



Opole, 2 stycznia 2023r.

prof. dr hab. Jacek Lipok

RECENZJA

pracy doktorskiej Pani mgr Karoliny Latanowicz

**p.t.: *Opracowanie nowej linii kosmetyków myjących i pielęgnacyjnych na bazie pro- i prebiotyków, których działanie dermoochronne i przeciwstarzeniowe zostanie wzmocnione naturalnymi składnikami aktywnymi otrzymanymi w wyniku procesów fermentacyjnych***

przygotowanej w ramach programu MNiSW „Doktorat wdrożeniowy”, umowa 0017/DW/2-019/02  
we współpracy z przedsiębiorstwem

Latech Bernard Latanowicz, właścicielem marki kosmetyków LaQ  
na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu,  
pod kierunkiem

prof. dr hab. Izabeli Nowak

oraz

prof. UAM dr hab. Agnieszki Feliczak-Guzik  
opiekun naukowej z ramienia właściciela marki LaQ

Wiele informacji pochodzących z różnych źródeł historycznych wskazuje, że specyfiki służące upiększeniu ciała i zachowaniu jego atrakcyjnego wyglądu, towarzyszą przedstawicielom gatunku *Homo sapiens* od początku rozwoju cywilizacji. Współcześnie, specyfiki te nazywamy kosmetykami i w coraz szerszym wymiarze zdajemy sobie sprawę z wielorakiej roli, jaką pełnią te złożone chemicznie mieszaniny. Coraz wyraźniej podkreśla się znaczenie kosmetyków i zabiegów pielęgnacyjnych dla zachowania zdrowia i funkcjonalności skóry, która stanowiąc powłokę ciała jest jednym z ważniejszych narządów aktywnie uczestniczących w interakcjach organizmu ze środowiskiem zewnętrznym. To w wyniku wspomnianych interakcji zewnętrzna warstwa skóry stała się swoistą niszą ekologiczną - siedliskiem, w którym rozwijają się mikroorganizmy zachowujące dynamiczną równowagę w relacjach pomiędzy populacjami reprezentującymi odmienne taksony. Ogół tych mikroorganizmów wraz z cechującą je pulę genów określa się najczęściej jako mikrobiom i od niedawna słusznie traktuje jako istotny przedmiot należytej troski w toku zabiegów pielęgnacyjnych skóry. Troska ta jest rezultatem gromadzonej wiedzy wskazującej na kluczową rolę mikrobiomu skóry dla zachowania pełnej

funkcjonalności tego narządu. W wymiarze chemicznym – będącym istotą niniejszej rozprawy, wymaga to świadomego komponowania składu chemicznego kosmetyków w taki sposób, by równocześnie zachować bądź przywrócić zdrowy mikrobiom oraz dostarczyć odpowiednie związki chemiczne do warstw skóry, w których ich obecność przyniesie najbardziej korzystne skutki. Tworząc kompozycje współczesnych kosmetyków, nie bez powodu sięga się zatem do przebogatej kolekcji substancji naturalnych, albo wykorzystuje mimiki tych związków pamiętając, że w trakcie rozwoju ewolucyjnego nasza skóra miała i nadal ma kontakt z substancjami występującymi naturalnie w otoczeniu.

Dążenie to znalazło praktyczne odzwierciedlenie w sformułowanym przez Panią mgr Karolinę Latanowicz celu badań, stanowiących podstawę ocenianej rozprawy, który opisała jako opracowanie nowej linii kosmetyków myjących i pielęgnacyjnych na bazie pro-, pre- i postbiotyków, w których działanie dermochronne i przeciwstarzeniowe zostało wzmocnione naturalnymi składnikami aktywnymi otrzymanymi w wyniku procesów fermentacyjnych.

Relacja toku badań prowadzonych przez Doktorantkę tworzy obszerne opracowanie liczące ogółem dwieście siedemdziesiąt jeden (271) stron wliczając stronę tytułową i strony zawierające zwyczajowe w tego typu opracowaniach podziękowania. Część merytoryczną rozprawy rozpoczyna spis treści poprzedzający wstęp, w którym Autorka nieco „medialnie” prezentuje problematykę poruszanych zagadnień, przedstawionych we właściwy sposób w części literaturowej. Rozdział ten zawiera wiele interesujących informacji przedstawionych w uporządkowany sposób co sprawia, że nawet drobne nieścisłości stają się widoczne. Kilka tego rodzaju kwestii przedstawiam niżej, w niektórych przypadkach prosząc o wyjaśnienie.

Str. 28 W treści podrozdziału 2.2. zatytułowanego „Czynniki i metody warunkujące szybkość przenikania substancji aktywnych przez skórę”, trudno zidentyfikować wspomniane w tytule „metody”. Chciałbym prosić o wyjaśnienie tej kwestii.

Str. 30 Trudno zgodzić się z tezą brzmiącą: „Dobrze, niestety, wiemy, że często wyniki badań zależą od tego, która strona je finansuje.” Wyniki rzetelnie prowadzonych badań w sposób obiektywny odzwierciedlają poprawną metodologicznie weryfikację przyjętej hipotezy i nie zależą od „logo sponsora”. Natomiast działań prowadzonych w taki sposób, by udowodnić prawdziwość „jedynie słusznej koncepcji”, nie wypada nazywać badaniami naukowymi. Mam wielką nadzieję, że Autorka cytowanego stwierdzenia i całej niniejszej dysertacji, realizująca doktorat wdrożeniowy w przedsiębiorstwie „sprzedającym marzenia”, podziela ten pogląd.

Str. 49-50 W opisie preparatu Ecoskin podano informację, że to kompleks pre- i probiotyku, tymczasem na rys. 4.9 obrazującym skład tej kompozycji znajduje się informacja o zawartych w niej pre- i postbiotykach. Która z podanych wersji odpowiada prawdzie, zgodnie z przytoczonymi wcześniej definicjami?

Str. 75 Autorka sformułowała zdanie: „...kwas edetynowy (EDTA). Sekwestruje on kationy dwuwartościowe niezbędne dla stabilności i metabolizmu drobnoustrojów, ale także destabilizuje kapsułki bakteryjne i biofilm, umożliwiając lepszy dostęp środka konserwującego do substancji

*biologicznie czynnej...*” – Czy mogę prosić o wyjaśnienie jakie znaczenie ma wspomniany „dostęp środka konserwującego do substancji biologicznie czynnej” w kontekście bezpieczeństwa mikrobiologicznego kosmetyków. Czy stwierdzenie to nie jest przypadkiem nadmiernym uproszczeniem?

W części literaturowej znalazły się opisy procedur badawczych przygotowane w taki sposób, że trudno na tym etapie studiowania treści dysertacji nie odnieść wrażenia, że są to elementy metodyki stosowanej w tej właśnie pracy. Prowadzi to do mylnego wyobrażenia co do zakresu badań prowadzonych przez Autorkę. Niżej przykłady:

Str. 71-73 – podrozdział 5.8 zawiera wiele informacji o charakterze procedur badawczych, na których zastosowanie wskazują wyniki zawarte na przykład w podrozdziałach 20.3 i 20.4. Zgodnie z przyjętą powszechnie konwencją opis ten powinien zostać umieszczony w części metodologicznej dysertacji. Proszę o wyjaśnienie dlaczego tak się nie stało w przypadku niniejszej dysertacji.

Str. 76 – podrozdział 6.5 ma wyraźny charakter informacji dotyczącej materiałów i odczynników stosowanych w doświadczeniach – zgodnie z tytułem. Proszę o podanie powodu, dla którego tak istotne dane prezentowane zazwyczaj w części metodologicznej dysertacji, w tym przypadku włączono do „części literaturowej” rozprawy.

Bezpośrednio po części literaturowej Autorka zamieściła rozbudowany cel pracy, w którym prezentuje najpierw ogólne założenia toku badań, a następnie wyodrębnia piętnaście (15) zadań badawczych, których sekwencja tworzy logicznie skonstruowany plan pracy. Pewne wątpliwości recenzenta budzi jedynie sformułowanie zadania nr 12, w którym znajduje się zapowiedź porównania skuteczności pozytywnego wpływu na mikrobiom skóry substancji reprezentujących dwie zbyt odmienne grupy; kosmetyki rynkowe zawierające probiotyki i tworzone na potrzeby tej pracy specyfiki zawierające postbiotyki. Biorąc pod uwagę wieloaspektowe różnice w składzie chemicznym, porównanie efektywności tak odmiennych mieszanin wobec tego samego parametru jest dla recenzenta kwestią wymagającą dodatkowych wyjaśnień.

W odniesieniu do wspomnianego planu pracy zaprezentowana została metodologia prowadzonych działań, w której na uwagę zasługuje przemyślane wskazanie sekwencji testów, których wyniki dostarczają co najmniej kilku jakościowych parametrów badanych preparatów. Takie zestawienie działań świadczy o racjonalnym wykorzystaniu dostępnego zaplecza aparaturowego i wyznacza pewien standard badań, często przekraczający wymagania stosownych norm, co należy z aprobatą podkreślić. Kompozycja rozdziału „Metodyka badań” daje również klarowny pogląd na to, omówienia jakich danych czytelnik może spodziewać się w kolejnych częściach dysertacji. Dlatego tylko z obowiązku recenzenta zwracam uwagę na kilka elementów metodyki wymagających korekty bądź wyjaśnienia. A są to następujące kwestie:

Str. 88 – rys. 8.6 – Bez precyzyjnego wyjaśnienia charakteru chemicznego podstawników R1 – R3 można uznać, że jest to schemat (wzór ideowy) struktury tokoferoli, a nie konkretny tokoferol.

Str. 103 – podłoże Tryptone Soya Agar zastosowane w toku badań jest typowym nieselektywnym podłożem bakteryjnym, które nie służy korzystnie rozwojowi kolonii grzybów. Tymczasem poza bakteriami również grzyby mogły być składnikami mikrobiomu skóry „mieszanki

szczepów pobranych od 3 ochotników”. Brak jednoznacznej informacji, czy mikrobiom skóry hodowany był tylko w podłożu TSA, czy także w podłożu SDA (Sabouraud Dextrose Agar Medium) wymienionym w tej pracy. Zatem opisane doświadczenie (Rozdział 12, str. 103) może nie odzwierciedlać rzeczywistego składu mikrobiomu.

Str. 107 – 13.8 Metodyka badania; „...określono ilościowo mikrobiom skóry ...” – czy Autorka dysponuje danymi dotyczącymi próby odniesienia, która wskazywałaby na to, że nie rozwijają się mikroorganizmy patogenne, albo, że nie zostały zaburzone relacje ilościowe w składzie gatunkowym mikrobiomu skóry?

Str. 116 – W jednym z akapitów pojawia się stwierdzenie: „...przy czym wzrost TEWL jest ogólnie przyjęty jako wskaźnik zaburzonej lub zakłóconej bariery skórnej.” Ponieważ w dalszej części dysertacji nie pojawia się merytoryczne rozróżnienie pojęć; „zaburzona bariera skórna” lub „zakłócona bariera skórna”, bardzo proszę o wyjaśnienie ewentualnych różnic znaczenia tych pojęć z punktu widzenia problematyki niniejszej dysertacji.

Prezentacja wyników rozpoczyna się od zapoznania czytelnika z istotnymi danymi, dotyczącymi czystości mikrobiologicznej testowanych surowców wchodzących w skład badanych kompozycji kosmetycznych oraz ich wpływu na mikrobiom skóry. Warto podkreślić ten element badań jako kluczowy dla możliwości prowadzenia jakichkolwiek kolejnych testów. Nawiązując do oceny wpływu na mikrobiom skóry chciałbym zwrócić uwagę, że bez określenia wartości błędu standardowego, stwierdzenie o korzystnym działaniu 2% stężenie surowca Gabacare BL98T (rys. 18.1) na mikrobiom skóry jest dyskusyjne. Można ewentualnie sugerować pewne, zobrazowane trendy, chociaż dynamika wartości podanych dla stężenia 3% w ostatnich 8 godzinach testu, wymyka się prostemu opisowi. Podobne wątpliwości dotyczą opisów działania 2 i 3% stężeń preparatu Ecoskin oraz 1 i 2% stężeń preparatu Lactosporin. Wspomniany brak określenia błędu standardowego często utrudnia jednoznaczne ustalenie efektów działania preparatów testowanych w różnych kombinacjach. Trudno w takiej sytuacji ustalić czy np. wartość redukcji -2% ma istotne znaczenie. Szczęśliwie Doktorantka znajduje wyjście z tej sytuacji proponując lekturę krótkich podsumowań, towarzyszących omówieniu wyników poszczególnych serii testów. Przedstawione w ten sposób informacje są klarowne i uzasadniają obrany przez Nią kierunek kolejnych etapów badań, w tym przypadku ustalenia skuteczności testowanego składu specyfików w ocenie efektywnej ochrony przeciwdrobnoustrojowej. Formułacje te zostały poddane szeregowi badań w celu potwierdzenia ich stabilności i skuteczności układu konserwującego, następnie przeprowadzono testy *in vitro*, których celem było sprawdzenie wpływu formułacji na wzrost mikrobiomu skóry i redukcję wybranych drobnoustrojów patogennych. Analizując liczne wyniki tych testów, recenzent chciałby jedynie mieć pewność, że przyjęte przez Doktorantkę oznaczenie prób „(neutralizator + produkt)” odnosi się do układów zawierających także wprowadzone mikroorganizmy (szczep), na wzór oznaczenia prób odniesienia jako „(neutralizator + szczep)”, gdyż inaczej trudno zaakceptować wyniki całej serii przeprowadzonych doświadczeń.

Na podstawie omówionych rezultatów opracowano formułacje kosmetyczne z różnymi typami konserwantów, w celu ustalenia ich wpływu na mikrobiom skóry. Określono także, jak dodatek substancji promującej wzrost drobnoustrojów wpływa na skuteczność stosowanego konserwantu.

Formulacje wytypowane w tym etapie prac, wraz z odpowiednio dobranym układem konserwującym, zostały poddane testom *in vitro* na ochotnikach w celu zbadania ich wpływu na wzrost mikrobiomu skóry. Rozpatrując przedstawione wyniki tego etapu badań, po raz kolejny wraca kwestia wiarygodności różnic pomiędzy odpowiednimi wartościami. Brak takiej informacji towarzyszącej np. danym prezentowanym na rys. 21.6 istotnie ogranicza ich jednoznaczność.

W dalszej części badań scharakteryzowano wybrane parametry fizykochemiczne opracowanych formułacji kosmetycznych zawierających testowane –biotyki, które wytypowano w pierwszym etapie prac. Oprócz wspomnianych formułacji, w tym oczywiście układów odniesienia, ochotnicy testowali komercyjny olejek z probiotykiem, w celu porównania skuteczności postbiotyku i probiotyku w tych specyfikach. Wyniki doświadczeń przeprowadzonych w tej części badań, w moim przekonaniu stanowią wartościowy zbiór danych z punktu widzenia preparatyki kosmetyków. Ciekawym z praktycznego punktu widzenia było określenie, czy stosowanie postbiotyków w kosmetykach „splukiwalnych”, jak na przykład testowane żele, jest zasadne i korzystne.

Za istotną naukowo uważam część pracy odnoszącą się do wpływu postbiotyków i kwasu  $\gamma$ -aminomasłowego na oznaki starzenia się skóry. Opinia ta nie dotyczy względów estetycznych, a istotnych kwestii fizjologicznych, z którymi kojarzony jest transdermalny transfer wybranych związków chemicznych. Wracając do estetyki skóry należy wspomnieć, że w badaniach *in vivo* opisanych przez Panią mgr Latanowicz, określono wpływ formułacji zawierających testowaną substancję aktywną na nawilżenie skóry, transepidermalną utratę wody, a także na zmniejszenie głębokości zmarszczek. W doświadczeniach tych uwzględniono wyniki wcześniejszych testów; uwalniania substancji aktywnej – kwasu  $\gamma$ -aminomasłowego (GABA) z dwóch rodzajów podłoża. Ciekawym dowodem rangi i rozwoju badań poświęconych efektom stosowania kosmetyków jest zaawansowany technicznie, zobiektywizowany test zmian topografii i makrorzeźby skóry, którego wyniki Autorka załączyła obok wyników testów subiektywnych, prowadzonych na probantach. Wypada jedynie wyrazić żal, że nie udało się stworzyć zunifikowanej, reprezentatywnej grupy probantów, których mikrobiom byłby przedmiotem badań *in-vitro* oraz *in-vivo*, a skóra przedmiotem badań *in-vivo*, zarówno w wersji zobiektywizowanej, jak i subiektywnej. Recenzent zdaje sobie jednak sprawę ze skali i kosztów takiego przedsięwzięcia, którego zakres byłby bliższy badaniom o charakterze klinicznym.

Merytoryczną część dysertacji zamyka relatywnie rozbudowany rozdział podsumowanie i wnioski, którego zakres i ilość szczegółowych informacji odpowiadają wynikom tej obszernej dysertacji. Kończącą część rozprawy stanowią streszczenia, odpowiednio w języku polskim i angielskim, wykaz dorobku Pani mgr Karoliny Latanowicz obejmujący wdrożone formułacje kosmetyczne z krótką ich charakterystyką oraz dorobek publikacyjny, konferencyjny i projektowy. W tej części podkreślić należy imponujący dorobek praktyczny Autorki w formie serii dostępnych rynkowo kosmetyków zawierających testowane środki promikrobiomowe. Kosmetyki te identyfikowane są jako Royal Serum i Biome Serum marki LaQ, które pojawiły się w sprzedaży w marcu 2022 roku m.in. w sieci drogerii Hebe oraz linia żeli myjących z postbiotykami badanymi w niniejszej pracy, która pojawiła się w sprzedaży w maju 2022 roku w sieci Rossmann.

Formalną część pracy zamykają spisy niezwykle licznych w tym opracowaniu tabel i rysunków oraz wykaz cytowanych źródeł (w większości literatury) w imponującej liczbie dwustu trzydziestu dziewięciu (239) pozycji.

Podsumowując ocenę rozprawy doktorskiej Pani mgr Karoliny Latanowicz chciałbym stwierdzić, iż lektura tego obszernego opracowania sprawiła, że inaczej postrzegam kosmetyki jako grupę chemicznych kompozycji użytkowych. Tę zmianę uważam za kolejny walor dysertacji żałując, że ma on zasięg ograniczony do grona czytelników tego opracowania. W tej sytuacji jeszcze wyraźniej dostrzegam istotną lukę informacyjną, która nie dotyczy treści marketingowych – te aplikowane zewsząd w nadmiarze i służące często celom wyłącznie merkantylnym, nie powinny stanowić podstawowego kryterium wyboru kosmetyku. Czas zatem na upublicznienie, rzecz jasna z zachowaniem tajemnicy przedsiębiorstw, zweryfikowanej wiedzy eksperckiej. Przykładem stosownego źródła odpowiednich informacji jest właśnie niniejsza praca, której rezultaty badań zostały już wdrożone praktycznie w formie linii kosmetyków. To w moim przekonaniu stanowi najlepszy przykład właściwej realizacji doktoratu wdrożeniowego.

Pragnę też zaznaczyć, że wyrażone wątpliwości, komentarze i prośby o wyjaśnienie niektórych kwestii, nie rzutują na moją jednoznacznie pozytywną ocenę rozprawy doktorskiej Pani mgr Karoliny Latanowicz, mam jednak nadzieję, że staną się przyczynkiem dysputy naukowej – nieodłącznego elementu finalnego etapu postępowania awansowego.

Uznając walory merytoryczne ocenianej rozprawy, jako spełniające formalne i zwyczajowe wymagania stawiane dysertacjom doktorskim oraz imponujący dorobek wdrożeniowy, którym powinny cechować się „doktoraty wdrożeniowe” stwierdzam, że w moim przekonaniu niniejsza rozprawa spełnia warunki ujęte w art. 13 pkt.1 ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym z 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789), jak również stosowne zapisy ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. (Dz. U. z 2018r. poz. 1668).

Wnoszę zatem do Wysockiej Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Chemiczne, Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, o dopuszczenie Pani mgr Karoliny Latanowicz, do dalszych etapów postępowania w przewodzie doktorskim.

Ponadto, doceniając ściśle relacje pomiędzy jakością uzyskanych wyników badań naukowych i ich imponującym praktycznym wykorzystaniem w formie wdrożeń, wnioskuję o wyróżnienie pracy doktorskiej Pani mgr Karoliny Latanowicz, w sposób zwyczajowo przyjęty przez Wysoką Radę Naukową Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu.

