



**Prof. dr hab.med. Romuald Olszański**  
**Kierownik**  
**Zakładu Medycyny Morskiej i Hiperbarycznej**  
**Wojskowego Instytutu Medycznego**  
**81-103 Gdynia ul. kmdr Grudzińskiego 4**  
**[romuald.olszanski@wp.pl](mailto:romuald.olszanski@wp.pl) tel. 601-652-633**

---

**Ocena**  
**rozprawy doktorskiej mgr Pauliny Smyk pt. „Wpływ wybranych**  
**ksenobiotyków na zmiany parametrów elektrofizjologicznych skóry”.**

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska mgr Pauliny Smyk „Wpływ wybranych ksenobiotyków na zmiany parametrów elektrofizjologicznych skóry” stanowi wynik wieloletnich badań i dociekań Doktorantki.

Aktywne składniki kosmetyków mogą wnikać w naskórek poprzez penetrację przez warstwę rogową naskórka oraz przez przydatki skórne. Efektywność przenikania substancji przez skórę jest determinowana przez wiele czynników, wśród których wyróżnia się: właściwości substancji dyfundującej, właściwości bazy kosmetycznej, czynniki biologiczne zależne od organizmu oraz czynniki fizyczne. A więc pomysł realizacji tematu pracy jest więc niezwykle trafny.

Rozprawa Pani mgr Pauliny Smyk zawiera 226 stron, z czego 193 stron przypada na tekst łącznie z dokumentacją, 14 stron na bibliografię, 5 stron na streszczenie w języku polskim i angielskim, 9 stron na spis tabel i rycin. Dokumentacja składa się z 52 tabel, 71 rycin rozmieszczonych w tekście pracy.

W teoretycznym wstępie, doktorantka w oparciu o aktualne piśmiennictwo krajowe i zagraniczne, przedstawiła budowę skóry ludzkiej i króliczej, wpływ promieniowania ultrafioletowego oraz wpływ antyoksydantów zawartych w preparatach kosmetycznych na powierzchnię skóry, przenikanie substancji aktywnych w kosmetykach, czynniki wpływające na efektywność przenikania związków chemicznych przez skórę oraz metody zwiększania przenikania substancji leczniczych przez skórę.

Po teoretycznym wstępie autorka przeszła do sformułowania celu pracy, którego podstawą była ocena wpływu promieniowania ultrafioletowego na parametry elektrofizjologiczne skóry ludzkiej i króliczej, ocena wpływu na te tkanki

nawilżających preparatów kosmetycznych zawierających składniki o właściwościach antyoksydacyjnych oraz pytanie czy skóra zwierzęca może stanowić model wyjściowy/porównawczy do badań na skórze ludzkiej. Tak sformułowany cel pracy uważam za aktualny, ciekawy i mogący mieć wymiar poznawczy oraz aplikacyjny.

Z danych przedstawionych w rozdziale „Materiał i metody” wynika, że Doktorantka zastosowała właściwie dobrany materiał badawczy oraz adekwatne do celu pracy metody. Materiał doświadczalny do realizacji pracy stanowiły 232 fragmenty skóry króliczej pozyskane z 12 zwierząt laboratoryjnych i 120 fragmentów skóry ludzkiej. W niniejszej pracy doktorskiej analizowano wpływ promieniowania ultrafioletowego i preparatów kosmetycznych zawierających substancje o właściwościach antyoksydacyjnych na parametry elektrofizjologiczne skóry króliczej pobranej od zdrowych zwierząt doświadczalnych i skóry ludzkiej, uzyskanej w postaci materiału resztkowego po zabiegach chirurgicznych powiek. Zrealizowana część eksperymentalna rozprawy, w moim odczuciu, wymagała olbrzymiego nakładu czasu pracy i umiejętności. Warunkiem prawidłowego wykonania doświadczeń było zachowanie żywotności pobranych tkanek i dbałość o nienaruszenie ich ciągłości.

Na badania wyraziła zgodę Komisja Bioetyczna Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy nr KB 25/2018.

Analiza statystyczna wyników została wykonana za pomocą zasadniczo dobrze dobranych testów statystycznych, przeprowadzona prawidłowo i przedstawiona w sposób wnikliwy i zrozumiały. Jako istotny statystycznie przyjęto poziom  $p \leq 0,05$ . Wyniki i miary statystyczne (medianę, kwartył dolny, kwartył górny) zestawiono w tabelach. Wątpliwości może wzbudzać jedynie zastosowanie najstarszego testu wielokrotnych porównań - testu NIR Fishera, ponieważ ryzyko popełnienia błędu polegającego na wskazaniu istotnych różnic w przypadku, gdy są one nieistotne, jest bardzo duże. Ponadto w przypadku testów nieparametrycznych, a takie poprawnie zastosowała doktorantka, odpowiednikiem testu Fishera, stosowanym dla porównań prostych zarówno równolicznych jak i różnolicznych grup jest np. test Dunna z korektą Bonferroniego lub Sidaka, czy test Conover-Iman. Przypuszczam, iż na decyzję Doktorantki dotyczącą doboru testu NIR mogło wpłynąć jego powszechne stosowanie w publikacjach naukowych, nie zawsze uzasadnione.

Wyniki badań zostały przedstawione w formie tabelarycznej i rycinowej przejrzyste i czytelnie. Należy zaznaczyć, że w literaturze brak jest publikacji o wpływie substancji pielęgnacyjnych na transport jonów w skórze ludzkiej i króliczej, co uzasadnia próbę poszerzenia wiedzy na ten temat. Stężenie antyoksydantów zawartych w maści nawilżającej dobrano tak, by korelowało ze stężeniem stosowanym przy produkcji kosmetyków.

Odmienny mechanizm zmian w reaktywności skóry ludzkiej w stosunku do grupy kontrolnej pokrytej maścią nawilżającą w połączeniu z witaminą A, E, koenzymem Q10 i witaminy E wraz z promieniowaniem UV, świadczy o wpływie zastosowanych składników na transport jonów chlorkowych. Zaś podczas stymulacji roztworem bumetanidu skóry ludzkiej pokrytej maścią nawilżającą z witaminą C i

naświetlanej promieniowaniem UV zaobserwowano wpływ na transport jonów sodowych.

Działanie substancji determinuje nie tylko jej aktywność potwierdzona w badaniach *in vitro*, ale również zdolność pokonywania przez nią bariery naskórkowej. Ważne jest, aby składnik aktywny kosmetyku dotarł do odpowiedniego obszaru skóry, w którym wykazuje on działanie biologiczne. Przenikanie substancji przez naskórek jest procesem skomplikowanym, na który wpływ ma szereg czynników. Dla większości kosmetyków miejscem działania jest powierzchnia skóry i warstwa rogowa. Substancje aktywne, testowane np. na hodowlach komórkowych, niekoniecznie muszą docierać do komórek docelowych w skórze właściwej. Na podstawie badań Doktorantki można wnioskować, że skórę ludzką charakteryzuje mniejsza przepuszczalność transepidermalna ksenobiotyków w porównaniu do fragmentów skóry pochodzącej z powierzchni brzusznej zwierząt doświadczalnych. Skóra królicza jest bardziej wrażliwa od ludzkiej. Doktorantka znalazła potwierdzenie swoich wyników w literaturze przedmiotu - spośród 15 substancji chemicznych sklasyfikowanych jako drażniące dla skóry króliczej tylko pięć okazało się znacznie drażniącymi dla skóry ludzkiej.

W rozdziale „Dyskusja” Doktorantka poddała wnikliwej i przemyślanej analizie wyniki badań własnych i skonfrontowała je z aktualnymi danymi z piśmiennictwa, których istnieje niewiele. W niektórych aspektach niniejszego eksperymentu nie mogła odnieść się do piśmiennictwa, ponieważ jej badania są pionierskimi. Ta część rozprawy świadczy o bardzo dobrym merytorycznym przygotowaniu Autorki rozprawy oraz o dużej dojrzałości naukowej.

Antyoksydacja jest procesem znajdującym szerokie zastosowanie w kosmetyce. Bogate piśmiennictwo potwierdza, iż witaminy A, C i E chronią skórę przed szkodliwym działaniem promieniowania słonecznego, redukują przebarwienia i stymulują produkcję kolagenu. Skutki wczesnego, krótkofalowego wpływu promieniowania UV, do których zalicza się powstawanie rumienia, oparzeń słonecznych, pobudzenie aktywności immunologicznej skóry czy indukcja stanu zapalnego można uznać za patologiczne. Promieniowanie UVB indukuje kaskadę cytokin, czynników naczyniotwórczych i neuroaktywnych w skórze, które razem indukują reakcję zapalną.

Wobec braku w literaturze naukowej doniesień dotyczących wartości parametrów elektrofizjologicznych skóry ludzkiej chronionej kosmetykami zawierającymi antyoksydanty i ekspozowanej na promieniowanie UV, przeprowadzone *in vitro* badania mają charakter nowatorski. Badania miały na celu wskazanie mechanizmów transportowych i regulacyjnych, które mogą uczestniczyć w analizowanych reakcjach elektrofizjologicznych zachodzących w skórze i ulegać modyfikacjom pod wpływem antyoksydantów aplikowanych miejscowo, oddzielnie bądź łącznie z naświetlaniem UV. Wśród transporterów transmembranowych kanały regulowane napięciem bądź ligandem chemicznym, odgrywają kluczową rolę w podstawowych procesach komórkowych, takich jak tworzenie i utrzymywanie gradientów elektrochemicznych, przekazywanie informacji, transport jonów, sygnalizacja i metabolizm, czyli podsumowując - na funkcjonalność komórek gospodarza. W toku niniejszego eksperymentu analizowano m.in. transport jonów

sodowych i chlorkowych w skórze (przepływ prądów jonowych, blokowanie kanałów jonowych) w warunkach in vitro. Tego typu badania mogą znaleźć zastosowanie praktyczne jako źródło wiedzy dla osób wykonujących zabiegi mezoterapii bezigłowej, wykorzystującej zjawisko elektroforoporcji w celu uzyskania zwiększonej przepuszczalności błon komórkowych warstwy rogowej skóry.

Rozprawę kończy Autorka dziewięcioma wnioskami odpowiadającymi na cel pracy. Najbardziej aplikacyjne znaczenie posiada wniosek 9, że skóra królicza nie powinna stanowić modelu zastępczego do badań elektrofizjologicznych skóry ludzkiej z uwagi na odmienne mechanizmy zmian indukowanych wpływem różnych substancji chemicznych.

Bibliografia zawiera 180 pozycji anglo- i polskojęzycznych przedstawionych w kolejności alfabetycznej, z tego tylko 14 prac pochodzących z zeszłego stulecia.

Przedstawiona mi do oceny praca doktorska dowodzi osiągnięcia zamierzonego celu. Autorka wykazała się dużą wiedzą i umiejętnie ją wykorzystała, tak w badaniach naukowych, jak i pisaniu pracy. Wyniki badań uzyskane przez Doktorantkę mają bez wątpienia nie tylko znaczenie poznawcze, ale przede wszystkim aplikacyjne pozwalające wykorzystać je w praktyce. W tym miejscu pragnę pogratulować tak Promotorowi jak i Doktorantowi za celny wybór praktycznego problemu badawczego.

W podsumowaniu pragnę podkreślić, że rozprawa doktorska Pani mgr Pauliny Smyk jest logicznym efektem uzyskanych w badaniach wyników, opartym na materiale dowodowym i dobrze przeprowadzonej dyskusji. Jest napisana w sposób zwięzły i zrozumiały, stylistycznie bez zarzutu. Warto podkreślić, że jest to praca pionierska w tym zakresie w Polsce.

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa, spełnia wymogi merytoryczne i formalne, stawiane pracom na stopień doktora nauk medycznych w art. 26 ustawy z dnia 14.03.2003 r. o stopniach naukowych i tytułach naukowych oraz o stopniach i tytułach w zakresie sztuki, z późniejszymi zmianami i Ustawą „Prawo o szkolnictwie wyższym”. W związku z tym, mam zaszczyt przedstawić Radzie Wydziału Farmaceutycznego Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, wniosek o dopuszczenie Panią mgr Pauliny Smyk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. n. med. Romuald Olszański

Specjalista dermatolog, alergolog