavodu Gorenjske lekarne. Od leta 2007 je tudi članica Slovenskega farmacevtskega društva. Kot lekarniški farmacevt je do sedaj delovala v več lekarnah zavoda, še posebej dragocene izkušnje pa je pridobila z delom v Farmakoinformativni službi. V okviru projekta Farmacevt zdravniku že 10 let lekarniški farmacevti na Gorenjskem posredujejo neodvisne informacije s področja zdravil zainteresirani strokovni javnosti. Leta 2016 je z odliko zagovorila specialistično nalogo *Vrednotenje optimizacije terapije z antihipertenzivi v okviru farmakoterapijskega pregleda pri*



populaciji starostnikov. Sodelovanje v razvojni nalogi ZZZS Kakovostno predpisovanje zdravil v ZD Ljubljana jo je opogumilo za pripravo farmakoterapijskih pregledov v domačem delovnem okolju že pred uradno uvedbo ambulant. Leta 2018 je pod okriljem JAZMP sodelovala pri pilotnem projektu farmakovigilanca v ZD Jesenice, ki spodbuja zdravnike k poročanju neželenih učinkov zdravil ob pomoči kliničnega farmacevta. Svoje delo je predstavila v več strokovnih publikacijah. Predava za strokovno javnost, večkrat tudi na dogodkih Slovenskega farmacevtskega društva. Je avtorica poglavja o železu v znanstveni monografiji *Minerali, vitamini in druge izbrane snovi*, ki je v okviru Slovenskega farmacevtskega društva izšla avgusta 2020. Barbara Koder je mentorica za lekarniško ter klinično farmacijo in sodeluje pri pilotnem projektu na temo odvisnega predpisovanja zdravil, ki predstavlja novo prelomnico v razvoju lekarniške farmacije. Je zelo predana svojemu poklicu ter vedno pripravljena na sodelovanje s farmacevti ter drugimi zdravstvenimi delavci iz različnih okolij. K prepoznavnosti poklica lekarniškega farmacevta v laični javnosti je večkrat prispevala tudi z nastopom v medijih. Predvsem pa verjame in zaupa v delo lekarniškega farmacevta na primarni ravni, pri čemer se zaveda izrazite odgovornosti ter potrebe po visoki kakovosti in kredibilnosti informacij, ki jih pacienti dobijo v lekarni. Ravno opolnomočenje pacientov v lekarni jo najbolj veseli ter jo polni z veliko energije za nadaljnje delo.

SAMO MAHOVIČ, mag. farm., prejemnik Minařikovega priznanja 2025

Samo Mahovič je študiral na Fakulteti za kemijo in tehnološko farmacijo na Univerzi v Trstu. Poklicno pot je začel v Obalnih lekarnah Koper in se preizkusil v opravljanju farmacevtske skrbi za obvladovanje hipertenzije. Hitro se je izkazalo, da se procesi v lekarništvu ne financirajo in odvijajo v pravo smer, zato je poskušal kot predsednik sindikata Sifarm izboljšati položaj farmacevta, ki so ga kot reguliran svobodni poklic vklenili med ostale javne uslužbence. Kot člana sveta zavoda Obalnih lekarn ga je zanimalo tudi poslovanje in organizacija. Kot vodja Zdravstvene točke na Zdravstveni zavarovalnici Triglav je spoznal delovanje in financiranje zdravstvenih sistemov po EU. Leta 2012 je prevzel predsedniško funkcijo Primorske podružnice Slovenskega farmacevtskega društva in vztrajal kar štiri mandate. Pri organizaciji predavanj je bilo njegovo vodilo spodbuditi kolege, da bi predstavili svoje izkušnje in znanje iz svojih okolij. V letu 2015 je uspešno organiziral družabno srečanje Martinovanje na Obali, ki je bilo namenjeno celotnemu Društvu. Na svoji poklicni poti v lekarništvu si je nabral veliko izkušenj, ki jih z veseljem deli s kolegi v zdravstvenem timu in z bolniki. Za prihodnost farmacije v smislu razvoja in tehnologije ga ni strah, saj je ogromno novega znanja in dovolj sposobnih strokovnjakov, ki znajo upravljati z dejavnostjo. Tako je tudi on v službi poskušal uvesti nove procese in storitve, kot je na primer



projekt medmrežnih storitev z namenom, da bi avtomatizirane in predvidljive storitve reševali bolj sodobno. Njegov pogum, da pove stvari na jasn in odločen način, nam je lahko vodilo, kako bo potrebno delovati v prihodnosti, da se bo zgodba o uspehu slovenske farmacije nadaljevala.

prof. dr. IRENA MLINARIČ-RAŠČAN, mag. farm., prejemnica Minařikovega priznanja 2025

Irena Mlinarič-Raščan je redna profesorica na Univerzi v Ljubljani, Fakulteti za farmacijo. Delovala je tudi na univerzah v Torontu, Tokiju, Dunaju in Bernu. Izkazuje izjemno raziskovalno uspešnost in mednarodno odmevnost svojih rezultatov s področja farmakogenetike, farmakogenomike in imunologije. Bogati jo izvorna samoiniciativnost, prodornost in doslednost. Intenzivno in uspešno sodeluje s študenti, farmacevtsko stroko in industrijo, s katerimi je izpeljala številne skupne projekte. S Slovenskim farmacevtskim društvom je povezana že od vpisa na Fakulteto za farmacijo, ko je bila predsednica Študentske sekcije, nato predsednica Jugoslovanskega združenja študentov farmacije in Mednarodne zveze študentov farmacije IPSF ter kasneje predsednica Sekcije farmacevtskih znanosti. Svoje organizacijske sposobnosti in občutek za skupinsko delo in dosežke udejanja preko dela v različnih odborih in komisijah na Univerzi v Ljubljani, Fakulteti za farmacijo, kjer je bila dekanja in prodeka-



nja. Je avtorica in soavtorica 85 originalnih znanstvenih član-
kov v tujih revijah s faktorjem vpliva, dveh patentov in učbe-
nikov ter povzetkov na znanstvenih konferencah. Bila je
mentorica petnajstim uspešnim doktorjem znanosti, men-
torica več kot 50 magistrantom. Vzgoja izjemnih raziskoval-
cev je razvidna iz številnih nagrad, ki so bile podeljene njenim
mentorirancem. Posebna odlika prof. dr. Irene Mlinarič-Raš-
čan je njena sposobnost pridobivanja in realiziranja razisko-
valnih projektov v domačih in tujih mrežah. Je pobudnica in
vodilna osebnost pri pridobivanju načrtov za izgradnjo nove
stavbe Fakultete za farmacijo v Ljubljani.

IRINA TEGELJ, mag. farm., spec., prejemnica Minařikovega priznanja 2025

Irina Tegelj se je po študiju leta 1999 zaposlila v bolnišnični
lekarni Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana, kjer ji iz-
zivov in raznolikoga dela tudi danes ne zmanjka. Delala je v
aseptični pripravi farmacevtskih oblik za oko in nadaljevala v
centralizirani pripravi protitumorih zdravil in individualne pa-
renteralne prehrane. Celostna oskrba bolnikov s parenteralno
prehrano združuje tako tehnološki kot klinični in socialni vidik
farmacije ter zahteva nenehno komunikacijo s strokovnim
osebjem bolnišnice, zlasti z zdravniki, s katerimi Irina odlično
sodeluje. Obiskala je kar nekaj bolnišničnih lekarn v tujini in
znanje pridobivala tudi na kongresih in izobraževanjih doma



in v tujini. Irina je na Kliničnem oddelku za intenzivno terapijo
otrok spoznala kompleksnost farmakoterapije kritično bolnih
otrok in novorojenčkov ter s svojo prisotnostjo in znanjem
vzpostavila delovno okolje za farmacevta na oddelku. Vklju-
čena je v terapevtsko spremljanje koncentracije zdravil in pri-
pravo protokolov zdravljenja. V SFD je članica več kot 20 let.
Je vabljen predavateljica na izobraževanjih, ki jih organizirajo
organizacije, kot so Slovensko farmacevtsko društvo in nje-
gove sekcije, Lekarniška zbornica Slovenije, različni oddelki
Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana in Sekcija medi-
cinskih sester in zdravstvenih tehnikov. Leta 2020 je bila po-
vabljen k sodelovanju v projektu, ki ga je financiralo Evropsko
društvo bolnišničnih farmacevtov in katerega glavni namen
je bila vzpostavitev baze podatkov z navodili za pripravo in
aplikacijo protimikrobnih zdravil. Je tudi članica mednarodne
delovne skupine Paedform za pripravo enotnega evropskega
formularija magistralnih zdravil za otroke. Irina Tegelj znanje
nesebično in zelo uspešno prenaša v slovensko okolje ter
vpliva na prepoznavnost in pomen bolnišničnih in kliničnih
farmacevtov v multidisciplinarnih zdravstvenih timih.

MARTINA KLANJŠČEK, mag. farm., prejemnica Minařikovega ODLIČJA 2025

V obdobju zadnjih 50 let je Martina Klanjšček ena naj-
aktivnejših članic Primorske podružnice Slovenskega far-



macevtskega društva. Kot direktorica Goriške lekarne, dolgoletna mentorica, zadnjih 25 let pa kot koncesionarka lekarne v Tolminu si je vseskozi prizadevala za kakovost lekarniških storitev, ustrezno organiziranost lekarniške službe, izobraževanje farmacevtskega kadra in dvig ugleda farmacevta kot nepogrešljivega člana v izvajanju zdravstvenega varstva. V skrbi za zagotavljanje bolniku kakovostne storitve je podpirala dodatna izobraževanja za pridobivanje novih kompetenc, ki farmacevtom omogočajo strokovno svetovanje na vseh ravneh zdravstvenega varstva. S pripravo različnih strokovnih predavanj v lokalnem okolju še danes dviguje zaupanje in ugled stroke. Mnogi prebivalci Posočja so izbrali njeno lekarno za svojo "izbrano lekarno". Na svoji dolgoletni poklicni poti je ob rednih delovnih obveznostih vseskozi opravljala še veliko drugih odgovornih nalog, ki so ji bile zaupane s strani

Slovenskega farmacevtskega društva, Združenja lekarn Slovenije, Lekarniške zbornice Slovenije kot tudi na lokalni ravni v Tolminu. Skrb za ohranjanje kulturne dediščine ter zgodovine Tolmina se odraža tudi v izdaji različnih knjižnih publikacij in glasila, ki ga izdaja Društvo za ohranjanje in razvoj Tolmina, katerega predsednica in glavna gonilna sila je že 10 let prav Martina. Njena odprtost do povezovanja s strokovnim društvom v zamejstvu v Italiji se je pokazala kot koristna, saj so danes člani Slovenskega farmacevtskega društva tudi zamejski kolegi, s katerimi kot predsednica Sekcije seniorjev pri SFD vzdržuje redne stike. Polna energije in novih načrtov je še vedno nepogrešljiva in dejavna tako v stroki kot v lokalnem okolju. Martina Klanjšček je dokazala, da je mogoče tudi v lekarni v manjšem kraju zasledovati visoke cilje lekarniške dejavnosti.

GOVOR PREJEMNICE MINAŘIKOVEGA ODLIČJA 2025 NA SVEČANI PODELITVI DRUŠTVENIH PRIZNANJ

Martina Klanjšček

Ko sem razmišljala o tem dogodku, sem seveda razmišljala o našem poklicu in o našem poslanstvu. Naš poklic je namenjen pripravi zdravila, njegovemu pravilnemu izboru in njegovi pravilni uporabi. To zahteva v prvi vrsti zelo široko znanje, predvsem dobro poznavanje zakonov biologije in kemije, anatomije in fiziologije in še posebej poznavanje sprememb, ki se v nekem organizmu dogajajo, ko ga napade bolezen.

Naše poslanstvo pa je pomagati človeku, bolnemu človeku in pri tem izkoristiti čim več znanja, ki se je skozi stoletja nabralo v naši stroki. Pa še to ni dovolj, potrebna je tudi empatija, moramo se znati približati bolniku, mu znati prisluhniti in vzbuditi njegovo zaupanje. Samo na tak način lahko pričakujemo, da bo bolnik verjel v zdravilo, upošteval naša navodila in ga pravilno uporabljal. In šele tako bo zdravilo na poti od nastanka do bolnika doseglo svoj cilj. Za ta cilj se trudimo vsi v farmacevtski stroki: raziskovalci in znanstveniki, ki iščejo nove formule in nove farmacevtske oblike; profesorji, ki vzgajajo študente, ki bodo svoje življenje posvetili delu z zdravili; tehnologi, analitiki in drugi strokovnjaki, ki morajo izpeljati proizvodnjo zdravil v skladu z visokimi zahtevami; distributerji, ki poskrbijo, da pride zdravilo v lekarno, do lekarniškega farmacevta in preko njega do bolnika. Vsi na tej poti moramo svoje delo opraviti odlično, napake so lahko nepopravljive. Seveda mora tudi lekarniški farmacevt svoje delo opraviti odlično, za njim ni več nobe-



nega analitika, nobenega testiranja. Pa še eno odgovornost ima: največkrat ljudem predstavlja edini stik s farmacevtsko stroko prav farmacevt v lekarni. Lahko rečemo, da je obraz farmacije. In če bo znal prepričati s svojo strokovnostjo in pravim pristopom, bo s strani uporabnika dosegel spoštovanje – ne le do sebe, ampak do farmacevtske stroke nasploh.

Na osnovi lastnih 50-letnih izkušenj v lekarni si upam reči, da se uspešno pomikamo v pravo smer, kvaliteta dela v lekarni je v teh letih zelo, zelo napredovala. Specializacija posameznih nalog omogoča bolj poglobljeno znanje. V lekarnah vedno več pozornosti namenjamo tistim, ki zdravila potrebujejo, vedno več dela pri pripravi zdravil pa prepuščamo tistim, ki so za to posebej usposobljeni.

V časih, ko je bil asortima zdravil neprimerno manjši, ponudbe prehranskih dopolnil pa praktično sploh ni bilo, smo v vsaki lekarni sami izdelovali poleg zelo pogosto predpisanih magistralnih zdravil tudi vsa galenska zdravila. Sami smo izdelovali sirupe, mazilne podlage, čaje, praške, svečke, pilule (spomnim se, da sem morala celo ponoči v dežurstvu izdelati pilule, ki jih je predpisal zdravnik).

Vsekakor smo morali skoraj več časa posvetiti izdelavi zdravil kot bolniku, ki je prišel ponje. Potem se je ponudba zdravil počasi povečevala, kar je zmanjševalo potrebo po magistralnih zdravilih. Trg so preplavila prehranska dopolnila, kar je zmanjšalo potrebo po galenskih izdelkih in v nekaterih lekarnah so bili organizirani specializirani oddelki, galenski laboratoriji, ki danes izvajajo izdelavo galenskih zdravil v strogih, kontroliranih pogojih.

Tako je lekarniški farmacevt pridobil več časa, ki ga lahko posveti bolniku. Včasih smo rekli, da se obrača od zdravila k bolniku. Ne gre več zgolj za izdajo zdravil, gre za pogovor z bolnikom, pogovor o njegovih posebnostih, o uporabi prehranskih dopolnil in drugih sredstev, ki bi lahko vplivala

na delovanje zdravila. To terja drugačno usposobljenost lekarniškega farmacevta in veliko dodatnega usposabljanja. K temu je pripomogla tudi naša Fakulteta z uvedbo programa socialne farmacije in moram reči, da so mladi farmacevti veliko bolje kot nekoč pripravljene na delo v lekarni. In ne nazadnje, po dolgih letih nam je preko Lekarniške zbornice uspelo doseči priznanje dveh pomembnih novih storitev, ki potrjujejo in povečujejo pomembnost naše vloge v zdravstvu. Ti dve storitvi sta: pregled uporabe zdravil, ki ga izvajamo že skoraj v vsaki lekarni in farmakoterapijski pregled, ki ga naši specialisti izvajajo kot svetovalci v zdravstvenih ustanovah.

Mislím, da lahko rečem, da smo vsi skupaj lahko ponosni na napredek lekarniške dejavnosti in da se mirno lahko primerjamo s tozadevno najbolj razvitimi državami. Močno pa upam, da napredujoča digitalizacija in umetna inteligenca nikoli ne bosta izrinili lekarniškega farmacevta – čeprav nikoli ne bom pozabila obiska pri enem od nekdanjih ministrov za zdravje, ki nas je vprašal: »In kdaj mislite, da bom doživel, da me bodo potem, ko bom obiskal zdravnika, ki mi bo predpisal zdravila, ta že čakala doma?« Očitno je bil mnenja, da smo farmacevti zgolj poštarji med zdravnikom in bolnikom, ki so mu bila predpisana zdravila. Ampak, NE! Verjamem, da se to ne bo zgodilo, če bomo lekarniški farmacevti svoje delo sprejemali kot poslanstvo, znali uporabiti vse svoje znanje in se znali približati bolniku, človeku v stiski. Samo na tak način bomo dokazovali svojo nepogrešljivost in potem vam zagotavljam, da boste pri delu v lekarni doživeli vsaj toliko lepih trenutkov, kot sem jih na svoji lekarniški poti doživela jaz.

Na koncu se še enkrat zahvaljujem za visoko priznanje, ki ste mi ga namenili, sprejemam ga s hvaležnostjo in ponosom – kot priznanje slovenskemu lekarniškem farmacevtu.

GOVOR OB PODELITVI PRIZNANJ SLOVENSKEGA FARMACEVTSKEGA DRUŠTVA

Marko Anderluh, predsednik Slovenskega farmacevtskega društva



Spoštovani, čas je osrednja nit našega današnjega srečanja – kot ključna komponenta ob 50. obletnici simpozija ob skupščini ter 75. obletnici Slovenskega farmacevtskega društva. Prva odličja našim članom smo podelili prav na enem izmed teh pomembnih srečanj 50 let nazaj.

Albert Einstein je čas označil kot četrto dimenzijo prostor-časovnega kontinuuma – neotipljivo, a nenehno prisotno in izjemno vplivno. Čas si lahko predstavljamo kot reko, v katero zaplujemo ob rojstvu in iz katere izstopimo ob koncu življenjske poti. Je edinstvena dobrina: ne moremo je ustvariti, niti ponoviti. Čas preprosto *je*. Teče ne glede na nas, ne oziraje se na naše želje, a vendarle nam je podarjen. Zato je toliko bolj pomembno, kako ga preživimo. Lahko

smo zgolj nemi opazovalci, ki pustijo, da nas valovi časa premikajo sem in tja. Lahko mu kljubujemo, a kljub vsemu nas čas slej ko prej dohiti. In vendar imamo možnost, da čas izkoristimo. Da živimo dejavno, polno in za seboj pustimo neizbrisen pečat. V obliki otrok, družine, prijateljev. V obliki dosežkov. V obliki uresničenih sanj in ambicij. Vsak posameznik izbira svoje prioritete. Kot društvo pa imamo odgovornost in čast, da prepoznamo tiste, ki so svojo energijo, znanje in, kar danes posebej izpostavljam, svoj čas, nesebično posvetili rasti stroke in razvoju društva. To so posamezniki, ki so s svojim delovanjem izstopali, ne le iz povprečja, temveč iz visokega povprečja slovenske farmacevtske stroke. Vsako leto se tem posameznikom iskreno zahvalimo. A dovolite mi nekoliko šaljivo opombo:



žal nagrada ni finančna, prav tako vam ne moremo vrniti časa, ki ste ga vložili. Zaenkrat še ne obvladamo tega segmenta fizike. Lahko pa vaša imena izpostavimo in se vam zahvalimo ob tako svečani priložnosti, kot je današnja.

Ko pomislim na letošnje prejemnike priznanj, brez dvoma izstopajo v najlepšem pomenu besede. Eden izmed njih prihaja iz meni zelo domačega primorskega okolja – zdi se mi, kot da sem še včeraj grel klopi Gimnazije Koper. Da je od tega minilo že precej let, me opozarjajo kolegi, ki pripravljajo 30. obletnico mature. Z eno izmed današnjih prejemnic priznanja sem delil začetke svoje kariere. Bila je ena prvih študentk, ki sem ji kot delovni mentor pomagal do diplome. Spominjam se njene predanosti, vztrajnosti in uspehov, a tudi kakšnega spodletelega poskusa. V laboratoriju smo takrat izvajali reakcije z nitriranimi heteroaromati, obarvanimi rumeno. Ko je pred koncem dneva pominjala steklovino, so bile njene roke popolnoma rumene. Ker si je z njimi popravljala zaščitna očala, je bila rumena tudi po obrazu. Na srečo obarvanje ni bilo trajno, spomin pa je ostal. Najine poti so se po diplomi razšle, a spet sre-

čale pri nedavnem zagovoru njenega doktorata in tudi danes. S še eno letošnjo nagrajenko sem sodeloval v zadnjih letih svojega strokovnega dela. Skupaj sva sodelovala pri vodenju Fakultete za farmacijo Univerze v Ljubljani šest izjemno intenzivnih let. To so bila najzahtevnejša leta moje poklicne poti. Poleg vsakodnevnih izzivov smo se spopadli s pandemijo covid-19 ter z nepričakovano odločitvijo Ministrstva za zdravje, ki je čez noč odvzelo fakulteti pravico do izvedbe strokovnih izpitov. Vse to nas ni ustavilo, prej nas je povežalo.

Ob tem jubileju se zazremo tudi v preteklost podeljevanja nagrad: za nami je 50 let! Če to primerjamo z zakonom, je zlata poroka simbol izjemnega življenjskega dosežka: ljubezni, predanosti in spoštovanja. Tudi danes imamo priložnost za slavlje – slavlje odnosa med posameznikom in stroko, med farmacevtom in skupnostjo, med vami, nagrajenci, in našim društvom. Naj bo ta zlata obletnica posvečena vam, dragi nagrajenci. Hvala vam za vaš čas, predanost in neprecenljiv prispevek k delovanju farmacevtske stroke in Slovenskega farmacevtskega društva!

ZAHVALA

Hvala vsem sponzorjem in podpornikom
za udeležbo na simpoziju ob 50. skupščini SFD!

Z vašo pomočjo lahko širimo strokovno znanje,
povezujemo posameznike in ustvarjamo skupnost.

Veselimo se prihodnjih priložnosti za sodelovanje!

#SFD #OstanimoPovezani

POROČILO O 50. SKUPŠČINI SFD

Andrijana Tivadar

V soboto, 10. maja 2025, je v Portorožu potekala skupščina Slovenskega farmacevtskega društva (SFD). Delegati so se zbrali ob 9. uri zjutraj v dvorani Europa v Kongresnem centru Bernardin. Večina jih je bila pod vtisom petkove proslave ob jubileju SFD, ki je člane ganila in povezala, vključno s prikazanim filmom. Na predlog predsednika SFD, prof. dr. Marka Anderluha, so delegati najprej potrdili dnevni red 50. skupščine, ki ga je predlagal Izvršni odbor (IO) SFD na 14. seji IO SFD, ki je potekala 23. aprila 2025. Prisotnih je bilo 75 % napovedanih delegatov, ki so predstavljali vse podružnice in sekcije. Sklepe je skupščina sprejemala z dvigom rok prisotnih delegatov. Najprej so delegati potrdili delovno predsedstvo oz. organe 50. skupščine:

- delovna predsednica: Saša Zaviršek Mikolič
- člana: Andrea Šetina, Samo Urdih
- zapisničarica: Andrijana Tivadar
- overovateljka zapisnika: Peter Demšar, Patricija Dolinar
- verifikacijska komisija: Nastja Emeršič, Gal Belič

Predsednik SFD Marko Anderluh je najprej predstavil poročilo o delu v letu 2024, povzel je dogodke, ki jih je SFD organiziral v minulem letu. Pri založništvu je izpostavil Farmaceutski vestnik in intervju z Nobelovim nagrajencem sirom Gregoryjem Paulom Winterjem, ki je bil objavljen v 5. št. Farmaceutskega vestnika 2024. Stalnica pri poročanju o aktivnostih društva je tudi projekt promocije zdravja Sekcije farmacevtov javnih lekarn, ki je v letu 2024 izdala knjižico na temo tarčnih zdravil, prvič pa je pripravila tudi podcast. Decembra 2024 je izšla 1. številka priložnostne publikacije Sekcije farmacevtskih tehnikov – Libra. SFD je v letu 2024 organiziral 112 strokovnih dogodkov, od tega 10 simpozijev, 78 strokovnih izpopolnjevanj po podružnicah in 21 dogodkov sekcij. Po prvem skupnem dogodku SFD in Slovenskega zdravniškega društva v letu 2023 je dogodek Z roko v roki uspel tudi v letu 2024. Za člane so tudi v letu 2024 bila na voljo e-izobraževanja preko spletne strani SFD. Sodelujemo na sestankih mednarodnih organizacij, katerih člani smo kot SFD: Evropska federacija farmacevtskih znanosti (EUFEPS), Evropska federacija za farmacevtsko kemijo (EFMC), Evropsko združenje bolnišničnih farmacevtov (EAHP), Mednarodna farmacevtska federacija (FIP), Evropsko društvo kliničnih farmacevtov (ESCP), Evropsko homeopatsko društvo (ECH) in Evropsko združenje farmacevtskih tehnikov (EAPT). V letu 2022 je bil sprejet

sklep, da se nedokončani poslovni prostor v lasti SFD na Dunajski 196 finalizira in začne uporabljati za društvene aktivnosti. Izdelana je bila projektna dokumentacija in pridobljeno gradbeno dovoljenje, v letu 2024 pa smo pristopili k pridobivanju ponudb za gradbeno-obrtniška dela. Pomemben del našega delovanja so tudi družabna srečanja. V letu 2024 smo tako uspešno izvedli FarmaSki v januarju ter FarmaJesen oz. plesni večer SFD v oktobru. Člani se družijo tudi na ekskurzijah in izletih.

Generalna sekretarka Andrijana Tivadar je izpostavila, da k delovanju društva in uspehom prispeva vsak član društva. Nato je predstavila finančno poročilo. Poslovanje SFD je bilo v letu 2024 zelo uspešno, prihodki so bili preseženi za 3,1 % glede na plan, odhodki so bili zelo dobro planirani, saj so bili manjši le za 0,1 %. Društvo je pridelalo presežek prihodkov nad odhodki – dobra finančna osnova je pomembna za realizacijo aktivnosti, ki nimajo drugih virov financiranja – prosta denarna sredstva so predvidena za finalizacijo poslovnega prostora na Dunajski 196. Kar 75,8 % prihodkov je od organiziranja strokovnih in družabnih dogodkov in prodaje strokovne literature. Ostali prihodki so iz naslova nepridobitne dejavnosti, kamor štejemo članarino (19 % celotnih prihodkov), proračunska in ostala javna sredstva (prispevek Agencije za raziskovalno in inovacijsko dejavnost Republike Slovenije (ARIS) za FV ter delež dohodnine) ter donacije pravnih oseb. Najvišja postavka pri odhodkih so stroški storitev (76,7 % celokupnih odhodkov). Ostali stroški so stroški dela, članarine mednarodnim organizacijam, davek, amortizacija in materialni stroški. Članstvo v SFD je stabilno in počasi raste.

Vladka Češek Bizjak, predsednica nadzornega odbora (NO) SFD, je povedala, da so članice NO (Alenka Kovačič, Miroslava Abazović, Vladka Češek Bizjak) na seji 20. 3. 2025 zelo podrobno obravnavale poročilo o delu in poslovanju SFD v letu 2024 ter bile sklepčne, da društvo posluje v skladu z načrtom in sprejetim programom dela. Uspešno organiziramo strokovna predavanja in druženja; pomemben del delovanja društva pa je tudi založništvo, saj prispeva k strokovnemu razvoju, informiranju članov in širše. Tudi podružnice in sekcije delujejo tako finančno kot strokovno zelo vzorno. Zato je finančno poslovanje društva stabilno, pozitivno in brez zaznanih nepravilnosti. Člani društva opravljajo delo strokovno, zavzeto in preudarno, kar se odraža v kakovostnem in transparentnem delovanju društva.



Predsednik SFD, prof. dr. Marko Anderluh, je predstavil delovni plan za leto 2025, generalna sekretarka SFD Andrijana Tivadar pa finančni načrt. Seznanila je delegate, da bo članarina v letu 2026 enaka kot v letu 2025: zaposleni farmarji 39 €, tehniki 27 €, seniorji 22 € in študenti 16 €.

50. skupščina SFD je soglasno potrdila poročilo o delu SFD za leto 2024, poročilo o poslovanju SFD za leto 2024 in poročilo NO za leto 2024, delovni in finančni načrt za leto 2025 in višino članarine v letu 2026.

Na volilni 50. skupščini so nato delegati najprej razrešili organe društva, nato pa se je predstavil kandidat za predsednika v mandatu 2025–27, prof. dr. Marko Anderluh.

Povedal je, da si želi krepiti odnose z javnostjo (strokovno in laično), krepiti zaupanje javnosti v zdravila, povečevati ugled poklica, iskati ideje za gospodarno razpolaganje z osnovnimi sredstvi SFD. Simpozije in druge aktivnosti si želi vrniti na predkoronski čas. Povabil je člane, da prispevajo s svojimi idejami ter jih posredujejo na sedež društva. Nato je 50. skupščina SFD potrdila organe SFD za nov mandat. Predsednica delovnega predsedstva se je zahvalila dolgoletnemu predsedniku organizacijskega odbora za simpozij prof. dr. Tomažu Vovku. Čestitala je tudi novemu predsedniku SFD, ki se je zahvalil za izkazano zaupanje, ki ga je prejel z izvolitvijo za predsednika SFD.

Pod točko razno so bili še enkrat predstavljeni prejemniki društvenih priznanj, ki jim je predsednica delovnega predsedstva skupščine Saša Zaviršek Mikolič še enkrat čestitala, kakor tudi vsem prejemnikom pohval.

Minařikovo odličje 2025 je prejela

MARTINA KLANJŠČEK

Minařikova priznanja 2025 so prejeli

MAJA JOŠT

BARBARA KODER

SAMO MAHOVIČ

IRENA MLINARIČ-RAŠČAN

IRINA TEGELJ

Prejemniki pohval 2025:

ALENKA GRANDOVEC	MOJCA KEREK KOS
ALEŠ KNOLL	NINA CVETKO
ANDRAŽ POČIČ	PATRICIJA DOLINAR
ANDREJ KRAŠEVEC	PETRA KOCBEK
ANDREJA BREGAR	PIA PLANINŠEK
ANDREJA ČUFAR	SABINA KREGAR
ANDREJA TOMINC	SABINA ZAMIDA
IZTOK DOVNIK	SIMON MEDVED
JADRANKA GJERKEŠ PANCÍČ	STANISLAV PIŠEK
KATARINA PUSSEK	ŠPELA ZUPANČIČ
LEA KUZMIČ	TADEJA FURMAN
LJUBICA LOVIŠČEK	TATJANA SUKIČ
MARJETKA KORPAR	TIHOMIR TOMAŠIČ
MARTINA HRAST RAMBAHER	TJAŠA ŠKERL RIFELJ
MATEJ DOBRAVC VERBIČ	URŠKA LUČEV
MATEJA MRGOLE	VESNA FARIČ TUŠ
MIROSLAVA ABAZOVIČ	ZDENKA PETRUNA

ORGANI SFD ZA MANDAT 2025-2027

IZVRŠNI ODBOR	MANDAT: 2025-27
Predsednik SFD	MARKO ANDERLUH
Celjska podružnica	FRIDA NOVAK
Dolenjska podružnica	IZTOK DOVNIK
Gorenjska podružnica	PATRICIJA DOLINAR
Ljubljanska podružnica	TINA BAJC
Mariborska podružnica	ROK BEGUŠ MIHELIČ
Pomurska podružnica	SAŠA ZAVIRŠEK MIKOLIČ
Posavska podružnica	META BOGOVIČ
Primorska podružnica	SAMO URDIH
Zasavska podružnica	MAJA STARIČ
Homeopatska sekcija	MARUŠA HRIBAR
Sekcija bolnišničnih farmacevtov	ALJAŽ SOČAN
Sekcija farmacevtskih tehnologov	ALENKA ZVONAR POBIRK
Sekcija farmacevtskih tehnikov	MONIKA VESEL
Sekcija farmacevtskih znanosti	MITJA KOS
Sekcija kliničnih farmacevtov	MATEJ DOBRAVC VERBIČ
Sekcija farmacevtov javnih lekarn	MAŠA KORITNIK ZADRAVEC
Sekcija seniorjev	MARTINA KLANJŠČEK
Sekcija študentov	NASTJA EMERŠIČ
Sekcija za farmacevtsko kemijo	TIHOMIR TOMAŠIČ
Regulatorna sekcija	MIRELA BAJRIČ
Sekcija za zgodovino farmacije	IRENA DEBELJAK
NADZORNI ODBOR	VLADKA ČEŠEK BIZJAK KARMEN GROM ŽIGA JAKOPIN
DISCIPLINSKO SODIŠČE	ŠPELA SAVŠEK TOMAŽ VOVK IVAN ZAJC DIONIZIJ PETRIČ JANEZ KERČ NADA IRGOLIČ MAJA VALTER
ODBOR ZA PODELJEVANJE DRUŠTVENIH PRIZNANJ	VOJMIR URLEP NATAŠA ČATER ROMANA RAKOVEC FRANCI TRATAR LEA KNEZ ANDREJA ČUFAR SLAVICA ŠEŠEK
IZDAJATELJSKI SVET	JANEZ MRAVLJAK MATEJKA CVIRN NOVAK HELENA PAVŠAR MIROSLAVA ABAZOVIČ SARA KENDA ALJAŽ SOČAN SMILJANA MILOŠEV TUŠEVLJAK
ODGOVORNA UREDNICA FARMACEVTSKEGA VESTNIKA	MOJCA KEREK KOS



SLAVNOSTNI GOVOR PROF. DR. TOMAŽA VOVKA NA JUBILEJNI SVEČANOSTI

Spoštovan predsednik Slovenskega farmacevtskega društva (SFD) prof. dr. Marko Anderluh, generalna sekretarka društva dr. Andrijana Tivadar, ostali visoki gostje, drage farmacevtke in farmacevti. V veliko čast mi je, da vas lahko nagovorim ob visokem jubileju SFD.

Letos obeležujemo kar dve obletnici. Najprej 75. obletnico ustanovitve društva, ki je bilo potrjeno na ustanovitvenem 1. občnem zboru, 25. februarja 1950 v Ljubljani. Prvotno je bilo imenovano Farmaceutsko društvo Slovenije in se šele čez dve desetletji preimenovalo v Slovensko farmacevtsko društvo, tako kot ga poznamo še danes. Društvo je v svojem začetku skrbelo za strokoven napredek in razvoj farmacevtske stroke, predvsem lekarništva, saj je bilo v povojnih časih veliko pomanjkanje kadra, ki bi lahko zagotovilo osnovno lekarniško dejavnost. V zapisih iz takratnih občnih zborov je mogoče razbrati velik poudarek in nujno po uvedbi študija farmacije na Univerzi v Ljubljani. Slednje se je uresničilo leta 1960. Sledila so prizadevanja društva po uveljavitvi strokovne, znanstvene in raziskovalne dejavnosti. Društvo je organiziralo številne strokovne kongrese farmacevtov Jugoslavije in vidnejši člani društva so postali najuglednejši predstavniki farmacije v bivši državi. Prav njihove aktivnosti so omogočile širitev delovanja društva tudi v mednarodno okolje. Člani društva so se udeleževali strokovnih, znanstvenih in raziskovalnih izobraževanj v tujini, njihova prepoznavnost in uspehi pa so pripomogli k temu, da je bilo društvu omogočeno organiziranje mednarodnih srečanj. Pri skrbi društva za strokovno rast članov je bila pomembna tudi njegova založniška dejavnost, ki se je začela sočasno z ustanovitvijo društva. Leta 1950 je izšel prvi Farmaceutski vestnik, ki od vsega začetka prinaša znanstveno-raziskovalne in pregledne strokovne vsebine ter hkrati tudi aktualne novice iz stroke in društvenega življenja. Krajše obdobje je društvo izdajalo tudi nacionalni bilten o zdravilih Farmakon. Pod okriljem društva so izšli številni zborniki, ki so nastali na osnovi prispevkov predavateljev strokovnih in znanstvenih izobraževanj. V 70. in 90. letih prejšnjega stoletja je društvo prevzelo vlogo založnika mnogih učbenikov za študente farmacije, kasneje pa se je preusmerilo na znanstvene monografije, priločnike, terminološki slovar ter strokovno informativne knjižice. Rast SFD pa ne bi bila mogoča brez zunanjih partnerjev. Delodajalci članov društva so, predvsem bi izpostavil slovensko farmacevtsko industrijo, tuja predstavništva, veletrgovine, proizvajalce in distributerje prehranskih dopolnil in medicinskih pripomočkov, skupaj z lekarništvom, regulatornimi, pedagoškimi in raziskovalnimi institucijami, nudili vso potrebno podporo, da je društvo raslo

skupaj s stroko. Društvo pa ne bi bilo društvo, če ne bi organiziralo tudi družabnih in kulturnih prireditev. Družabne aktivnosti omogočajo večjo povezanost članov društva, zato so tovrstne vsebine postale stalnica pri organizaciji simpozijev ter tradicionalnih in nepogrešljivih dogodkov podružnic in sekcij društva. Večkrat pravimo, da so SFD člani društva. Število članov društva je od leta 1952, ko je društvo imelo 184 članov, neprestano raslo in danes šteje že približno 3600. Društvo je danes organizirano v 9 regionalnih podružnic ter v 12 strokovnih sekcij.

Drugi jubilej, ki ga danes obeležujemo, je 50. obletnica simpozija ob skupščini SFD, ki ima, poleg Farmaceutskega vestnika, najdaljšo tradicijo med dejavnostmi društva. Simpozij ob skupščini je največji letni dogodek društva in je pomemben vezni člen najrazličnejših področij v farmaciji. Je strokovno-družabno-kulturni dogodek, ki se je selil po različnih lokacijah v Sloveni in obravnaval najaktualnejše trende v farmaciji, a hkrati prisluhnil željam in interesu članov. V zadnjih 25 letih je dogodek vključeval tudi učne delavnice, ki so bile namenjene predvsem praktičnemu usposabljanju članov. Več kot deset let je del programa tudi izbrano predavanje, s katerim obeležujemo aktivnosti najuglednejših članov društva, ki so pustili v stroki neizbrisen pečat. V zadnjih letih poskušamo v programu simpozija prikazati najvidnejše dosežke posameznih sekcij, informirati udeležence simpozija o najpomembnejših novostih na področju farmakoterapije, naj sodobnejših trendih razvoja farmacije ter izmenjati mednarodne izkušnje in poglede na razvoj lekarništva. Dogodek združuje med 400 in 500 udeležencev, na njem sodeluje tudi več kot 50 razstavljavcev. Želim si, da bo tudi v bodoče simpozij ob skupščini ostal največji in najpomembnejši dogodek društva, ki bo združeval vse člane in ostal zaščitni znak društva, po katerem nas pozna vsa strokovna in laična javnost.

Dragi člani SFD, svoj nagovor bi želel skleniti z nekaj ključnimi sporočili. Ustanovitelji društva si v svojem delovanju verjetno niso znali predstavljati, kako pomembno organizacijo so ustanovili in kako pomembno bo društvo vplivalo na razvoj farmacije v državi. V vseh 75 letih obstoja društva je bilo znanje oziroma napredek na področju farmacije rdeča nit aktivnosti, ki mu društvo sledi in velikokrat tudi soustvarja ter s tem pripomore k strokovni rasti slehernega člana. Društvo smo dejansko ljudje, člani društva, zato je pomembno, da ostanemo enotni in povezani, kar bo omogočilo napredek in rast tudi v prihodnje.

V imenu organizacijskega odbora simpozija ob skupščini SFD vam želim lepo nadaljevanje slavnostnega večera in praznika vseh članov društva.

21. SIMPOZIJ SEKCIJE FARMACEVTSKIH TEHNIKOV SFD

Silva Pust, Andrijana Tivadar, Monika Vesel



Predstavnici iz Črne gore, predsednica Svetlana Asanović in članica Ranka Kruščić, hrvaški članici Josipa Letinčić Malnar in Natalija Ptujec ter srbska člana Vladimir Purić in Perica Kostadinović, ki so se udeležili 21. simpozija Sekcije farmacevtskih tehnikov Slovenskega farmacevtskega društva.

V idiličnem okolju Rogle se je 23. in 24. maja 2025 odvijal 21. simpozij Sekcije farmacevtskih tehnikov Slovenskega farmacevtskega društva (SFD) z naslovom »Farmaceutski tehnik svetuje: po prehransko dopolnilo v lekarno«, ki je ponovno dokazal izjemno moč strokovnega povezovanja. Dogodek, organiziran v Hotelu Planja, je zbral številne udeležence z različnih področij dela. Posledica premišljenega strokovnega programa in trdega dela organizacijskega odbora pod vodstvom predsednice sekcije Monike Vesel je bila polna predavalnica farmacevtskih tehnikov in tehnic ter rekordna udeležba razstavljalcev. Organizacijo izobraževalnega dogodka za tehnike je podprlo kar 59 različnih podjetij s področja farmacije. Glavni sponzor je bilo podjetje Sanolabor z blagovno znamko SANOL LAB.

Predanost in vizija Monike Vesel sta se znova odrazili v uspešnem poteku simpozija, ob tem je na občnem zboru

sekcije v soboto, 24. maja 2025, prejela tudi podporo za vodenje sekcije v novem mandatnem obdobju (2025–27). Na dogodek so bili povabljeni gostje iz Črne gore, Hrvaške in Srbije, udeležila sta se ga tudi predsednik SFD in generalna sekretarka SFD.

Letošnji simpozij je bil osredotočen na vlogo farmacevtskih tehnikov pri svetovanju o prehranskih dopolnilih. Sodobne tehnologije so dostopne vsem, a verodostojne informacije na področju zdravil in prehranskih dopolnil so ključne za varnost uporabnika. Vloga svetovalca je za farmacevtskega tehnika dolžnost in izziv, verodostojna informacija, podprta s študijami, pa vodilo.

Na simpoziju so svoje znanje delili otorinolaringolog Peter Hudoklin, dr. med., Simona Vučko Mole, mag. farm., spec., ki je predstavila standarde kakovosti za lažjo odločitev glede izbire določenega prehranskega dopolnila, Marjeta Rak Na-



Moderatorji so skrbeli za odlično povezovanje programa.

mestnik, mag. farm., spec., ki je predavala o novih tehnologijah za boljšo dostavo vitamina C, Žan Trontelj, dr. med., ki je celostno predstavil okužbe sečil, doc. dr. Žane Temova Rakuša, mag. farm., ki raziskuje kakovost izdelkov z vitamini na slovenskem tržišču, mag. Miroslava Abazović, mag. farm., spec., ki je dodatno opozorila na pasti samozdravljenja ob uporabi prehranskih dopolnil, dr. Dejan Kernc, kineziolog, ter farmacevtska tehničarka Alenka Lipovnik, ki je predstavila pozitivne učinke omega-3 maščobnih kislin. Popestritev strokovnega dela je bila odlično vodena delavnica o eteričnih oljih, ki jo je vodila Andreja Kolarič, certificirana aromaterapevtka. Eterična olja so duša rastline in osnova za izdelavo botaničnih parfumov. Na delavnici, ki je požela izjemno zanimanje, so udeleženci izdelali izbrani parfumi. Simpozij ni bil le strokovno bogat, temveč tudi družabno živahen. Večerni del programa je tradicionalno znan po prijetnem druženju, dobri hrani in glasbeni sprem-

ljavi, ki udeležence zvabi na premajhno plesišče in še dodatno utrdi občutek skupnosti.

Pomemben mejnik za sekcijo predstavlja izid druge številke revije *Libra*, ki so jo prejeli vsi udeleženci simpozija. Verjamemo, da ta nova priložnostna publikacija krepi strokovno skupnost preko poučnih in zanimivih prispevkov, ki jih tehniki pripravljajo za tehnike. Za tiste člane sekcije, ki se dogodka niso mogli udeležiti, je bila revija poslana po pošti, na voljo pa je tudi v e-obliki na spletni strani društva.

Farmacevtski tehniki so ponovno dokazali svojo predanost poslanstvu, strokovnosti in nenehnemu učenju. Z novimi spoznanji, močno skupnostjo in svežimi idejami udeleženci že nestrpno pričakujejo prihodnji simpozij, kjer bodo ponovno združili znanje in izkušnje ter razvijali vizijo za še bolj kakovostno strokovno udejstvovanje.



*Na družabnem večeru je bilo še posebej veselo, ko je predsednico sekcije na plesišče povabil kolega Marko Šampert v preobleki Axl Rosa (*Guns N' Roses*).*

Gorenjska podružnica Slovenskega farmacevtskega društva
vas v sklopu projekta



v **nedeljo, 7. septembra 2025**, vabi, da se jim
pridružite na planinskem pohodu na relaciji

Novo izhodišče:

**Planina Zajavornik -
Blejska koč na Lipanci - Debela peč**

Prijave se odprejo **20. avgusta**. Prijavnica bo objavljena
na spletni strani Slovenskega farmacevtskega društva.







V PRIMERU SLABEGA VREMENA POHOD ODPADE.

sponzor dogodka:





NAPOVEDNIK DOGODKOV

STROKOVNI DOGODKI

-  **15. CENTRALNOEVROPSKI SIMPOZIJ FARMACEVTSKE TEHNOLOGIJE (CESPT)**
25. do 27. september 2025, Bled
-  **SIMPOZIJ SEKCIJE FARMACEVTOV JAVNIH LEKARN – IZZIVI ZDRAVLJENJA Z ZDRAVILI: PREPOZNAVANJE NEŽELENIH UČINKOV**
9. oktober 2025, Ljubljana
-  **11. ŠSSFD SIMPOZIJ – KRONIČNE NENALEZLJIVE BOLEZNI: IZZIVI DANAŠNJEGA ČASA**
11. oktober 2025, Ljubljana
-  **17. MEDNARODNI SIMPOZIJ SEKCIJE BOLNIŠNIČNIH FARMACEVTOV PRI SFD – ZDRAVILA V PEDIATRIJI**
21. oktober 2025, Ljubljana
-  **SIMPOZIJ HOMEOPATSKE SEKCIJE – INTEGRATIVNI IN HOLISTIČNI PRISTOPI PRI KREPITVI DUŠEVNEGA ZDRAVJA**
15. november 2025, Ljubljana

DRUŽABNI DOGODKI

-  **FARMAHRIBI**
7. september 2025, Debela peč
-  **FARMAJESEN**
Martinovanje 2025, 18. oktober 2025, Goriška Brda

Za več informacij in prijavo na dogodke spremljajte spletno stran www.sfd.si!



21.

dan slovenskih lekarn
26. september 2025

LEKARNA

EHRANSKA DOPOLNILA

SVETOVANJE

ZDRAVILA NA RECEPT



O PRAVILNI IN VARNI UPORABI ZDRAVIL
MISLI NA ZDRAVJE –
POMISLI NA LEKARNO!



SLOVENSKO FARMACEVTSKO DRUŠTVO
SEKCIJA FARMACEVTOV JAVNIH LEKARN



LEKARNIŠKA
ZBORNICA
SLOVENIJE



KEMOFARMACIJA
a PHOENIX company



SALUS



VITA
media

Z vami že več kot 20 let



Mislil na
Zdravje

Pomisli na
Lekarno

Strokovni
Dostopni
Vredni zaupanja



Borimo se proti najtežjim boleznim sveta

ČRPAMO NAJBOLJŠE S PODROČIJ BIOLOGIJE IN TEHNOLOGIJE

Družba Amgen uporablja le najboljše s področij biologije in tehnologije v želji ljudem omogočiti preprostejše, polnejše in daljše življenje. Izhajamo iz našega poglobljenega poznavanja znanosti, da bi premikali meje znanega. Smo eno vodilnih svetovnih neodvisnih biotehnoških podjetij, z začetki v biotehnoški revoluciji. Borimo se proti najtežjim boleznim in pomagamo milijonom ljudi po vsem svetu.



AMGEN





Prinašamo zdravje

Zdravje in dobro počutje ljudi sta za nas na prvem mestu. Kot vodilna slovenska veletrgovina z zdravili, ki zagotavlja široko ponudbo izdelkov, smo zavezani, da svoje delo opravljamo zanesljivo, varno in učinkovito.

V vse, kar počnemo, vlagamo srčnost in predanost. Z nenehnim razvojem naših storitev gradimo zaupanje ter trdne partnerske odnose za bolj zdravo prihodnost.

www.kemofarmacija.si

 **KEMOFARMACIJA**
a PHOENIX company

