



UNIWERSYTET  
MIKOŁAJA KOPERNIKA  
W TORUNIU  
Wydział Farmaceutyczny  
Collegium Medicum w Bydgoszczy

prof. dr hab. n. med. Barbara Zegarska  
Katedra Kosmetologii i Dermatologii Estetycznej  
C M w Bydgoszczy, UMK w Toruniu  
85-067 Bydgoszcz, ul. Jagiellońska 13-15  
e-mail: kkosmet@cm.umk.pl  
tel. (52) 585 34 24

Bydgoszcz 31.08.2020 r.

### **Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Malwiny Zasady pt „Aktywność retinolu w terapii anti-aging przy zastosowaniu promotorów transepidermalnego przenikania”**

Stosowanie terapii różnych chorób skóry łączone jest z zastosowaniem kosmoceutyków, które z jednej strony wspomagają efekty terapeutyczne, skracają okres stosowania terapii jak również często przedłużają okresy remisji. Takie stosowanie interaktywnych terapii wskazuje na dokonujący się postęp w dziedzinie dermatologii, kosmetologii i farmakologii. Kosmeceutyki wpływają na określone procesy fizjologiczne i biochemiczne zachodzące w skórze. Zostały stworzone, aby poprawić wygląd skóry, jej jakość oraz funkcje, które spełnia poprzez wzmocnienie elastyczności, nawilżenia, natłuszczenia jak również przeciwdziałają przyspieszonemu starzeniu się skóry oraz występowaniu i niwelowaniu zmian w przebiegu np. trądziku pospolitemu. Bardzo cennymi kosmoceutykami są preparaty , które zawierają retinol. W skórze retinol może być metabolizowany w keratynocytach, w górnych warstwach żywego naskórka. Efekt fizjologiczny jaki retinol wywiera na skórę nie został do końca zbadany, gdyż zwraca się uwagę na jego nieefektywne przenikanie przez naturalną barierę skórną. Dynamicznie rozwijający się przemysł kosmetyczny stawia coraz więcej wyzwań w celu zapewnienia wielowymiarowych danych dotyczących jakości gotowego preparatu kosmetycznego. Opracowywanie receptury, kolejno badanie wpływu zastosowanej bazy, jak i stężenia składnika aktywnego, pozwala na ocenę jakościową gotowego preparatu. Niemniej, pojawia się pytanie, dotyczące stabilności zastosowanego składnika aktywnego w gotowym

produkcje, w tym retinolu, którego użycie rośnie na przestrzeni ostatnich kilkunastu lat. Jako składnik aktywny charakteryzuje się słabą rozpuszczalnością w wodzie oraz niestabilnością w obecności światła. Pojawianie się rumienia, suchości, swędzenia, podrażnienia i pieczenia po zastosowaniu miejscowym retinolu, często doprowadza do przerwania kuracji czy też nie jest rekomendowane dla skóry wrażliwej. Pomimo uzasadnionej skuteczności zastosowania w zabiegach dermatologicznych, brak jest doniesień o efektach kuracji kosmetycznej, przy zastosowaniu różnych stężeń retinolu.

Problem badawczy podjęty od pewnego czasu przez Doktorantkę jest zatem bardzo istotny. Jego zwieńczeniem jest praca doktorska pt. „Aktywność retinolu w terapii anti-aging przy zastosowaniu promotorów transepidermalnego przenikania” pod kierunkiem promotora prof. dr hab. n. farm. Elżbiety Budzisz, która ma znaczące osiągnięcia naukowe w tym temacie oraz promotora pomocniczego dr n. med. Anny Erkiert-Polguj.

Rozprawa doktorska mgr Malwiny Zasady ma charakter cyklu sześciu publikacji o łącznym IF 10.555. W każdej z nich Doktorantka jest pierwszym autorem, a także autorem korespondencyjnym, co świadczy o wiodącym wkładzie doktorantki w powstanie prac i dodatkowo podnosi wartość jej rozprawy. Prace te opisują oryginalne wyniki badań i ukazały się w renomowanych polskich i europejskich czasopismach takich jak: *Advances in Dermatology and Allergology*, *Journal of Cosmetic Dermatology*, *Journal of Physiology and Pharmacology*, *Skin Pharmacology* i *Dermatologic Therapy*.

1. „Retinoids: active molecules influencing skin structure formation in cosmetic and dermatological treatments”. *Advances in Dermatology and Allergology*, 2019; XXXVI (4): 392–397. **Punktacja IF 1.757; MNiSW 70 pkt.**
2. „An evaluation of the physicochemical parameters and the content of the active ingredients in original cosmetic formulas containing retinol”. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 2019; DOI: 10.1111/jocd.13286. **Punktacja IF 1.311; MNiSW 70 pkt.**
3. „The influence of retinol concentration in liquid crystal formula (0.15%, 0.3% and 0.5%) on Epidermal Growth Factor, Interleukin-6 and Transglutaminase-1 mRNA expression in the epidermis”. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 2020;71(1); DOI: 10.26402/jpp.2020.1.06. **Punktacja IF 2.544; MNiSW 70 pkt.**
4. „ Randomized parallel control trial checking the efficacy and impact of two concentrations of retinol in the original formula on the aging skin condition: Pilot

- study". Journal of Cosmetic Dermatology, 2020;19(2):437- 443. **Punktacja IF 1.311; MNiSW 70 pkt.**
5. „A clinical anti-aging comparative study of 0.3 and 0.5% retinol serums: a clinically controlled trial”. Skin Pharmacology and Physiology, 2020; DOI: 10.1159/000508168. **Punktacja IF 1.892; MNiSW 100 pkt.**
  6. „A blinded study assessment of the efficacy of an original formula with retinol in combination with sonophoresis”. Dermatologic Therapy, 2020;33(1):e13163; DOI: 10.1111/dth.13163. **Punktacja IF 1.74; MNiSW 70 pkt.**

We wstępie oraz w II rozdziale zatytułowanym „Przegląd piśmiennictwa” Doktorantka wprowadza w temat pracy. Szczegółowo opisuje zmiany zachodzące w skórze starzejącej się oraz wynikające zmiany w przenikaniu substancji przez warstwę rogową naskórka. W drugiej części tego rozdziału omawia grupę związków biologicznie czynnych jakimi są retinoidy oraz mechanizm komórkowy retinolu w skórze. Dostarczanie składników aktywnych rozpuszczalnych w formułach kosmetycznych i kontrolowane aktywne wchłanianie przez warstwy naskórka to bardzo ważny czynnik, który warunkuje efektywność preparatów do stosowania miejscowego. Na skuteczność kliniczną danej substancji znacząco wpływa fizykochemiczny charakter składnika aktywnego, rodzaj podłoża oraz forma fizykochemiczna, w którym został zastosowany.

### **Cel pracy**

Celem rozprawy doktorskiej było opracowanie i przetestowanie nowej, autorskiej formułacji ciekłokrystalicznej preparatu kosmetycznego, jako promotora przenikania oraz określenie jego aktywności biologicznej. Założeniem pracy było zastosowanie metod analitycznych, badań *in vitro* oraz *in vivo*, jako narzędzi służących do oceny jakościowej i ilościowej produktów z retinolem.

### **Rozprawę doktorską Autorka zrealizowała w trzech etapach:**

**I etap badań obejmował opracowanie nowej formułacji preparatów kosmetycznych oraz zastosowanie metody spektrofotometrycznej do oznaczania zawartości retinolu.**

W etapie tym badania polegały na opracowaniu i wykonaniu autorskich receptur jako baz będących promotorami przenikania: ciekłokrystalicznej, lamelarnej i lipidowej. Założeniem tej części badań było przebadanie gotowych preparatów pod kątem czystości

mikrobiologicznej (według PN-EN ISO 17516:2014), stabilności masy produktu kosmetycznego, a także ocena skuteczności zakonserwowania opracowanych preparatów kosmetycznych (PN-EN ISO 11930:2012). Kolejną, integralną częścią pracy było zaproponowanie metody spektrofotometrycznej i zbadanie efektywności jej wykorzystania do oceny ilościowej zawartości retinolu w produktach kosmetycznych. Ponadto określenie różnic w lepkości przygotowanych preparatów, przy różnych stężeniach retinolu, tj. 0.15%, 0.3%, 0.5%.

## **II etap obejmował badania *in vitro*.**

Celem tej części badań było wykazanie wpływu formuły ciekłokrystalicznej, przy różnych stężeniach retinolu: 0.15%, 0.3% i 0.5%, na proliferację i ekspresję mRNA EGF, TGM1 i IL-6, w zrekonstruowanych komórkach ludzkiego naskórka (NHEK) *in vitro*. Dodatkowo założono porównanie 0.3% retinolu w formule ciekłokrystalicznej z 0.3% stężeniem retinolu w konwencjonalnej formule lipidowej.

## **III etap obejmował badania *in vivo* na grupie ochotników.**

Wiodącym celem badań była ocena wpływu opracowanych preparatów kosmetycznych, o różnych stężeniach retinolu na poprawę parametrów skóry dojrzałej (m.in. elastyczności, pigmentacji, nawilżenia), w toku przeprowadzonych badań *in vivo* na ludziach. Ocena parametrów klinicznych skóry przeprowadzona została z wykorzystaniem sond Cutometer®, Corneometer®, Sebumeter®, Mexameter®, oceny fotograficznej oraz skali VAS (ang. *Visual Analogue Scale*), jak i ankiet autorstwa własnego przeprowadzonych wśród grupy badanej. Ponadto, sprawdzenie czy istnieje zależność pomiędzy zastosowanym stężeniem retinolu w serum ciekłokrystalicznym, a efektami kuracji oraz wystąpieniem reakcji ubocznych.

### **Szczegółowe cele badań *in vivo* obejmowały:**

1. Ocena skuteczności i tolerancji kuracji 0.15% i 0.3% retinolem w formule ciekłokrystalicznej, u osób z oznakami fotostarzenia. Zbadanie istotności różnic zmian w czasie pomiędzy lewą, a prawą stroną twarzy.
2. Porównanie skuteczności i tolerancji preparatu z 0.3% i 0.5% retinolem w formule ciekłokrystalicznej oraz ocena wpływu na parametry skóry dojrzałej. Zbadanie

istotności różnić zmian w czasie pomiędzy lewą, a prawą stroną twarzy oraz pomiędzy 8- i 12-tygodniami pielęgnacji.

3. Porównanie skuteczności serum z 0.3% i 0.5% retinolu stosowanego przy pomocy sonoforezy, jako dodatkowego promotora przenikania. Zbadanie istotności różnic zmian w czasie pomiędzy lewą, a prawą stroną twarzy.

Badania przeprowadzono po uzyskaniu zgody Komisji Bioetyki Uniwersytetu Medycznego w Łodzi Nr RNN/210/17/KE z 13.06.2017 oraz nr KE/229/19 z 12.02. 2019.

Doktorantka przeprowadziła bardzo dojrzałą naukowo dyskusję a wyciągnięte wnioski są pełną odpowiedzią na stawiane cele pracy.

Badania opisane w cyklu prac, z wykorzystaniem retinolu w formule ciekłokrystalicznej, w różnych stężeniach potwierdzają, że zastosowane preparaty mają znaczący wpływ na poprawę parametrów skóry twarzy. Serum ciekłokrystaliczne charakteryzowała najwyższa lepkość spośród badanych preparatów, co przyczynia się do przedłużonego kontaktu postaci kosmetyku ze skórą i może świadczyć o zwiększonej przepuszczalności przez warstwę rogową. Zastosowanie podłoża ciekłokrystalicznego w porównaniu z konwencjonalnym podłożem lipidowym charakteryzuje się wyższą aktywnością w pobudzaniu ekspresji mRNA EGF, TGM1 w zrekonstruowanych komórkach naskórka (NHEK). Regulacja stężenia stosowanego retinolu, jak i dobór odpowiedniego podłoża wydają się być bardzo istotnym kryterium w sporządzaniu aktywnych formuł kosmetycznych. Działanie retinolu w komórkach naskórka może być wysoce skuteczną alternatywą w pielęgnacji skóry starzejącej się przy czym może wywoływać znacznie mniejsze reakcje uboczne lub w ogóle ich nie powodować, w porównaniu z kwasem retinowym. Ponadto, argumentem jest możliwość przeprowadzenia długofalowej kuracji, której efekty biologiczne mogą być lepsze, przy zastosowaniu transepidermalnych promotorów przenikania, zapewniając stabilność emulsji ciekłokrystalicznej. Wyniki przeprowadzonych badań mogą wskazywać na zasadne stosowanie procedury z zastosowaniem retinolu w stężeniu 0.3% jako promującego najskuteczniejsze i bezpieczne działanie, co dowiedziono zarówno w wynikach badań *in vitro* oraz *in vivo*. Interesującym jest, że przy zastosowaniu wyższych stężeń, tj. 0.5% retinolu warto rekomendować mniejszą częstotliwość stosowania, sugerując jednocześnie połączenie z zabiegami, jako skuteczną i dobrze tolerowaną.

Uzyskane wyniki wskazują na istotę rzetelnego i interdyscyplinarnego podejścia do oceny aktywności formuł kosmetycznych. Zastosowana metodyka badań wskazuje na dokładną analizę produktów kosmetycznych zawierających w składzie retinol, w nowo opracowanej formule ciekłokrystalicznej. W części doświadczalnej potwierdzono, że zaprojektowano formułacje kosmetyczne wykazujące pożądane spektrum działania. Wyniki badań dostarczają informacji niezbędnych w projektowaniu produktów kosmetycznych zawierających w swoim składzie retinol, czy też inne rozpuszczalne w tłuszczach związki. Ponadto, mogą pomóc w lepszym poznaniu wymagań stawianym nowo opracowywanym preparatom kosmetycznym z wykorzystaniem, m.in. promotorów przeznaskórkowego przenikania.

W mojej opinii wyniki badań Doktorantki są istotnym osiągnięciem naukowym. Mgr Malwina Zasada dobrze zaplanowała badania naukowe, właściwie je przeprowadziła i poprawnie zinterpretowała wyniki. Nie mam żadnych merytorycznych uwag co do przeprowadzonej rozprawy doktorskiej. Doktorantka dołączyła do pracy wykaz rycin, tabel i schematów oraz załączniki takie jak: Formularz świadomej zgody na badania, Formularz informacji o badaniu, VAS (Visual Analogue Scale), Ankietę na potrzeby badania celem oceny efektów kuracji, Zgody Komisji Bioetyki Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Dodatkowo w suplemencie mgr Malwina Zasada zawarła CV, spis publikacji naukowych będących przedmiotem zarówno rozprawy doktorskiej jak i niebędące, oświadczenia współautorów oraz zasady finansowania cyklu prac. Podsumowując, rozprawa doktorska mgr Malwiny Zasady stanowi oryginalne rozwiązanie problemu badawczego, świadczy o dużej dojrzałości naukowej oraz umiejętności Doktorantki do prowadzenia badań naukowych.

W związku z powyższym mam zaszczyt przedłożyć Wysokiej Radzie Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi wniosek o przyjęcie ocenionej pracy jako rozprawy na stopień doktora nauk medycznych i dopuszczenie mgr Malwiny Zasady do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

**Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art.13 Ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz.595 z późn.zm) i § 6.3 Rozporządzenia Ministra Nauki i szkolnictwa Wyższego z dnia 30 października 2015r.**

Ze względu na szczególną wartość merytoryczną pod względem naukowo-poznawczym, zwracam się do Dziekana Wydziału Lekarskiego oraz Wysokiej Rady Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi z wnioskiem o jej wyróżnienie.

**Za szczególne zalety ocenianej pracy doktorskiej uznaje :**

1. Wybranie ciekawego i niezwykle istotnego tematu pracy doktorskiej mającego duże znaczenie zarówno naukowo-badawcze, praktyczne jak i przydatne klinicznie.
2. Autorka wykazała się bardzo dużą rzetelnością i pracowitością.
3. Uzyskanie ciekawych i bardzo wartościowych wyników stanowiących uzupełnienie problematyki zastosowania retinolu w kosmetologii i dermatologii.
4. Mam nadzieję, że cykl tych prac stanowi początek dalszych badań w tym niezwykle ciekawym temacie jak również przyczyni się do skutecznego i dobrze tolerowanego preparatu z retinolem

31.08.2020

data sporządzenia recenzji

Kierownik  
Katedry Kosmetologii  
i Dermatologii Estetycznej  
i Zakładu Kosmetologii

dr hab. Barbara Zawadzka prof. UMK

podpis recenzenta