

Bydgoszcz, 22.06.2025 r.

dr hab. Bogumiła Kupcewicz, prof. UMK
Katedra Chemii Nieorganicznej i Analitycznej
Collegium Medicum UMK

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr Ewy Kilian-Pięty

pt. **“Otrzymywanie i zastosowanie biofermentu *Yarrowia* sp. w produktach kosmetycznych do pielęgnacji twarzy podczas retinoidoterapii”**

wykonanej pod kierunkiem promotorki dr hab. Joanny Matysiak, prof. UK oraz promotorki pomocniczej prof. dr hab. Darii Szymanowskiej.

Opiniowana rozprawa złożona w związku z ubieganiem się o nadanie stopnia doktora nauk o zdrowiu ma klasyczny układ monograficzny, liczy 167 stron i jest podzielona na siedem rozdziałów w tym Przegląd literatury, Cele pracy wraz ze schematem wykonanych doświadczeń, Materiały i metody, Wyniki i dyskusja, Wnioski oraz Literatura. Praca została uzupełniona także streszczeniem w języku polskim, chociaż zazwyczaj prace doktorskie zawierają także streszczenie w języku angielskim. Doktorantka wykorzystała 68 źródeł, w zdecydowanej większości publikacje naukowe z ostatnich dziesięciu lat. Szkoda, że w pracy zabrakło informacji o doktorantce w postaci np. życiorysu naukowego, co pozwoliłoby spojrzeć na wykonane badania w szerszym kontekście, ale przede wszystkim lepiej poznać ich autorkę. Niemniej z ogólnodostępnych informacji jakie można znaleźć w sieci wynika, że Pani mgr Ewa Kilian-Pięta jest absolwentką dwóch kierunków studiów, a mianowicie kosmetologii oraz chemii kosmetycznej. Posiada także bardzo bogate doświadczenie zawodowe związane z branżą produkcji kosmetyków i usług kosmetycznych.

Pierwsza część rozprawy obejmuje przegląd literatury. Doktorantka opisuje tu m.in. zastosowanie retinoidów w kosmetologii, a także w leczeniu trądziku oraz podkreśla potrzebę stosowania odpowiednich kosmetyków jako wsparcia leczenia dermatologicznego z użyciem tych związków. Ciekawym rozdziałem bezpośrednio nawiązującym do tematyki pracy jest ostatni w części Przegląd literatury, gdzie doktorantka podkreśla rosnące wykorzystanie drobnoustrojów w kosmetologii i w przemyśle kosmetycznym. Tutaj pojawia się także wzmianka o drożdżach z rodzaju *Yarrowia* sp jako cennym źródle związków aktywnych biologicznie. Właśnie ten materiał postanowiła

Doktorantka wykorzystała w eksperymentalnym etapie swoich badań. Oceniając ogólnie całość rozdziałów tej części pracy, uważam, że jest to dobre nakreślenie tła (aktualnego rynku branży kosmetycznej) i wprowadzenie pozwalające zrozumieć motywację w podjęciu opisanych badań.

Tematyka pracy podjęta przez Panią mgr Ewę Kilian-Piętę jest nie tylko ciekawa i aktualna, ale przede wszystkim otrzymane wyniki mają znaczenie praktyczne. Celem badań było opracowanie składu kosmetyków zapewniających kompleksową pielęgnację skóry twarzy u osób w trakcie retinoidoterapii. Z literatury przedmiotu i praktyki lekarskiej wynika, że stosowanie odpowiednich kosmetyków może poprawić stan leczonej skóry, przez zapobieganie lub łagodzenie negatywnych objawów towarzyszących leczeniu retinoidami, ale także zmniejszyć dyskomfort psychiczny i stres jaki często towarzyszy chorym na trądzik, łuszczycę czy atopowe zapalenie skóry. Zgodnie z zaleceniami podczas terapii retinoidami powinno się stosować łagodne środki myjące, kremy łagodzące podrażnienia i przesuszenia oraz ochronę przeciwsłoneczną w postaci filtrów z wysokim SPF.

Doktorantka zaproponowała opracowanie składu serii kosmetyków zawierających taki sam składnik funkcjonalny (ferment natywny lub filtrat uzyskany z drożdży *Yarrowia lipolitica*). Seria kosmetyków obejmowała trzy produkty, a mianowicie żel do mycia twarzy, serum oraz krem. Zaletą stosowania produktów z jednej serii, o zbliżonym składzie i odpowiednio dobranym pH, jest potencjalne ograniczenie ryzyka niepożądanych działań w przypadku zastosowania kosmetyków od różnych producentów i/lub o różnym składzie i zróżnicowanym pH. Wydaje się także, że takie podejście może wzmacniać wzajemnie działanie produktów (zakładając tolerancję wszystkich składników) pozwalając na osiągnięcie pozytywnych rezultatów leczenia i pielęgnacji.

Plan eksperymentu zakładał trzy etapy. Pierwszy etap obejmował przeprowadzenie biotechnologicznego procesu fermentacji drożdży *Yarrowia lipolitica* i uzyskanie biofermentu natywnego oraz filtratu bogatych w kwas alfa-ketoglutarynowy (AKG). W drugim etapie przygotowano dziewięć formuacji – po dwie dla każdego produktu (żelu do mycia, kremu i serum) zawierające bioferment lub filtrat oraz trzy produkty bez dodatku funkcjonalnego (jako kontrolę). Kolejny etap, najobszerniej opisany, to badanie przygotowanych formuacji z wykorzystaniem szeregu testów, w tym analiz laboratoryjnych oraz testów dermatologicznych oraz aplikacyjno-użytkowych z udziałem ludzi. Dodatkowo, dla opracowanych trzech produktów Doktorantka przygotowała pełną dokumentację wdrożeniową, która mogłaby pozwolić na ich wprowadzenie na polski rynek, realizując w ten sposób ostatni z założonych celów. Metodyka każdego procesu i pomiaru została bardzo szczegółowo opisana w pracy, z uwzględnieniem odpowiednich wytycznych czy norm. Przygotowanie różnych formuacji zostało także udokumentowane na zdjęciach.

Dwa surowce, otrzymane w wyniku procesu biotechnologicznego, czyli bioferment natywny oraz filtrat zawierały przede wszystkim kwas alfa-ketoglutarykowy, kwas pirogronowy oraz w mniejszych stężeniach kwas cytrynowy jako składniki aktywne. W kolejnym etapie pracy szeroko opisano proces przygotowania formułacji kosmetycznych na bazie otrzymanych surowców wraz z dyskusją uzasadniającą dobór poszczególnych pozostałych składników produktu i wskazującą na potencjalne pozytywne działanie kwasu alfa-ketoglutarykowego. Opracowane formułacje scharakteryzowano pod względem właściwości fizyko-chemicznych i potwierdzono, że pozytywnie przeszły badanie na brak obecności metali ciężkich, testy konserwacji i starzeniowe a także ocenę czystości mikrobiologicznej i stabilności. Pozytywny wynik tych testów pozwolił na wprowadzenie formułacji do kolejnego badania – z udziałem ludzi. Wyniki opinii probantów oraz badań fizykochemicznych wskazały jednoznacznie na duży potencjał biofunkcyjny wszystkich opracowanych formułacji. Dodatkowo dokumentacja fotograficzna (rys. 27-29) potwierdza pozytywny wpływ pielęgnacji zaproponowanymi produktami na stan skóry w trakcie leczenia trądziku izotretynoiną. Na podstawie uzyskanych wyników Doktorantka podjęła decyzję, że dokumentację wdrożeniową przygotuje dla żelu do mycia, kremu i serum zawierającego filtrat. Tutaj należy podkreślić, że dokumentacja została przygotowana bardzo starannie. Pracę podsumowano prezentując sześć syntetycznych wniosków, które znajdują potwierdzenie w opisanych wcześniej wynikach.

Do obowiązku recenzentki należy także wskazanie ewentualnych niedociągnięć oraz zadanie pytań do dyskusji podczas obrony.

Doktorantka nie uniknęła drobnych błędów redakcyjnych, w tym stylistycznych czy literówek, np. na str. 126 trzykrotnie pojawiło się wyrażenie „ze składaniem funkcjonalnym” a powinno być „ze składnikiem funkcjonalnym”, czy też stosowanie kropki jako separatora dziesiętnego zamiast przecinka (np. na str. 137 i 138). Ponadto Tabela 19 i Tabela 20 zostały zamienione miejscami. W Tabeli 2, gdzie wymieniono zastosowane w pracy drobnoustroje powinna znaleźć się aktualnie obowiązująca nazwa *Clostridioides difficile* zamiast *Clostridium difficile*. Tego typu błędy są jednak nieliczne w kontekście obszerności pracy.

W odniesieniu do wyników badań opisanych w części eksperymentalnej pracy proszę o wyjaśnienie/uzupełnienie następujących kwestii:

- Chciałabym prosić o doprecyzowanie informacji o ochotnikach biorących udział w badaniach. Czy 20 osób udział w badaniu oceny miejscowej tolerancji skórnej (opisanego



w rozdziale 10.1 brało także udział w badaniach aplikacyjno-użytkowych? Jeśli tak, to do której grupy zostali włączeni? Czy też inne 60 osób (3 grupy po 20 osób) brało udział w tym etapie badań?

- W rozdziale 10.1 w opisie grupy probantów znalazło się określenie: „z wywiadem alergicznym”. Czy właściwym terminem nie powinno być „z dodatnim wywiadem alergicznym”? Takich osób w grupie było 15, co stanowi aż 75%. Proszę o doprecyzowanie czy w kryteriach włączenia brano pod uwagę rodzaj alergii i czy to było celowe działanie, żeby tak duży odsetek w grupie stanowiły osoby z alergią?
- W pracy brakuje opisu analizy statystycznej wyników (jakie testy zastosowano, co porównywano, w jakim programie wykonano obliczenia itp.). Wydaje się, że może w procesie redagowania pracy jakiś rozdział/akapit nie został uwzględniony? W części Wyniki i dyskusja (rozdziały 11 i 12) w komentarzu do wyników przedstawionych na odpowiednich wykresach (Rys. 19 – 27) pojawia się stwierdzenie „Uzyskane wyniki są istotne statystycznie i p wynosi $<0,05$ ”. Niestety nie ma informacji, na jakiej podstawie Doktorantka wyciągnęła taki wniosek. Wymaga to uzupełnienia.
- Dodatkowo na wykresach od 24 do 27 brakuje informacji czy wysokość słupka reprezentuje wartość średnią wyników (jak zakładam). Szkoda, że na wykresach nie uwzględniono jakiegś miary zmienności jak odchylenie standardowe czy przedział ufności (np. w postaci wąsów) lub podanej wartości.
- Chciałabym także zapytać Doktorantkę czy podjęto już próby produkcji kosmetyków o zaproponowanym składzie? A jeśli tak, to na jakim etapie jest wdrażanie tych produktów na rynek?

Praca doktorska dowodzi, że mgr Ewa Kilian-Pięta posiada bardzo dobre przygotowanie analityczno-biotechnologiczne, znajomość metodyki wytwarzania kosmetyku jak również przepisów i dokumentacji wymaganej przy wprowadzaniu tego typu produktów na polski rynek. Podsumowując rozprawa doktorska została dobrze zaplanowana i wykonana, jest samodzielnym i oryginalnym rozwiązaniem zaprezentowanego zadania badawczego – opracowania innowacyjnych kosmetyków o specjalnym przeznaczeniu. Autorka z sukcesem zastosowała szereg technik, pokazując jednocześnie olbrzymi wkład pracy eksperymentalnej w pozyskanie danych pomiarowych, ich dyskusję oraz realizację założonych celów.

Biorąc powyższe pod uwagę, nie mam wątpliwości, że rozprawa spełnia kryteria określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 30.08.2018 poz. 1668,



art. 187 z późniejszymi zmianami). W związku z tym wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki o Zdrowiu Uniwersytetu Kaliskiego o dopuszczenie mgr Ewy Kilian-Pięty do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w dyscyplinie Nauki o zdrowiu.

dr hab. Bogumiła Kupcewicz, prof. UMK