



Kraków, 19.06.2023 r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr farm. **Tomasza Gnatowskiego**
pt. „**Zastosowanie technologii druku 3D do otrzymywania opatrunków**”

wykonanej w Katedrze Technologii Postaci Leku Wydziału Farmaceutycznego Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu im. M. Kopernika w Toruniu, pod kierunkiem i opieką naukową **prof. dr hab. Jerzego Krysińskiego**

Wydział
Farmaceutyczny
Katedra
Technologii
Postaci Leku
i Biofarmacji

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska, zgodnie z wytycznymi przewidzianymi w art.187. ust.3. Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce*, została przygotowana w formie zwartej opracowania, monografii o klasycznym układzie stron.

Uzasadnienie problematyki badawczej w recenzowanej rozprawie

Powodzenie w uzyskaniu celu terapeutycznego zależy od wielu czynników, w tym m.in. od właściwej diagnozy oraz rodzaju stosowanej terapii. W przypadku leczenia ran, uznawanego za jedną z przyczyn obniżenia jakości życia pacjentów, w praktyce klinicznej stosowane są opatrunki z grupy specjalistycznych opatrunków aktywnych wykonanych zarówno z naturalnych, jak i syntetycznych polimerów. Normalizacji procesu gojenia ran sprzyja stosowanie opatrunków o właściwościach lepko-sprężystych, zabezpieczających nie tylko przed niekorzystnym oddziaływaniem czynników zewnętrznych, ale równocześnie zapewniających m.in. łagodzenie bólu, wymianę gazową, wchłanianie wysięku. Ze względu na porowatą strukturę i możliwość wprowadzania substancji czynnej, hydrożele stanowią wciąż interesujący materiał opatrunkowy.

Przedmiotem badań mgr Tomasza Gnatowskiego było wykorzystanie techniki druku 3D do opracowania opatrunku na rany. W ostatniej dekadzie, techniki te znajdują wielokierunkowe zastosowanie m.in. w przemyśle maszynowym, edukacji, architekturze, medycynie, a od kilku lat są przedmiotem prac rozwojowych w obszarze nauk farmaceutycznych. Liczne badania naukowe związane z tą tematyką dotyczą druku formułacji o różnej formie i strukturze, w tym także materiałów opatrunkowych.

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska mgr Tomasza Gnatowskiego pt. „Zastosowanie technologii druku 3D do otrzymywania opatrunków” dotyczy naświetlonych powyżej kierunków badań. Koncepcja założeń badawczych przedstawionych w rozprawie doktorskiej wpisuje się w aktualną i niezwykle ważną problematykę technologii farmaceutycznej, obejmującą zarówno aspekty poznawcze jak i o potencjalnym znaczeniu aplikacyjnym. Projektowanie składu i procesu sporządzania jałowego opatrunku

ul. Medyczna 9
PL 30-688 Kraków
tel. +48(12) 62 05
fax: +48(12) 62 05
tpl@farmacja.cm-uj.l



Ry

hydrożelowego z metronidazolem, charakteryzującego się trudną rozpuszczalnością w wodzie, stanowi ciekawą propozycję łączenia aspektów technologii farmaceutycznej z inżynierią materiałową. Celem przeprowadzonych badań była próba optymalizacji składu i procesu sporządzania jałowego materiału opatrunkowego o potencjalnym zastosowaniu w leczeniu ran.

Struktura rozprawy doktorskiej

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr Tomasza Gnatowskiego, wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. Jerzego Krysińskiego jest dokumentem przygotowanym w formie manuskryptu w języku polskim, liczącym 191 stron, zawierającym charakterystykę przeprowadzonych badań. Obejmuje osiem rozdziałów: wstęp, cel i założenia prac eksperymentalnych, część doświadczalną uwzględniającą materiały i metodykę badań, a także omówienie wyników badań, wnioski, wykaz piśmiennictwa, streszczenia w języku polskim i angielskim, a także wykaz skrótów przydatnych podczas czytania dysertacji. Część teoretyczna i doświadczalna udokumentowana jest odpowiednio 6 i 42 tabelami oraz 6 i 94 rycinami. Rozdział „Wykaz piśmiennictwa” obejmuje 159 pozycji, z czego większość opublikowana po 2000 roku. Oceniana rozprawa została poprawnie przygotowana pod kątem redakcyjnym i edycyjnym.

Ocena wiedzy Doktoranta w obszarze tematyki badawczej.

Zasadność podjęcia badań, których celem było opracowanie opatrunków sporządzonych metodą druku 3D, została w przekonujący sposób potwierdzona w liczącej 48 stron wstępnej części rozprawy doktorskiej (rozdz.I.). Doktorant przedstawił aktualny stan wiedzy ściśle powiązany z badaniami własnymi. Tematyka ta dotyczyła z jednej strony zagadnień związanych z klasyfikacją i procesem gojenia ran oraz charakterystyką stosowanych opatrunków, z drugiej zaś charakterystyki technik druku 3D przydatnych do wytwarzania materiałów opatrunkowych. O starannym przeglądzie piśmiennictwa i umiejętności selekcjonowania informacji świadczy przedstawione w formie tabelarycznej kompendium danych charakteryzujących strukturę i przeznaczenie stosowanych w lecznictwie opatrunków oraz ich zalet i wad. W podobnej formie Doktorant przedstawił przegląd wyników badań z obszaru technik ekstruzyjnych druku 3D w aspekcie sporządzania materiałów opatrunkowych, uzyskanych w przedziale czasowym 2019 r. – 2022 r. Uwagę zwrócił również podrozdział poświęcony zagadnieniom stosowania metronidazolu w leczeniu ran. Doktorant przedstawił dotychczasowe wyniki badań *in vivo* dotyczące półstałych postaci leku oraz silikonowych opatrunków z metronidazolem w kontekście leczenia ran, co stanowiło podstawę uzasadnienia celowości wyboru metronidazolu jako substancji czynnej, inkorporowanej w matrycy opatrunku. Tak więc lektura wstępnej części

daje mi podstawę do stwierdzenia nabycia przez Doktoranta szerokiej wiedzy w obszarze dotyczącym istotnych elementów rozprawy doktorskiej. Opisany materiał teoretyczny odpowiednio usystematyzowany, stanowi w mojej opinii interesujące źródło informacji, udokumentowane poszczególnymi danymi z piśmiennictwa. Cytowanie kilku pozycji z wcześniejszego okresu tj. między 1978 r. a 1999 r. jest w pełni uzasadnione.

Ocena merytoryczna rozwiązania problemu badawczego z uwzględnieniem doboru materiału do badań, metodyki oraz sposobu interpretacji wyników

Magister Tomasz Gnatowski podjął ważny problem opracowania sposobu sporządzania opatrunku z metronidazolem do stosowania na rany z wykorzystaniem techniki druku 3D. Jako cel badawczy założył określenie czynników mających wpływ na uzyskanie opatrunków odpowiedniej jakości, dostosowanych do potrzeb terapeutycznych pacjenta.

Zrealizowanie opisanego celu badawczego wymagało znaczącego poszerzenia wiedzy i umiejętności z zakresu procesów technologicznych i zaawansowanych technik analitycznych.

Biorąc pod uwagę skład jakościowy i ilościowy proponowanych materiałów opatrunkowych, Doktorant wyznaczył dwanaście celów cząstkowych ułatwiających prawidłową ich ocenę. Spośród nich można wyróżnić trzy zasadnicze wątki badawcze:

- weryfikację składników hydrożeli pod kątem ich przydatności w technice druku 3D z jednoczesnym określeniem parametrów procesu;
- projektowanie kształtu opatrunku dostosowanego do rozmiaru rany;
- ocenę właściwości sporządzonych materiałów opatrunkowych z uwzględnieniem wpływu procesu sterylizacji, rodzaju materiału opakowaniowego na trwałość metronidazolu, a także składników formulacji na właściwości przeciwdrobnoustrojowe substancji czynnej.

Rodzaj stosowanych substancji, materiałów oraz użytej aparatury technologicznej i pomiarowej został zebrany w rozdziale III. W sposób prawidłowy została też przedstawiona metodyka badań.

Część doświadczalna obejmowała:

- w etapie projektowym:
 - opracowanie hydrożelowych modeli matryc opatrunków
- w etapie technologicznym:
 - opracowanie składu hydrożelowych, formulacji oraz odpowiednich matryc opatrunków;

- sporządzenie matryc opatrunków techniką ekstruzyjną druku 3D;
- przeprowadzenie sterylizacji materiałów opatrunkowych różnymi metodami;
- o w etapie analitycznym:
 - badania substancji leczniczej (zawartość, jednolitość zawartości i trwałość metronidazolu w hydrożelach i sporządzonych matrycach umieszczonych w trzech badanych opakowaniach);
 - ocenę jakości sporządzonych matryc, tj. ocenę właściwości mechanicznych matryc oraz uwalniania z nich substancji leczniczej;
 - badania mikrobiologiczne.

Skład matryc hydrożelowych stanowiły: alkohol poliwinylowy oraz plastyfikatory Makrogol 400, glikol propylenowy, glicerol lub Transcutol®P o różnej ich zawartości. Doktorant wykazał brak interakcji ww. składników z metronidazolem oraz wpływu plastyfikatorów na skuteczność przeciwdrobnoustrojową. Spośród 44 formułacji hydrożelowych do badań wybrano pięć o 0,2% zawartości metronidazolu.

Spośród użytych plastyfikatorów, tylko Makrogol 400 w połączeniu z PVA okazał się nieodpowiedni do procesu druku 3D. Matryce uzyskano poprzez wydruk przy użyciu drukarki ZMorph, pasm krzyżujących się pod kątem prostym, o różnych wymiarach i gęstości ich upakowania. Na tej podstawie dokonano wyboru optymalnego modelu z 3,5 mm odstępami między pasmami. Jako parametry krytyczne procesu, Doktorant określił ciśnienie wytłaczania hydrożelu z głowicy drukującej, prędkość wydruku, a także lepkość hydrożelu. Użycie glikolu propylenowego, glicerolu lub Transcutolu®P jako plastyfikatora sprzyjało uzyskaniu matryc opatrunków o zadowalających właściwościach mechanicznych oraz deklarowanej zawartości substancji leczniczej, a także natychmiastowym jej uwalnianiu. Jednym z istotnych wymogów jest jałowość opatrunków. Doktorant wykazał możliwość wyjaławiania hydrożelu metodą sterylizacji parą wodną, bez wpływu na rozkład metronidazolu, by w kolejnym etapie użyć go do druku 3D, a proces wytwarzania prowadzić w warunkach aseptycznych. Zastosowanie innych metod wyjaławiania w przypadku gotowych opatrunków, tj. promieniowaniem jonizującym, tlenkiem etylenu lub wyjaławianie plazmowe nadtlenkiem wodoru powodowało tworzenie się produktów rozkładu w różnym zakresie, zależnie od rodzaju metody.

W końcowym etapie wybór opakowania gwarantującego trwałość składników oraz brak zmian właściwości fizyko-mechanicznych jest niezwykle istotne i stanowi o jakości produktu. W tym celu Doktorant przeprowadził badania stabilności stosując opakowanie Tyvek-folia oraz papierowo-foliowe, przechowując w nich opatrunki w temperaturze pokojowej oraz w chłodziarce. Stosując tzw. „opakowania barierowe” tj. w kolbach

miarowych lub w fiolkach iniekcyjnych stwierdzono trwałość metronidazolu w opatrunkach przechowywanych w temp. 40°C przez okres 70 dni.

Podczas lektury rozprawy doktorskiej nasunęło mi się kilka pytań. O odpowiedź na nie prosiłabym podczas obrony.

- Dlaczego jako opakowania o wyższej barierowości wybrano kolbę miarową oraz fiolki iniekcyjne; w jaki sposób umieszczano materiał opatrunkowy w kolbie miarowej; w jaki sposób uzyskano szczelność zamknięcia?
- Proszę o sprecyzowanie i uzasadnienie warunków przechowywania materiałów opatrunkowych w badaniach stabilności.
- Zdjęcie modelowej rany pobrano z bazy internetowej. Przedstawiona rana ma znamiona zmian martwiczych, a więc nasuwa się pytanie, czy ten rodzaj opatrunku jest właściwy. Prosiłabym o wyjaśnienie, czym kierował się Doktorant, dokonując takiego wyboru. Jak zaznaczono w pracy, zastosowano skalowania do wymiarów rzeczywistych (ryc.23A). Na jakiej więc podstawie Doktorant określił rzeczywisty wymiar rany skoro, jak wspomniałam wcześniej, zdjęcie pobrano z bazy internetowej, na którym nie ma skali, ani obiektu o wymiarze, umożliwiającym oszacowanie wielkości rany. Obraz 2D nie odzwierciedla rzeczywistego konturu rany, krzywizny, ani jej głębokości. Różna też jest charakterystyka liniowa dla opatrunku na małe i rozległe rany. Wprawdzie znane są już aplikacje oceniające wymiary i powierzchnię rany na podstawie markera umożliwiającego kalibrację, to jednak w piśmiennictwie, problem dokładności odwzorowywania wymiarów jest dostrzegany.

Muszę przyznać, że Doktorant nie ułatwił recenzentowi analizy serii próbek do badań. W pierwszej tabeli w części doświadczalnej (tab.7) znalazły się próbki oznaczone od nr 78 do 108, których numeracja nie jest chronologiczna. W dalszej części pracy znajdujemy próbki o niższej numeracji, tj. 38-47 (tab.19), 48-69 (tab. 21). W tabeli nr 18 (str. 69) wprowadzono numerację serii od 125 do 128, które odpowiadają seriom odpowiednio o nr. 115,120,112,109 w tabeli 11 (str. 62). Pozostałej, wcześniejszej numeracji brak. Uważam, że należało w rozprawie doktorskiej usystematyzować serie próbek do badań rozpoczynając od nr. 1, z dokonaniem podziału oznakowania na hydrożele (np. H1) i matryce hydrożelowe (np. MH1), a także ze względu na rodzaj badania. Zwracam na to uwagę, gdyż próbki o tym samym składzie mają różną numerację. Jak sądzę, Doktorant ze zbioru wszystkich próbek, które wykonał opracowując opatrunki hydrożelowe, wybrał tylko część do przedstawienia wyników badań w rozprawie doktorskiej, nie zmieniając numeracji zawartej w protokołach badań. Nie ustrzegł się również pewnych nieprawidłowych sformułowań (np. „próby po

zapakowaniu umieszczono „w warunkach pokojowych” str.77; „biodruk jest metodą addycyjną”, powinno być addytywną itp), nie zawsze dostosował terminologię do obowiązującej w FPXII. Korzystne byłoby wprowadzenie klasyfikacji technik druku 3D w oparciu o normę PN-EN ISO 52900:2021. Po dogłębnej analizie całości materiału stwierdzam, że Doktorant w oparciu o wyniki przeprowadzonych badań prawidłowo sformułował osiem wniosków. Kolejny zaś (wniosek nr. 9) w mojej opinii sformułowany jest „na wyrost”. Biorąc pod uwagę zakres wykonanych badań, trudno mówić o dostosowaniu do kształtu rany, raczej do konturu rany. Pragnę podkreślić, że uwagi zawarte w recenzji nie mają wpływu na moją bardzo dobrą opinię dotyczącą wartości merytorycznej pracy doktorskiej.

Do najważniejszych osiągnięć recenzowanej rozprawy doktorskiej zaliczam:

- aktualność i istotność problematyki badawczej,
- spójność logicznego ukierunkowania poszczególnych etapów badań, by w końcowym etapie zaproponować odpowiednie rozwiązanie w aspekcie sporządzania opatrunków techniką ekstruzyjną druku 3D i wskazać czynniki decydujące o rozwoju formy opatrunków z metronidazolem i ich trwałości.

Rozprawa doktorska stanowi niewątpliwie interesujące, oryginalne opracowanie naukowe dotyczące procesów technologicznych oraz metod oceny jakości sporządzonych hydrożeli i opatrunków. Stanowi przemyślane rozwiązanie szeregu problemów badawczych. Interesujący zbiór danych dotyczących właściwości fizycznych analizowanych formułacji wskazuje skalę prowadzonych badań. Uważam, że Doktorant zrealizował zaplanowane zadania badawcze, a wyniki zawierają elementy nowości naukowej w zakresie opracowania sporządzania opatrunków przy użyciu techniki druku 3D. Poza charakterem poznawczym wyniki badań mogą mieć w przyszłości bezpośrednie przełożenie aplikacyjne.

Podsumowanie

W końcowej konkluzji pragnę wyrazić przekonanie, że **rozprawa doktorska mgr farm. Tomasza Gnatowskiego pt. „Zastosowanie druku 3D do otrzymywania opatrunków” stanowi bardzo wartościowe opracowanie naukowe dotyczące problematyki o charakterze technologicznym.** Doktorant dzięki gruntownemu przygotowaniu teoretycznemu i wykonaniu wielu prac- i czasochłonnych badań oraz analiz wskazał możliwość sporządzania jałowego opatrunku na bazie polimeru PVA z dodatkiem glicerolu, Transcutolu® lub glikolu propylenowego jako plastyfikatorów, dostosowanego do wielkości zmiany chorobowej indywidualnego pacjenta, podkreślając równocześnie konieczność

kontynuacji badań pod kątem doboru odpowiedniego opakowania. **W mojej opinii ustawowe wymogi Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce** (tekst jedn. Dz.U. z 2020 r. poz. 85 z późn.zm.) **stawiane rozprawom doktorskim zostały osiągnięte**. Na tej podstawie zwracam się do Rady Dyscypliny Nauki farmaceutyczne Uniwersytetu im. Mikołaja Kopernika w Toruniu, Collegium Medicum w Bydgoszczy z wnioskiem o przyjęcie niniejszej rozprawy doktorskiej do dalszych etapów postępowania w celu nadania stopnia doktora nauk farmaceutycznych.

Biorąc pod uwagę fakt, że przedłożona do recenzji rozprawa doktorska spełnia kryteria określone w Regulaminie wyróżniania prac doktorskich na Wydziale Farmaceutycznym Collegium Medicum w Bydgoszczy, **wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Tomasza Gnatowskiego.**

Renata Jachowicz
Prof. dr hab. Renata Jachowicz