



Prof. dr hab. Janusz Szemraj
Zakład Biochemii Medycznej
Uniwersytet Medyczny w Łodzi
92-215 Łódź Mazowiecka 6/8
tel/fax: 042678-24-65
e mail: Janusz.szemraj@umed.lodz.pl

Łódź, 15.04.2024 r.

Recenzja pracy doktorskiej

„Terapeutyczne tekstylia wykorzystujące transdermalne systemy dostarczania substancji aktywnych” wykonana przez mgr Monikę Owczarek na Wydziale Technologii Materiałowych i Wzornictwa Tekstyliów Instytutu Materiałoznawstwa Tekstyliów i Kompozytów Polimerowych pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Dawida Stawskiego.

Zastosowanie nanotechnologii do różnych celów terapeutycznych, takich jak diagnostyka i leczenie, jest możliwe dzięki zaprojektowaniu odpowiednich nanocząstek będących molekułami, których rozmiar nie przekracza 100 nm. Niewątpliwie należy ona do najbardziej dynamicznie rozwijających się dziedzin nauki i techniki. Nanotechnologia znalazła zastosowanie w naukach medycznych. Zmniejszenie rozmiaru wybranego materiału do skali nanometrycznej stwarza możliwość licznych, potencjalnych zastosowań. W profilaktyce oraz terapii alternatywnych różnych schorzeń próbuje się wykorzystać tekstylne wyroby medyczne jako nośniki różnych substancji aktywnych.

mgr Monika Owczarek w swojej pracy doktorskiej przyjęła za cel opracowanie i scharakteryzowanie komponentów oraz produktu końcowego – funkcjonalnych tekstyliów wykorzystujących transdermalne systemy dostarczania substancji aktywnych, Praca doktorska oparta została na hipotezie zakładającej możliwość wytworzenia materiałów włókienniczych z unieruchomionymi mikrokapsułami zawierającymi nanocząsteczki z substancją aktywną jako terapeutyczne tekstylia pozwalające na dostarczenie substancji leczniczej drogą transdermalną. Tego rodzaju badania mają olbrzymie znaczenie kliniczne, stąd też coraz więcej badań doświadczalnych i klinicznych jest poświęconych tym zagadnieniom. W związku z tym, wybór przez Pana Promotora i Doktorantkę tej tematyki badań uważam za bardzo aktualny, interesujący i w pełni uzasadniony.

Recenzowana praca doktorska jest dysertacją liczącą 159 stron zawierającą 6 tabel, 47 rycin i 427 pozycji literaturowych w większości pochodzących z ostatniego okresu czasu, które



posłużyły do przygotowania monograficznej części poglądowej, doświadczalnej oraz dyskusji nad wynikami badań własnych. Dobór pozycji literaturowych nie budzi zastrzeżeń i wskazuje na to, że tematyka badań jest bardzo aktualna. Przedstawiona do recenzji Praca doktorska ma typowy układ. Rozpoczyna się dobrze przygotowanym wykazem skrótów, następnie częścią teoretyczną składającą się z 65 stron, dobrze dobranych 4 tabel i 21 rycin. Po krótkim wprowadzeniu, Pani mgr Monika Owczarek w czytelny sposób przeszła do części teoretycznej podzielonej na kilka podrozdziałów: biotekstylii i tekstylii medyczne, budowa i funkcja skór, polimery naturalne i syntetyczne jako nośniki substancji aktywnej, ekstrakt z *Ginco biloba*, nanocząsteczki, metody otrzymywania nanocząsteczek chitozanowych, charakterystyka fizykochemiczna nanocząsteczek NPs. Część teoretyczną pracy doktorskiej zamykają 3 podrozdziały dotyczące metod mikrokapsułkowania, modelowania dotyczącego badania przenikania przez materiał imitujące skórę, oceny cytotoksyczności wobec linii komórkowych, stanowiąc zamierzone przejście do omówienia zaplanowanych i przeprowadzonych badań

Przygotowany przez Panią mgr przegląd piśmiennictwa stanowi oryginalnie przemyślany, interesujący i dobrze zilustrowany wykład na temat aktualnej wiedzy o omawianych zagadnieniach. Autorka dowiodła, że potrafi wykorzystywać dostępne dane literaturowe, twórczo je opracowywać, systematyzować i komentować. Osobiście namawiam Panią magister do napisania z tej części dysertacji artykułu przeglądowego.

Część doświadczalna pracy obejmuje 29 stron, 1 tabelę, 26 rycin. Pani Magister razem z Panem Promotorem postawili za cel doktoratu opracowanie i scharakteryzowanie komponentów oraz produktu końcowego – funkcjonalnych tekstyliów, wykorzystujących transdermalne systemy dostarczania substancji aktywnych. Rozdział „Założenia i cele pracy” wskazuje, iż Autorka postanowiła, w ramach założonego nurtu badań i w oparciu o zreferowane wcześniej przesłanki teoretyczne, w praktyce wypełnić dziewięć zadań badawczych w ten sposób weryfikując hipotezę, że „możliwe jest wytworzenie materiałów włókienniczych zawierających mikrokapsuły z nanocząstkami z substancją aktywną jako terapeutyczne tekstyilia do dostarczania substancji leczniczej drogą transdermalną”. Do przedstawionych 9 zadań badawczych należały : wybór substancji aktywnych (rola w dolegliwościach (np. stopa cukrzycowa lub nowotwór), selekcja polimerów będących matrycą osadzania substancji bioaktywnych w nanocząstkach (sól chitozanu) oraz w mikrokapsułkach, W dalszej kolejności opracowanie metody otrzymywania i charakterystyka fizykochemiczna nanocząstek z zamkniętym GBE – Ch(GB)NP, określenie uwalniania ekstraktu z nanocząstek w różnych



mediach badawczych, wytworzenie i charakterystyka mikrokapsuł zawierających GBE lub nanocząstki, określenie uwalniania ekstraktu z mikrokapsuł z GBE lub nanocząstkami w różnych mediach badawczych, opracowanie sposobów nanoszenia mikrokapsuł z substancją aktywną na nośnik włókienniczy, określenie przenikania nanocząstek z ekstraktem zawartych w mikrokapsułach w skórze w mikrokapsułach przymocowanych do nośnika włókienniczego przez membranę o wielkości porów zbliżonej do porów w skórze

Kolejne rozdziały pokazują, jak te zamierzenia zostały zrealizowane.

Przystępując do oceny merytorycznej tej części recenzowanej rozprawy, muszę podkreślić, że prezentowane w niej badania zostały zaplanowane wszechstronnie, z uwzględnieniem doświadczeń analizujących różne uwarunkowania poszczególnych zagadnień. Oparto je o nowoczesne dobrze dobrane techniki eksperymentalne. Ich opis stanowi rodzaj swoistego laboratoryjnego „manualu”. Wszystkie użyte metody charakteryzuje wysoki stopień obiektywizacji danych. Dokumentacja wyników uzyskanych w recenzowanej pracy przekonuje, że wszystkie doświadczenia przeprowadzone zostały ze skrupulatnością i obejmują założone aspekty prowadzonych badań. Sposób ich prezentacji jest przemyślany, co pozwala śledzić postępy pracy i rejestrować realizację jej kolejnych celów i zadań.

W części Dyskusja Doktorantka przedstawiła, omówiła i przedyskutowała otrzymane wyniki. W pierwszej kolejności zanalizowała sposób otrzymywania nanocząsteczek chitozanowych zawierających GBE o średnicy średnio 454,2 nm pozwalających na podawanie przez skórę i głęboką jej penetrację. Enkapsulacja ekstraktu GBE skutecznie zamkniętych w nanocząsteczkach chitozanowych, które nie zostały poddane sonifikacji pozwoliła na zwiększoną stabilność zamkniętej substancji czynnej, zrównoważone uwalnianie, stabilność substancji co przekłada się na większą bioaktywność nanocząsteczek, miejscową terapię z ograniczonymi skutkami ubocznymi. Kinetyka uwalniania czynnej substancji przeprowadzona na w dwóch mediach testowych wykazała, że są wydzielane na drodze dyfuzji biernej w dwu fazowym procesie wpływając na długotrwałe uwalnianie leku. Analiza kinetyczną uwalniania związków aktywnych przeprowadzono wykorzystując modele matematyczne. Doktorantka wykazała wpływ pH środowiska, obecności soli (sól fizjologiczna w porównaniu ze środowiskiem wodnym) na zwiększone uwalnianie substancji aktywnej z nanocząsteczek. Badania cytotoxyczości wykazały najmniejsze działanie nanocząsteczek chitozanu bez ekstraktu. Wszystkie badane komponenty nie wykazywały działania cytotoxycznego w stosunku na komórek prawidłowych

(ludzkich fibroblastów HGF-1. Cytotoksyczne działanie może być związane z martwicą/apoptozą, co potwierdziło zwiększone wydzielanie wskaźnika martwicy (LDH) przez komórki traktowane GBE, z drugiej strony zwiększona ekspresja białka p53. Nanocząsteczki chitozanu wykazywały dodatkowo aktywność przeciwbakteryjną jak i przeciwgrzybiczną.

Podsumowując mgr Monika Owczarek w ramach wykonanej pracy doktorskiej otrzymała, następnie bardzo dobrze scharakteryzowała nanocząstki chitozanowe zawierające GBE, pod kątem morfologii, właściwości fizykochemicznych wykorzystując skaningową mikroskopię elektronową. Nanocząsteczki Ch(GB)NP wykazywały aktywność cytotoksyczną w stosunku do komórek linii komórek nowotworowych (PEA1 i HeLa) nie wykazując aktywności w stosunku do komórek prawidłowych (HGF-1). Otrzymane nanocząsteczki wykazywały dodatkowo aktywność przeciwbakteryjną i przeciwgrzybiczną. W ramach doktoratu Pani Magister otrzymała mikrokapsułki wielordzeniowe z otoczką alginianową lub etylocelulozową z zamkniętym GBE lub Ch(GB)NP. Badania uwalniania ekstraktu *Ginkgo biloba* z nanocząstek i różnych typów mikrokapsulek do dwóch różnych mediów badawczych i wykazały że więcej ekstraktu uwalnia się do soli fizjologicznej niż do wody w pierwszych 24h prowadzonego badania. Badania nanocząsteczek doprowadziły do otrzymania dwóch dzianin bawełnianych z immobilizowanymi nanocząsteczkami: mikrokapsuły etylocelulozowe z zamkniętym ekstraktem z *Ginkgo biloba* oraz otrzymane po raz pierwszy mikrokapsuły etylocelulozowe z nanocząsteczkami chitozowanymi z ekstraktem z tej samej rośliny.

Przeprowadzone badania przenikania nanocząstek z ekstraktem GBE oraz samego ekstraktu *Ginkgo biloba* z mikrokapsuł immobilizowanych do dzianin bawełnianych potwierdziły penetrację nanocząstek przez błonę dializacyjną o wielkości porów zbliżonej do wielkości porów w skórze w środowisku soli fizjologicznej. Finalnym efektem pracy doktorskiej jest dzianina zawierająca unieruchomione mikrokapsuły z nanocząsteczkami z ekstraktem z *Ginkgo biloba* która może być wykorzystana w medycynie, kosmetologii do dostarczania leczniczych substancji drogą transdermalną.

Na podstawie uzyskanych wyników Pani mgr Monika Owczarek sformułowała 7 końcowych wniosków, uogólniających zreferowane i przedyskutowane dane.

Wnioski te są jednocześnie dowodem na zrealizowanie w pełni przez Doktorantkę celów jej dysertacji. Wyniki badań przedstawionych w pracy doktorskiej zostały zaprezentowane częściowo w postaci dwóch opublikowanych artykułów w prestiżowych czasopismach



(wysokiej punktacji MNiSW) w których Pani Magister jest 1, w drugiej 2 autorem: Owczarek M., Herezyńska L., Sitarek P., Kowalczyk T., Synowiec E., Śliwiński T., Krucińska I., *Chitosan Nanoparticles-Preparation, Characterization and Their Combination with Ginkgo biloba Extract in Preliminary In Vitro Studies*, *Molecules*, 2023, 28, 4950.

Kowalczyk T., Owczarek M., Synowiec E., Śliwiński T., Merecz-Sadowska A., Picot L., Sitarek P. *Biological effect of natural chitosan nanoparticles with transformed roots extract of Leonotis nepetifolia (L.) R.Br. in an in vitro model*. *Ind. Crops Prod.* 2023, 203, 117135.

Pani Magister może poszczycić się dorobkiem naukowym. Jest autorem i współautorem w 8 wysoko punktowanych czasopismach, dwóch rozdziałów w monografiach i 28 doniesień zjazdowych

Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że Pani mgr Monika Owczarek uczestniczyła jako kierownik, wykonawca w 14 różnych projektach naukowych co wskazuje na bardzo duże doświadczenie badawcze w tej dziedzinie.

Podsumowując, z pełnym przekonaniem uważam, że recenzowana rozprawa doktorska mgr Moniki Owczarek pod każdym względem spełnia wymogi stawiane takim dysertacjom. Stanowi samodzielne i oryginalne rozwiązanie problemu naukowego oraz wnosi nowe, ważne poznawczo informacje min. na temat możliwości wytwarzania materiałów włókienniczych zawierających mikrokapsuły z nanocząsteczkami zawierających substancję aktywną do dostarczania substancji leczniczej drogą transdermalną.

Tym samym praca ta otwiera nowe możliwości badawcze w tym kierunku i zapowiada potencjalne możliwości wykorzystania tych badań w działaniach klinicznych. Przygotowana została w sposób właściwy, zarówno pod względem merytorycznym, jak i edycyjnym. Kilka drobnych uchybień stylistycznych i tzw. literówek, które udało mi się zauważyć nie ma istotnego znaczenia.

Jako Recenzent mam trzy pytania do Pani mgr Moniki Owczarek:

Dlaczego w pracy doktorantka użyła naturalnych nanocząsteczek chitozanowych, a nie nanocząsteczek syntetycznych które również mają szerokie zastosowanie w medycynie.

Jak można wytłumaczyć działanie nanocząsteczek na komórki nowotworowe w porównaniu z komórkami prawidłowymi

Jaki jest plan przyszłościowy badań nad nanocząsteczkami chitozanowymi w kontekście wykorzystania w inżynierii materiałowej w sektorze medycznym.



UNIWERSYTET
MEDYCZNY
W ŁODZI

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Moniki Owczarek zawiera uzasadnioną i jednoznaczną ocenę spełnienia przez rozprawę warunków określonych w art.13 ust.1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (t.j. Dz.U. z2017r poz, 1789 z późn.ZM)

Ze względu na bardzo duży walor aplikacyjny, możliwość wykorzystania otrzymanej tkaniny pozwalającej na dostarczenie substancji leczniczych za pośrednictwem skóry w formie terapii alternatywnej lub uzupełniającej zwracam się z wnioskiem do Rady ds. Stopni Naukowych Politechniki Łódzkiej w dyscyplinach inżynieria mechaniczna, inżynieria materiałowa o dopuszczenie mgr Monikę Owczarek do dalszych etapów przewodu doktorskiego, wnioskując o nadanie przez Radę stopnia doktora w dyscyplinie inżynieria materiałowa, jednocześnie wnioskując o wyróżnienie pracy stosowną nagrodą Rektorską.

Janusz Szemraj

Uniwersytet Medyczny w Łodzi

KIEROWNIK
Katedry i Zakładu Biochemii Medycznej
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi


Prof. dr hab. n. med. Janusz Szemraj