

Dr hab. n. farm. Sławomir Wilczyński
Katedra i Zakład Podstawowych Nauk Biomedycznych
tel.: +48 32 269 98 33
e-mail: swilczynski@sum.edu.pl

Recenzja Rozprawy Doktorskiej mgr Iwony Jabłońskiej pt. *„Porównanie wpływu wybranych hormonów steroidowych na stan skóry twarzy u kobiet w różnych grupach wiekowych”*.

Recenzję rozprawy doktorskiej sporządzono na prośbę Dziekana Wydziału Farmaceutycznego, a jednocześnie Przewodniczącej Rady Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi prof. dr hab. Anny Kilanowicz-Sapota, wyrażoną w piśmie z dnia 22 października 2021r.

Praca wykonana została w Zakładzie Biochemii Farmaceutycznej i Diagnostyki Molekularnej Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi pod kierunkiem prof. dr hab. n. farm. Wojciecha Piotra Mielickiego.

I. Ocena doboru tematu rozprawy

Przyczyna starzenia się skóry, jak i całego organizmu, tkwi w dużej mierze w zmianach na poziomie endokrynologicznym, determinujących obraz skóry i mających swoje odzwierciedlenie m.in. w występowaniu wykwitów, natłuszczeniu oraz intensywności wymiany komórkowej. Skórę wraz z tkanką podskórną, można zatem sklasyfikować jako tkankę steroidogenną.

Kobiecy mechanizm hormonalnej regulacji cyklu miesięczkowego jest cykliczny i regularny. Z zasady ma wywołać owulację oraz równoważyć działanie estrogenów i progesteronu. Jajniki produkują estradiol, progesteron i androstendion, który w tkance tłuszczowej przekształcany jest w inne steroidy.

Całkowicie zgadzam się z opinią Doktorantki, że „*przyczyna starzenia się skóry, jak i całego organizmu, tkwi w dużej mierze w zmianach na poziomie endokrynologicznym, determinujących obraz skóry i mających swoje odzwierciedlenie m.in. w występowaniu wykwitów, natłuszczeniu oraz intensywności wymiany komórkowej*”.

Doktorantka podjęła się trudnego i ważnego tematu określenia w ujęciu ilościowym zmian jakie zachodzą w skórze kobiet w odpowiedzi na zmiany stężenia hormonów E2 i DHEAS.

Reasumując, uważam, że podjęcie przez mgr Iwonę Jabłońską problematyki wpływu hormonów E2 i DHEAS na parametry skóry za uzasadnione, a sformułowanie tematu rozprawy za właściwe.

II. Struktura rozprawy

Przedstawiona do recenzji praca obejmuje:

- 112 stron maszynopisu formatu A4,
- 31 ponumerowanych rycin,
- 11 ponumerowanych tabel,
- 3 ponumerowane zdjęcia,
- bibliografię liczącą 156 pozycji w tym 3 adresy stron internetowych.

Zasadnicza treść rozprawy zawarta jest w rozdziałach 1 ÷ 5. Wstęp rozprawy stanowi wprowadzenie w zakresie wpływu estrogenów i androgenów na organizm kobiety. Zasadnicza część rozprawy została opatrzona streszczeniem będącym podsumowaniem podjętego wysiłku badawczego Doktorantki oraz wnioskami wynikającymi z przeprowadzonych w pracy rozważań.

Rozprawa została napisana poprawnym językiem i spełnia standardy edytorskie stawiane rozprawom doktorskim. Układ pracy jest przejrzysty, a podział treści rozprawy na rozdziały i podrozdziały nie budzi większych zastrzeżeń. Terminologia i pojęcia stosowane w pracy są zasadniczo poprawnie zdefiniowane. Materiały ilustracyjne oraz tabele zamieszczone w pracy w sposób właściwy przedstawiają rozważania Doktorantki dotyczące badania wpływu hormonów E2 i DHEAS na skórę kobiet. Drobnym zastrzeżeniem jest niekonsekwentna

numeracja stron: na stronach, gdzie tabele umieszczone są w pionie, numery stron pojawiają się na środku prawego marginesu.

III. Cel pracy i teza rozprawy

W rozdziale Cel pracy, Doktorantka prawidłowo sformułowała cel pracy jako odpowiedź na pytanie „czy, i w jaki sposób, wahania wybranych hormonów steroidowych (E2 i DHEAS) w przebiegu cyklu miesięczkowego wpływają na takie cechy skóry twarzy u kobiet jak nawilżenie, gładkość, przebarwienia, szerokość porów czy natłuszczenie”. W tym miejscu zabrakło mi jednak jasno przedstawionych hipotez badawczych. Niemniej lektura całości tez doktorskich pozwala na stwierdzenie, że cele szczegółowe pojawiają się dalszej części pracy.

IV. Treść rozprawy

Autorka rozpoczyna treść rozprawy od przeglądu piśmiennictwa, gdzie w rozdziale zatytułowanym „Wstęp” opisuje wpływ estrogenów i androgenów na organizm kobiety, analizuje schemat powstawania hormonów steroidowych z cholesterolu, odpowiada na pytanie co jest niezbędne do prawidłowego funkcjonowania kobiecego mechanizmu hormonalnego. Co istotne i godne pochwały, Autorka analizuje wpływ estrogenów, androgenów i dehydroepiandrosteronu w kontekście wpływu na parametry skóry. Pewnym ułatwieniem dla czytelnika byłoby natomiast wprowadzenie jasnego podziału wstępu na numerowane podrozdziały, dzięki czemu treść byłaby lepiej uporządkowana.

Pomimo, że rozdział „Wstęp” dobrze wprowadza w tematykę pracy to zawiera kilka drobnych uchybień. Na stronie 5 Doktorantka pisze „(...) *niestabilną homeostazę barierową*”. Określenie takie jest dość niefortunne, stanowi oksymoron, który nie ma natomiast wpływu na warstwę merytoryczną przekazu. Z kolei na stronie 8 pojawia się określenie „Kobiety wychudzone są bardziej narażone na ich niedobór (...)”. Określenie „*wychudzone*” jest potoczne. Na stronie 9 pojawia się również błąd edytorski „(...) *w obrębieośrodkowego układu nerwowego*”.

Pierwszy akapit strony 15 obejmuje stwierdzenie: *„Ze względu na steroidowy szkielet, te pochodzące od cholesterolu hormony płciowe, nazywane są steroidowymi”*. Konstatacja ta jest prawidłowa od strony formalnej ale brzmi jak pleonazm i można ją sformułować bardziej trafnie.

Mam drobne zastrzeżenia do ryciny 6 *„Cykl owulacyjny”*. Rycina ta pochodzi z Wikipedii a obraz jest udostępniany na licencji Creative Commons co umożliwia Doktorantce jego swobodne wykorzystanie natomiast jakość ryciny jest niska. Niemniej jednak w pełni odpowiada ona zakresowi merytorycznemu i jest skutecznym zobrazowaniem omawianego zagadnienia.

Moje drobne uwagi w zakresie Wstępu dotyczą również warstwy terminologii: proponuję używać „wzrost stężenia FSH i LH” zamiast „wzrost FSH i LH”.

Pewnym uproszczeniem jest również stwierdzenie pojawiające się na stronie 20 tez doktorskich: *„Gdyby nie estrogeny, które mają zdolność wychwytywania wolnych rodników i ich unieczynniania [83] proces starzenia przebiegałby znacznie szybciej”*. Estrogeny same w sobie nie mają zdolności antyoksydacyjnych, natomiast wzrost stężenia estrogenów w surowicy krwi powoduje wzrost ekspresji pozakomórkowej dysmutaz nadadtlenkowych (ecSOD oraz MnSOD), które katalizują dysmutację anionorodnika nadadtlenkowego.

Podsumowując, w rozdziale Wstęp Doktorantka przedstawiła obszerną i wnikliwą analizę literatury w zakresie wpływu hormonów, zwłaszcza estrogenów i androgenów na skórę, co dodatkowo poparła ciekawymi danymi statystycznymi. Przedstawione powyżej drobnie niedociągnięcia nie odbierają pozytywnego odbioru teoretycznej części rozprawy doktorskiej Pani Jabłońskiej.

Rozdział Materiały i metody obejmuje charakterystykę grupy badanej oraz opis zastosowanych metod analizy skóry, w tym poziomu nawilżenia, gładkości skóry, analizy zmian barwnikowych, poziomu natłuszczenia, analizy porów skórnych. Dobór metod badawczych jest właściwy w stosunku do celu pracy. Drobne zastrzeżenie może stanowić brak jednoznacznie wskazanych kryteriów włączenia i wyłączenia ochotników do badań. Niemniej jednak Doktorantka na prowadzone badania pozyskała zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi i w treści rozprawy powołuje się na odpowiedni numer

uchwały, co pozwala zweryfikować kryteria włączenia i wyłączenia, które zostały zidentyfikowane na potrzeby zgody Komisji Bioetycznej.

Badanie zostało przeprowadzone na grupie 57 kobiet (wolontariuszek). Pani mgr Iwona Jabłońska wyczerpująco scharakteryzowała grupę badaną. Grupa została podzielona na 4 podgrupy o nierównej liczebności. W opisie metodologii Doktorantka nie wskazała czy w prowadzonej analizie statystycznej dokonano weryfikacji normalności rozkładu w badanych grupach, co jest istotnym elementem w przypadku analizy współczynnika korelacji Pearsona. Być może zastosowanie innego testu, np. korelacji rang Spearmana jako nieparametrycznej miary monotonicznej zależności statystycznej między zmiennymi losowymi byłoby lepszym wyborem w tym wypadku. Niemniej jednak należy podkreślić, że badania Pani mgr Jabłońskiej mają charakter pilotażowy co usprawiedliwia stosunkowo małą liczebność badanych grup.

Opis zastosowanych metod jest zwięzły. Co warte podkreślenia, Doktorantka posługując się unikatowymi metodami ilościowych pomiarów parametrów skóry skorelowała wyniki z danymi odpowiadającymi standardowym wskaźnikom typowym dla danej grupy wiekowej. Dane te pochodziły z bazy danych producenta urządzenia do analizy poszczególnych parametrów skóry. Dzięki temu, analiza wyników nawet w stosunkowo nielicznych grupach badawczych, pozwalała na określenie trendów występowania zaburzeń danych cech skóry. Drobnym zastrzeżeniem jest brak podania metodologii próbkowania skóry: w którym miejscu próbkowano skórę, w jaki sposób kontrolowano powtarzalność miejsc próbkowania.

W przypadku pomiaru gładkości, Doktorantka używa stwierdzenia „*gładkość wyrażana procentowo oznaczała ilość nierówności na skórze*”. Ten zapis nie jest jednoznaczny i wymaga doprecyzowania.

Z recenzenckiego obowiązku pragnę również zauważyć, że zastosowana terminologia w odniesieniu do określenia „*pory skórne*” - mimo, że prawidłowa, jest potoczna. W przyszłych pracach Pani mgr Jabłońskiej proponuję skorygować „*pory skóry*” do „*ujść gruczołów łojowych i potowych*”.

Kolejne rozdziały pracy stanowi część doświadczalna. Została ona podzielona na 10 części gdzie przeanalizowano związek między stężeniem E2 i DHEAS. Tak zrealizowany podział

ułatwia lekturę rozprawy doktorskiej i porządkuje treść znacząco podnosząc walory przedłożonych do recenzji tez.

Wyniki badań przedstawiono w postaci tabel i wykresów. W tabelach wartości stężeń poszczególnych hormonów podano używając jako separatora dziesiętnej kropki zamiast przecinka. Niemniej jednak te drobne niedociągnięcia nie wpływają na warstwę merytoryczną przedstawionych wyników.

Ciekawym przykładem opisanych zależności jest korelacja między stężeniem E2 a nawilżeniem skóry twarzy w 25. dniu cyklu dla poszczególnych grup wiekowych. W tym miejscu Doktorantka stwierdza: *„W 25. dniu cyklu najwyższe stężenie estradiolu w grupie najmłodszej towarzyszyło najniższym parametrom nawilżenia skóry, znacznie poniżej CSMI. Wzrost nawilżenia skóry, w porównaniu z odpowiednim CSMI, obserwowano jednocześnie ze wzrostem wieku i spadkiem stężenia estradiolu. Nieoczekiwanie zaobserwowano silną ujemną korelację między stężeniem estradiolu w surowicy a nawilżeniem skóry u najstarszych kobiet oraz słabe dodatnie korelacje w grupach 16-19 oraz 20-29 lat. Wydaje się, że zbyt wysokie stężenie estradiolu pod koniec cyklu ma negatywny wpływ na poziom nawilżenia skóry. Możliwe, że również w fazie lutealnej, u młodszych kobiet czynniki inne niż estradiol mają decydujący wpływ na nawilżenie skóry, podczas gdy u kobiet starszych nawilżenie zależy głównie od stężenia estradiolu, przy czym w zależności od dnia cyklu, korelacja ta może być dodatnia lub ujemna.”*

Również pozostałe wyniki korelacji pomiędzy poszczególnymi parametrami skóry a stężeniem badanych hormonów przynoszą wiele ciekawych i nie opisanych do tej pory w literaturze przedmiotu wniosków. Natomiast drobne wątpliwości pozostawia akapit dotyczący korelacji pomiędzy gładkością skóry a stężeniem E2. W tym miejscu Doktorantka stwierdza: *„Uzyskane wyniki potwierdziły przypuszczenia, że u kobiet z najmłodszej grupy wiekowej, ze względu na okres dojrzewania, gładkość skóry będzie miała najgorsze parametry (najwięcej nierówności na skórze). Możliwe, że mają na to wpływ zbyt niskie stężenia estradiolu (poniżej 30 pg/ml) oraz początek cyklu, charakteryzujący się zwiększoną ilością wykwitów trądzikowych.”* Wobec takich konstatacji pojawia się pytanie: czy analiza gładkości skóry obejmuje tylko zmiany morfologii powierzchni skóry takie jak np. zmarszczki czy również inne wykwity skórne (zmiany trądzikowe, grudki, guzki, pęcherzyki itd.).

Opisując korelację pomiędzy występowaniem zmian barwnikowych a stężeniem E2 Pani mgr Iwona Jabłońska stwierdza, że *„(...) decydujący wpływ na uzyskane wyniki, ma lepsze ukrwienie oraz delikatniejszy naskórek skóry młodej (...)”*. Ciekawym uzupełnieniem, wykraczającym poza przedawnione do recenzji tezy doktorskie, byłoby zastosowanie ultrasonografii wysokich częstotliwości, która pozwoliłaby bardziej jednoznacznie potwierdzić lub obalić taką hipotezę. Ponadto Doktorantka wskazuje, że *„Prawdopodobnie fizjologiczne stężenie E2 jest w tej grupie (najstarszej – przypis recenzenta) najlepiej wykorzystywane, dzięki czemu zaczerwienienia i przebarwienia są najmniej intensywne, zwłaszcza pod koniec cyklu. Może to świadczyć o sprawnej gospodarce naczyniowej, polegającej na prawidłowym obkurczeniu naczyń, a tym samym mniejszym rumieniu i \ukrwieniu przebarwień”*. Taka interpretacja jest prawidłowa niemniej jednak należałoby ją odnieść również do zastosowanych metod badawczych, gdzie Doktorantka stosuje spektrofotometryczną metodę ilościowej identyfikacji chromoforów skóry (melaniny i hemoglobiny). Dla obu tych chromoforów, ich maksima absorpcji są stosunkowo odległe od siebie dzięki czemu możliwy jest ich pomiar ilościowy, ale jednocześnie czynniki naczyniowe (czy to wazokonstrykcja czy wazodylatacja) nie będą wpływały na pomiar zawartości melaniny. Zawartość melaniny w skórze jest niezależna od cyklu miesięcznego kobiety.

Wnioski końcowe rozprawy znajdują uzasadnienie w treści zasadniczej rozprawy. Wyciągnięte są po wnikliwej, statystycznej i przyczynowo-skutkowej interpretacji danych uzyskanych z badań. Pozytywnie świadczy to o kompetencjach i umiejętnościach naukowych Doktorantki.

Wracając jeszcze do struktury pracy chciałbym wspomnieć, a jednocześnie wyrazić uznanie w stosunku do dyskusji, którą prowadzi Doktorantka. Dyskusja wyników często stanowi osobny rozdział i nierzadko czyta się ją bardziej jak streszczenie. Pani mgr Iwona Jabłońska, skutecznie odeszła od takiego schematu, niejako „na bieżąco” omawiając wyniki badań i porównując je z dostępnym *state of art* w literaturze przedmiotu. Biorąc pod uwagę liczebność przeprowadzonych korelacji pomiędzy poszczególnymi hormonami a parametrami skóry, takie podejście pozwoliło lepiej zrozumieć poszczególne zależności i usystematyzować prowadzone analizy.

V. Podsumowanie i wnioski końcowe

Podsumowując recenzję pragnę podkreślić, że przedstawione wyniki badań mają charakter pilotażowy oraz stanowią ciekawy punkt wyjścia do dalszych prac w tym kierunku. Co warte podkreślenia, uzyskane wyniki mogą mieć potencjał aplikacyjny zarówno dla kosmetologów jak i dermatologów.

Biorąc pod uwagę fakt, że przedstawiona rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie stawianego problemu naukowego i udowadnia umiejętność samodzielnego prowadzenia przez Doktorantkę pracy naukowej stwierdzam, że praca pani mgr Iwony Jabłońskiej pt. *„Porównanie wpływu wybranych hormonów steroidowych na stan skóry twarzy u kobiet w różnych grupach wiekowych”* spełnia warunki określone w art. 13 ust 1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789). Zwracam się więc do Rady Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi z wnioskiem o dopuszczenie pani mgr Iwony Jabłońskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Dr hab. n. farm. Sławomir Wilczyński, prof. SUM