Recenzja rozprawy doktorskiej na stopień doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne

mgr Jadwiga Kalicińska

Analiza porównawcza metod oceny potencjału drażniącego i uczulającego składników kosmetyków w kontekście zakazu badań na zwierzętach

Promotor główny

Prof. dr hab. n. med. Radosław Śpiewak

Promotor pomocniczy

Dr hab. Barbara Wiśniowska prof. UJ

Uniwersytet Jagielloński

Collegium Medicum

2023

Praca doktorska pani mgr Jadwiga Kalicińska powstała dzięki Promotorowi Głównemu Prof. dr hab. n. med. Radosławowi Śpiewakowi w Zakładzie Dermatologii Doświadczalnej i Kosmetologii UJ CM.

Przedstawiona mi do oceny praca doktorska podejmuje tematykę związaną z działaniami niepożądanymi po zastosowaniu kosmetyków i analizie wiarygodności dostępnych metod *in vitro* w ocenie bezpieczeństwa kosmetyków w warunkach obowiązującego w Unii Europejskiej zakazu testowania na zwierzętach.

Problematyka podjęta przez Doktorantkę wskazuje na chęć wyjścia naprzeciw problemom i różnicom związanym w zakresie występowania reakcji niepożądanych u ludzi i ustaleniu listy składników kosmetyków i leków o działaniu potencjalnie drażniącym lub uczulającym. Dodatkowo podjęta została analiza dostępnych wyników opublikowanych badań na ludziach, zwierzętach i *in vitro* w odniesieniu do działania drażniącego i uczulającego dostępnych kosmetyków.

Niezwykle ciekawym i wydaje się, że przyszłościowym zadaniem jakim podjęła się doktorantka była próba zbudowania modelu matematycznego (*in silico)* do przewidywania działania uczulającego składników kosmetyków i leków. Według doktorantki i sprawdzenia dostępnej literatury brak jest jednoznacznych danych dotyczących tego tematu.
Wyniki Doktorantka oparła o zidentyfikowanie 78 substancji kosmetycznych oraz leków do stosowania zewnętrznego. Do zbioru uczącego modelu *in silico* opartego na indeksie eOR zakwalifikowała 38 substancji, a zbiór oparty na indeksie eAR na 40 substancjach. Najlepsze wyniki uzyskała na modelu wyszkolonym przy użyciu 17 deskryptorów z dokładnością 77%, czułością 71% i swoistością 85%.
We wnioskach podsumowała, że dostępne dane nie są wystarczające do stworzenia modelu *in silico,* który oceniałby potencjał drażniący składników kosmetyków i leków oraz, że taki model pracy mimo to pozwala przewidzieć działanie uczulające składników kosmetyków z dokładnościami porównywanymi do historycznie przeprowadzanych testów na zwierzętach i testach *in vitro*.

Z przyjemnością wystawiam pozytywną recenzję pracy doktorskiej pt.„Analiza porównawcza metod oceny potencjału drażniącego i uczulającego składników kosmetyków w kontekście zakazu badań na zwierzętach”.

Uzasadnienie

Rozprawa doktorska Pani mgr Jadwigi Kalicińskiej wpisuje się w wyjątkowo ważny, aczkolwiek bardzo ciężki, a nader nieznany dla większości pracowników medycznych temat badawczy. Poświęcona jest analizie problemu w dziedzinie wielowymiarowym, w zakresie dotyczącym potencjału drażniącego i uczulającego kosmetyków. Autorka pracy doktorskiej przeprowadziła obszerne analizy, w których skupiła się na wiarygodności dostępnych metod *in vitro* w ocenie bezpieczeństwa kosmetyków w warunkach obowiązującego w Unii Europejskiej zakazu testów na zwierzętach. Przede wszystkim autorka dokładnie omówiła metody oraz testy, co pozwoliło na lepsze zrozumienie kontekstu badania. Następnie przedstawiła wyniki badań, które wskazują na wiele czynników, które mogą wpływać na problemy związane z działaniami drażniącym i uczulającymi przez kosmetyki i leki.

Analiza ta obejmowała 2 cele. Główny dotyczył wiarygodności dostępnych metod *in vitro* w ocenie bezpieczeństwa kosmetyków w warunkach obowiązującego w Unii Europejskiej zakazu testów na zwierzętach. Dodatkowym było opracowanie i ocena skuteczności modelu *in silico* jako możliwej metody alternatywnej oceny potencjału drażniącego i uczulającego.

Przedstawiona mi do oceny praca przygotowana została w formie monografii, liczy 184 stron i została podzielona na 6 części. Układ pracy jest typowy dla tego rodzaju opracowań. Rozpoczyna się Spisem treści, Streszczeniem w języku polskim i angielskim, następnie zamieszczono 5 rozdziałów stanowiących zasadniczą część pracy i na końcu: Wnioski, Bibliografię i Wykazem tabel i rycin zamieszczonych w tekście, Spisem wykresów. Kolejno załączono Aneks i opublikowane w czasopismach naukowych artykuły oryginalne prezentujące wyniki niniejszej pracy.

Monografia napisana jest w przystępny sposób, a jej logiczny układ ułatwia czytelnikowi śledzenie realizacji celów postawionych w pracy oraz analizę uzyskanych wyników. Niezmiernie cennym byłby załączony na początku pracy Wykaz Skrótów stosowanych w pracy. W 16-stronicowym Wstępie do rozprawy Doktorantka rzeczowo przedstawia aktualną wiedzę dotyczącą występowania skórnych reakcji niepożądanych wywołanych przez kosmetyki lub leki. Ponadto przedstawia przyczyny wyprysku kontaktowego z podrażnienia oraz czynniki prowokujące.

Szczegółowo opisuje miejscowe reakcje skórne alergicznego wyprysku kontaktowego oraz nadwrażliwość organizmu na hapteny i proteiny. W sposób rzetelny napisała podstawę rozpoznania i różnicowania alergicznego wyprysku kontaktowego i wyprysku kontaktowego z podrażnienia

w tym stosowanie testów płatkowych jako „złoty standard". Dodatkowo opierając się na Artykule 3 Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) Nr 1223/2009 z dnia 30 listopada 2009r opisała wykorzystanie testów oceniających bezpieczeństwo kosmetyków na organizm. W swojej dysertacji opisała testy Draize'a, Bühlera, GMPT i LLNA. Ponadto doktorantka opisała kolejność wycofywania testów kosmetyków i ich składników prowadzonych z wykorzystaniem zwierząt, jak również całkowity zakaz testowania na zwierzętach gotowych produktów kosmetycznych oraz ich składników. Przedstawiła rozporządzenia bezwarunkowego zakazu wszelkich testów składników kosmetyków na zwierzętach oraz zakaz obrotu produktami kosmetycznymi testowanymi na zwierzętach. W uzupełnieniu wstępu Doktorantka scharakteryzowała metody alternatywne oceny toksyczności związków chemicznych mające na celu zastąpienie doświadczeń na zwierzętach eksperymentami przeprowadzonymi *in vitro* lub *in silico.* Ponadto szczegółowo przedstawiła ilościowy test kolorymetryczny oceniający żywotność komórek, jak również uzupełniła o trójwymiarowe hodowle keratynocytów w tym opisując modele naskórka EpiSkin oraz EpiDerm. Do oceny cech uczulających *in vitro* załączyła opisy testów DPRA, MUSST, metodę KeratinoSens oraz test LuSens.

Wstęp uzasadnia wybór tematyki badawczej pracy. Część metodologiczna rozprawy doktorskiej została wykonana prawidłowo. Badania zostały zaplanowane logicznie z jasno postawionym etapami. W recenzowanej pracy doktorskiej zastosowano cały szereg analiz wyników opublikowanych badań na ludziach, zwierzętach *in vivo i in vitro*.

Uważam, że podjęcie się ustalenia listy składników kosmetyków i leków o działaniu potencjalnie drażniącym lub uczulającym było w sposób rzetelny i oparte o dostępne publikacje naukowe dostępne w bazach bibliograficznych PubMED, Embase, Web of Science i Google Scholar.

Wszystkie **tabele i ryciny** zawarte w pracy są czytelne oraz pomocne w interpretacji uzyskanych przez Doktorantkę wyników. Uzyskane w pracy analizy Doktorantka przedstawiła w 22 tabelach i 5 rycinach. Załączniki te stanowią istotne uzupełnienie pracy, nie są obszerne i według recenzenta wartościowe jest to, że zostały włączone bezpośrednio do rozdziału Wyniki. Cenny jest załączony Wykaz Tabel i Rycin ułatwiający szybkie znalezienie i zapoznanie się z wybranymi analizami.

W **Aneksie** zawarto podsumowanie wyników badań dotyczących działania uczulającego w testach płatkowych 82 składników oraz podsumowanie wyników badań dotyczących działania uczulającego w testach płatkowych u populacji generalnej, a także podsumowanie wyników badań dotyczących działania drażniącego w testach płatkowych u ludzi. Dodatkowo uzupełniono o wybrane deskryptory rozróżniające cząsteczki ze względu na ich działanie uczulające.

Ważną cechą tej pracy jest jej interdyscyplinarny charakter. Stosowanie rozmaitych, poprawnie dobranych metod świadczy o dobrym opanowaniu warsztatu badawczego i umiejętności jego wykorzystania przez Doktorantkę.

Dyskusja przeprowadzona w pracy jest bardzo dobrze napisana i wnosi wartość naukową w dziedzinę medycyny w zakresie dermatologii i kosmetologii.

Mocną stroną pracy jest oryginalność podjęcia tematu, słabe strony pracy są związane z małą ilością danych, które nie są wystarczające do stworzenia modelu *in silico*, który oceniałby potencjał drażniący składników kosmetyków i leków. Pomimo tego zaproponowany przez Doktorantkę model *in silico* pozwala przewidzieć działanie uczulające składników kosmetyków z dokładnością porównywalną do historycznie przeprowadzanych testów na zwierzętach oraz stosowanych testów *in vitro.*

Uważam, że Doktorantka w przyszłości będzie mogła podjąć dalsze kierunki badań w oparciu o międzynarodową współpracę z innymi ośrodkami zajmującymi się i wykorzystującymi nowe metody uczenia maszynowego do oceny potencjału uczulającego składników kosmetyków i leków do stosowania zewnętrznego u ludzi.

Wnioski jakie wysunęła doktorantka wskazują na wiele interesujących wyników, a w tym wykorzystanie najnowszych metod tzw „sztucznej inteligencji". Jako recenzent jestem świadoma ograniczeń uzyskanych wyników związanych z małą liczbą danych, ale mam nadzieję, że Doktorantka będzie kontynuować badania w tym temacie w przyszłości.

W mojej opinii rezultaty badań przedstawione w pracy doktorskiej mają duże znaczenie praktyczne, ponieważ mogą pomóc w lepszym zrozumieniu potrzeb oraz w opracowaniu bardziej skutecznych strategii do wyboru kosmetyków i leków dla kobiet i mężczyzn.

W tym kontekście praca doktorska może znaleźć zastosowanie w praktyce klinicznej i przyczynić się do poprawy stanu skóry i komfortu po przez lepszy wybór kosmetyków i leków, to znaczy specjalnie „szyty na miarę" dla ludzi.

Uwagi: wyżej już wspomniano, że cennym byłoby umieszczenie na początku pracy Wykazu Skrótów stosowanych w pracy. Kolejnym ujednolicenie pisowni kursywą angielskich i łacińskich nazw. Ostatnia uwaga, odnosi się do braku nielicznych odnośników w piśmiennictwie zawartym w tekście.

Podsumowując, pomimo nieznacznych wyżej wymienionych uwag, recenzowana rozprawa doktorska „Analiza porównawcza metod oceny potencjału drażniącego i uczulającego składników kosmetyków w kontekście zakazu badań na zwierzętach" jest o wysokiej wartości merytorycznej i stanowi istotny wkład w badania nad substancjami kosmetycznymi oraz lekami do stosowania zewnętrznego u ludzi. Przeprowadzone analizy i przedstawione wyniki są rzetelne

i warte uwagi, a interdyscyplinarny charakter pracy pozwolił na uzyskanie kompleksowego spojrzenia na temat wykorzystania nowej metody uczenia maszynowego do eksploracji danych oraz przewidywania działania uczulającego składników kosmetyków i leków. W pracy doktorskiej opartej o monografię istotnym elementem recenzji była ocena mgr Jadwigi Kalicińskiej i jej indywidualnego wkładu pracy w doktorat.

Po analizie indywidualny wkład Doktorantki w postaci przygotowania bazy danych, zbierania i analizie danych, analizie wyników, zbierania piśmiennictwa, przygotowania dyskusji i publikacji był znaczący. Doktorantka w napisaniu rozprawy stanowi potwierdzenie jej wiedzy i umiejętności prowadzenia pracy naukowej.

Przedstawiona mi do recenzji praca jest oryginalnym dziełem Autorki, która wykazała się umiejętnością w posługiwaniu się piśmiennictwem naukowym i znajomością podjętej tematyki. Założenia metodologiczne pozwoliły na uzyskanie wyników badań i weryfikację hipotez. Praca spełnia wymogi stawiane pracom doktorskim na stopień doktora, wyniki badań mają znaczenie poznawcze jak i praktyczne. Pracę oceniam pozytywnie ponieważ monografię cechuje dojrzałość Doktorantki, sumienność i krytycyzm. Zostały zachowane proporcje, język zwięzły i naukowy.

Wniosek: Mając powyższe na uwadze pozwalam sobie przedstawić recenzję z przekonaniem, że oceniana rozprawa doktorska spełnia wymogi stawiane rozprawie na stopień doktora i spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2017 r., poz. 1789 z późn. zm.), a także zasad i trybu postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w Uniwersytecie Jagiellońskim Collegium Medicum w Krakowie.

Wniosek końcowy: Rozprawa doktorska „Analiza porównawcza metod oceny potencjału drażniącego i uczulającego składników kosmetyków w kontekście zakazu badań na zwierzętach" spełnia warunki i wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie Pani mgr Jadwigi Kalicińskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Monte Rachel
16.09.2023 r.