

Dr hab. Przemysław Dorożyński
Katedra i Zakład Technologii Leków
i Biotechnologii Farmaceutycznej
Wydziału Farmaceutycznego
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

ul. Banacha 1
02-097 Warszawa

Recenzja pracy doktorskiej p. mgr Heleny Barańskiej pt. "Wpływ warunków sporządzania i składu mikrosfer lipidowych na ich penetrację do mieszków włosowych"

1. Formalna podstawa przygotowania recenzji

Recenzja została opracowana w odpowiedzi na prośbę Przewodniczącego Rady Nauk Farmaceutycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego Pana Profesora dr hab. Wiesława Sawickiego zawartą w piśmie nr DWF-481-D-374/2017 z dnia 17 lutego 2020 roku.

2. Ogólna charakterystyka pracy doktorskiej

Przedstawiona do recenzji praca autorstwa mgr Heleny Barańskiej została wykonana w Katedrze i Zakładzie Farmacji Stosowanej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego pod opieką promotora dr hab. n. farm. Krzysztofa Cala, prof. Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Praca doktorska mgr Heleny Barańskiej została przygotowana w formie monografii naukowej odpowiadającej wymaganiom przedstawionym w art. 187 pkt. 3 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce”.

Rozprawa doktorska liczy łącznie 97 stron i składa się z ośmiu rozdziałów głównych wraz z szeregiem podrozdziałów. Praca obejmuje łącznie 25 tabel oraz 41 rycin. Przegląd piśmiennictwa i dyskusja odnoszą się do 94 pozycji piśmiennictwa.

DWF
wpł. 23.04.2020


3. Struktura rozprawy doktorskiej, charakterystyka problematyki badawczej

Praca p. mgr Heleny Barańskiej dotyczy oceny właściwości mikrosfer lipidowych oraz ich penetracji do mieszków włosowych. Praca została poprzedzona wstępem, w którym Autorka wprowadza czytelnika w zagadnienia związane budową włosa i mieszka włosowego, aktywnością włosów oraz fazami cyklu życiowego włosa. W dalszej części przedstawione zostały informacje dotyczące nano- i mikrocząstek lipidowych oraz ich przenikania do mieszków włosowych. Autorka poruszyła także problem toksyczności nanomateriałów, który często jest pomijany przy omawianiu kwestii dotyczących nowych, często fascynujących możliwości ich zastosowań. Ostatnim elementem poruszonym w części wprowadzającej pracy doktorskiej jest omówienie zagadnień związanych z metodyką planowania doświadczeń. Część wstępna napisana jest zwięzłym, poprawnym językiem, który w sposób klarowny wprowadza czytelnika w zagadnienia niezbędne podczas dalszej lektury pracy.

Zastosowanie preparatów, które mogą stanowić potencjalne nośniki substancji leczniczej dla podania transdermalnego, od wielu lat budzi wielkie nadzieje w przemyśle farmaceutycznym. Opracowanie formułacji penetrujących i utrzymujących się przez dłuższy czas w tkance skórnej stanowi także przedmiot zainteresowania firm kosmetycznych. Funkcje ochronne tkanki skórnej sprawiają jednak, że opracowanie preparatów o odpowiednich właściwościach napotyka na liczne trudności. Osobny problem stanowi ograniczony i ciągle niedostatecznie rozwinięty zestaw technik badawczych, które umożliwiłyby śledzenie losów preparatu po aplikacji. Wyzwania te sprawiają, że tematyka dotycząca wytwarzania, optymalizacji i badań preparatów, które posiadają zdolność wnikania w głąb tkanki skórnej jest wciąż aktualna i stanowczo zbyt rzadko podejmowana.

Doktorantka podjęła wyzwanie opracowania i optymalizacji składu mikrosfer lipidowych pod kątem ich penetracji do mieszków włosowych. Założenia formułacyjne poczynione podczas opracowania mikrosfer pozwalają na postrzeganie ich jako elastycznej „platformy” nośnikowej, która z powodzeniem może zostać wykorzystana zarówno w farmacji jak i w kosmetyce. Odstąpienie od zastosowania nawet prostych modelowych substancji leczniczych odczytuję jako przemyślany zabieg umożliwiający określenie parametrów bezpieczeństwa stosowania tego typu układów nośnikowych – głównie pod kątem działania drażniącego mikrosfer lipidowych - bez konieczności podejmowania

kosztownych i nie zawsze miarodajnych badań klinicznych. Część doświadczalną pracy można podzielić kilka wątków tematycznych:

- 1.) Na pierwszy plan wysuwają się kwestie technologiczne – a więc dotyczące doboru składu formulacyjnego oraz parametrów procesowych stosowanych podczas wytwarzania mikrosfer lipidowych. Autorka wykorzystwała do sporządzania mikrosfer lipidowych komercyjnie dostępne emulgatory Tego Care 450, Axol C62, Tween 80 oraz monostearynian glicerolu, które różniły się między sobą m.in. wartością liczby HLB. Po wstępnej ocenie, podjęte zostały dalsze badania nad wpływem ilości Tego Care 450 na właściwości mikrosfer oraz podjęto próby wytworzenia mikrosfer zawierających mieszaniny Tego Care 450 z Tweenem 80 oraz ocenę właściwości mikrosfer zawierających Euxyl PE 9010 jako substancję konserwującą. Wytwarzanie mikrosfer prowadzono metodą sonikacji ultradźwiękowej wykorzystując trzy poziomy mocy aparatu (50, 150 i 300 W) oraz trzy czasy dyspergowania (5, 10, 15 min). Badania obejmowały 51 formułacji i dzięki pełnej analizie czynnikowej pozwoliły na identyfikację optymalnych parametrów procesowych – czas dyspergowania ok. 12 min. moc aparatu 300 W, zawartość emulgatora (Tego Care 450) 3,8%. Należy podkreślić, że ten żmudny proces badawczy został przeprowadzony ze szczególną starannością.
- 2.) Kolejny wątek pracy to badania analityczne. Autorka ocenia właściwości wytworzonych mikrosfer w oparciu o zestaw dobrze ugruntowanych parametrów m.in. rozkład wielkości cząstek, potencjał zeta, współczynnik polidispersji. Dobór metod analitycznych jest właściwy i nie budzi zastrzeżeń.
- 3.) Wybrane formułacje zostały wykorzystane w badaniach na modelu *EpiDerm*[®], które stanowiły fazę przygotowawczą do badań tolerancji skórnej przeprowadzonych na zdrowych ochotnikach. Badania wykazały dobrą tolerancję skórną mikrosfer lipidowych i potwierdziły brak potencjału drażniącego.
- 4.) Ostatni element pracy stanowiły badania przenikania cząstek lipidowych do mieszków włosowych. W tym celu przeprowadzono inkorporację w mikrocząstkach estru heksylowego Rodaminy B jako barwnika fluorescencyjnego, które następnie stosowano do aplikacji na owłosioną skórę ludzką. Skuteczność penetracji mikrocząstek do mieszków włosowych oceniano za pomocą mikroskopii fluorescencyjnej.

4. Podsumowanie i wnioski

Pracę oceniam wysoko zarówno pod względem poznawczym jak i aplikacyjnym. Przedstawione zagadnienia dotyczące kwestii formulacyjnych oraz analitycznych mikrosfer lipidowych ukazują umiejętności Doktorantki w zakresie planowania eksperymentu, organizacji prac zespołu oraz realizacji przyjętych założeń badawczych. Mgr Helena Barańska świadomie prowadzi prace eksperymentalne, które w perspektywie mają umożliwić wytworzenie preparatu o konkretnym przeznaczeniu. Z tego zadania Doktorantka wywiązuje się w sposób bardzo dobry.

Lektura pracy doktorskiej pozostawia jednak pewien niedosyt oraz nasuwa pytania i uwagi które mogą zostać wykorzystane w dalszych pracach badawczych.

1. Badania trwałości mikrosfer przeprowadzono w temperaturze pokojowej oraz w temperaturze 8°C. Jakimi przesłankami się kierowano wybierając takie warunki przechowywania?
2. Czy podczas opracowywania harmonogramu prac badawczych wykorzystywano jakiś rodzaj planów czynnikowych?
3. Na stronie 38 w pierwszym akapicie Autorka stwierdza: „Na podstawie przeglądu piśmiennictwa podczas analizy przyjęto następujące zakresy kryteriów doświadczalnych dla parametrów wyjściowych”. Nie wskazano jednak publikacji na których oparto wybór wspomnianych kryteriów.
4. Autorka przedstawiła bardzo interesujący zestaw danych obrazowych dotyczących penetracji i dystrybucji mikrosfer w mieszkach włosowych. Jednak obszerny materiał eksperymentalny został dosyć lakonicznie opisany w aspekcie przede wszystkim jakościowym bez szerszej analizy ilościowej, która dałaby możliwość oceny obserwowanych różnic w ujęciu statystycznym. Z tego względu analiza obrazów z mikroskopu fluorescencyjnego rodzi szereg dodatkowych pytań. Pierwsza kwestia to wybór przekrojów wzdłuż których prowadzono analizę intensywności obrazu. Należy postawić pytanie o reprezentatywność przedstawionych profili intensywności fluorescencji. W tabeli 22 przedstawiono średnie wartości intensywności fluorescencji. Jakie były odchylenia od średniej? Jak wyglądały histogramy sygnału?

Pragnę podkreślić, że przedstawione powyżej uwagi nie umniejszają w żaden sposób wartości pracy. W świetle wszystkich argumentów uważam, że przedstawiona do recenzji praca doktorska mgr Heleny Barańskiej spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim i wnioskuję o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Kraków 14 kwietnia 2020


Dr hab. Przemysław Dorożyński Prof. IF