

# Politechnika Wrocławska

## Wydział Chemiczny, Zakład Inżynierii i Technologii Polimerów

50-370 Wrocław, Wybrzeże Wyspiańskiego 27

---

Prof. zw. dr hab. inż. Jacek Pigłowski

Wrocław, 21.12.2018

Tel. (071) 320 35 10

e-mail: [jacek.piglowski@pwr.wroc.pl](mailto:jacek.piglowski@pwr.wroc.pl)

### RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Magdaleny Cieślak

pt.

### **Badanie uwalniania wybranych leków antybakteryjnych z komercyjnie dostępnych jednodniowych soczewek kontaktowych**

wykonanej pod kierunkiem promotora dr hab. inż. Jerzego Detyny z Katedry Mechaniki i Inżynierii Materiałowej Politechniki Wrocławskiej i promotor pomocniczej dr inż. Szczęsnej – Iskander z Katedry Optyki i Fotoniki Politechniki Wrocławskiej

Idea soczewek kontaktowych sięga epoki Renesansu i związana jest z odkryciami Leonarda da Vinci, który udowodnił, że możliwe jest korygowanie wad wzroku bezpośrednio na powierzchni oka. W kolejnych latach i wiekach jego pomysły były kontynuowane. Realny przełom na drodze do współczesnych soczewek kontaktowych następował wraz z rozwojem syntetycznych materiałów polimerowych. Szczególną rolę odegrali tu chemicy z Pragi, którzy na początku lat sześćdziesiątych ubiegłego wieku wynaleźli specyficzny rodzaj materiału polimerowego nazwanego hydrożelem. W porównaniu do innych syntetycznych biomateriałów, hydrożele dzięki relatywnie dużej zawartości wody, miękkości i plastyczności posiadają właściwości fizyczne zbliżone do żywej tkanki.

W swoich badaniach Doktorantka dołącza do szerokiego grona badaczy, którzy szukają nowych lub modyfikują już istniejące metody dostarczania leków okulistycznych z wykorzystaniem soczewek kontaktowych. Zastosowanie soczewek kontaktowych jako nośników leków pozwala na wydłużenie czasu kontaktu leku z okiem, eliminuje też niedogodności związane ze stosowaniem kropli lub maści do oczu. W ten nurt badań wpisuje się też tematyka i zakres rozprawy doktorskiej pani mgr inż. Magdaleny Cieślak.

Układ treści rozprawy jest tradycyjny i składa się z 6 numerowanych rozdziałów: 1. Wstęp, 2. Przegląd literatury, 3. Cel, zakres i tezy pracy, 4. Materiały i metody badawcze, 5. Wyniki i dyskusja, 6. Podsumowanie i wnioski końcowe. Praca zawiera również nienumerowane rozdziały: streszczenie, spis treści, wykaz oznaczeń, spis literatury, spis

rysunków, spis tabel i wykaz dorobku naukowego. Taki klasyczny podział prezentowanego materiału ułatwia śledzenie wywodów Autorki i pozwala na skoncentrowanie się na zasadniczej kwestii jaką jest opis uwalniania dwóch leków z siedmiu soczewek jednodniowych dostępnych na rynku. Nowością w pracy jest porównanie wyników z pomiarów stężenia leków w sztucznej cieczy łzowej po dyfuzji w warunkach statycznych z wynikami uzyskanymi w warunkach zbliżonych do warunków panujących na powierzchni oka. W tym celu Doktorantka wykorzystwała trójwymiarowy model oka, odzwierciedlający kształt gałki ocznej i symulujący fizjologiczny przepływ łez. Praca zawiera w sumie 134 strony i odwołuje się do 200 pozycji literaturowych, w tym bardzo wielu opublikowanych w ostatnich 10 latach, co świadczy o dużej aktualności zagadnień, którymi interesuje się Autorka rozprawy.

W części pierwszej „Przeglądu literatury” poświęconej anatomii przedniego odcinka gałki ocznej Doktorantka przedstawia schemat budowy oka ze szczególnym uwzględnieniem zewnętrznej części gałki ocznej czyli rogówki. Omawia też rolę spojówki zapewniającej osłonę oka, prawidłowe nawilżenie, łatwość rozprowadzania łez i ochronę przed infekcjami. Jak skrupulatnie Doktorantka zdobywała wiedzę o obiekcie swoich badań świadczy bardzo precyzyjne przedstawienie struktury filmu łzowego wraz z opisem jego składników w tym glikoprotein i białek takich jak mucyny, lizozym czy laktoferyna. Autorka cytując jedną z prac wspomina, że dotąd odkryto ponad 1000 białek występujących we łzach. Kolejne podrozdziały „Przeglądu literatury” dotyczą przyczyn i objawów bakteryjnego zapalenia rogówki, przedstawione są w nich problemy diagnostyki i leczenia zapaleń, omówione są także syntetyczne chemioterapeutyki, w tym stosowane w pracy cyprofloksacyna oraz moksyfloksacyna. Powód dlaczego właśnie te antybiotyki wybrane zostały do badań nie został podany. Przypuszczam, że być może chodziło o ich różną rozpuszczalność w wodzie (dla pH=7, 3.46 mg/ml i 24 mg/ml odpowiednio dla cyprofloksacyny i moksyfloksacyny), co może mieć znaczenie zarówno dla inkubacji leku w soczewkach jak i jego uwalniania. Reasumując zebrane doniesienia naukowe i biorąc pod uwagę anatomię oka, Doktorantka dochodzi do wniosku, że projektowanie leków okulistycznych jest zagadnieniem bardzo skomplikowanym. Idealna metoda aplikacji powinna zapewnić możliwie małe straty leku i co najważniejsze wybrany system nie może zaburzać procesu widzenia. Idealny system uwalniania leków powinien działać przez dłuższy okres czasu i zapewnić stały poziom leku w worku spojówkowym.

W dalszych rozdziałach pracy omówiono podział systemów dostarczania leków, rodzaje kropli do oczu, maści oraz tzw. inserty czyli wkładki do oczu umożliwiające wydłużoną terapię lekową. Nie ulega jednak wątpliwości, że z punktu widzenia tematyki rozprawy najważniejszy jest rozdział 2.7 zatytułowany „Soczewki kontaktowe – przegląd materiałów”. Co prawda Doktorantka nie zajmuje się wprost soczewkami, w sensie ich otrzymywania, doboru polimerów lub ich modyfikacją chemiczną lub fizyczną, ale znajomość tych zagadnień jest niezbędna dla zrozumienia kinetyki uwalniania leków. Wspomniany Rozdział wraz z celem i tezami pracy liczy 20 stron. Przedstawiono w nim podział soczewek

ze względu na zastosowanie, tryb noszenia i rodzaj użytego materiału. Tą ostatnią grupę tworzą soczewki twarde i miękkie. Jak już wspomniałem od czasu odkrycia hydrożelu na bazie polimerów akrylowych dominującym materiałem w produkcji soczewek jest polimer wytwarzany z metakrylanu 2-hydroksyetylowego. Mam szereg krytycznych uwag do terminologii stosowanej w tym Rozdziale. Nie istnieje taki polimer jak „poli-hydroksyetyl-metakrylan metylu”. Szereg homologiczny metakrylanów tworzą monomery, w których z atomem węgla przy wiązaniu podwójnym związana jest grupa metylowa ( $-CH_3$ ) i grupa estrowa ( $-CO-COR$ ). Jeśli podstawnik  $-R$  tworzy grupa metylowa  $-CH_3$  mamy do czynienia z monomerem metakrylanu metylu jeśli grupa hydroksyetylowa  $-CH_2-CH_2-OH$  wtedy taki monomer nazywa się metakrylan hydroksyetylu. Polimery powstałe w wyniku polimeryzacji rodnikowej tych monomerów to odpowiednio poli(metakrylan metylu) lub poli (metakrylan hydroksyetylu) co potwierdza prawidłowy rysunek 13 na stronie 38. Nazwa poli-hydroksyetyl-metakrylan metylu jest więc błędna. Na tejże stronie jest też zdanie „dodatek polimerów o ładunku ujemnym takich jak MA sprawia, że na powierzchni materiału generują się negatywne ładunki” (sic!). Mówimy raczej od ładunkach ujemnych. W wykazie skrótów bark jest wyjaśnienia co oznacza skrót MA. Można się domyślać, że chodzi tu o poli(kwas akrylowy) lub metakrylowy, które w odpowiednich warunkach równowagi kwasowo-zasadowej mogą dysocjować tworząc ujemnie naładowane grupy karboksylowe zdolne do wytworzenia oddziaływań jonowych z dodatnio naładowanymi białkami.

Wprowadzenie do cząsteczki polimeru merów hydrofilowych zwiększa ich polarność co może powodować wzrost chłonności wody i w konsekwencji wywoływać też efekt plastyfikacji. O ile łatwo zrozumieć obniżenie wartości modułu Younga tak zmodyfikowanego materiału, to trudniej wyjaśnić dlaczego miałyby w takim przypadku maleć też elastyczność. Czy tu nie ma sprzeczności (str.39)? Na tejże stronie Doktorantka stwierdza, że do materiału wprowadza się monomery wymieniając wśród nich poli(alkohol winylowy) co jest nieprawdą bo poli(alkohol winylowy) nie jest monomerem lecz polimerem a więc związkiem wielkocząsteczkowym. Nieco dalej pisze o wprowadzaniu także polimerów, tym razem zaliczając do nich metakrylan metylu lub dimetakrylan tetraetylenoglikolu, które w przeciwieństwie do poprzedniego przykładu nie są polimerami lecz monomerami. Tylko raz w pracy znalazłem termin kopolimeryzacja, co jest właściwym określeniem na wprowadzanie do makrocząsteczki wybranego monomeru modyfikującego. Zauważyłem też brak konsekwencji w stosowaniu terminu tlenoprzepuszczalność określaną raz jako  $D_k$  np. na str. 39, gdzie indziej zaś jako jej pochodną po czasie  $D_k/t$  (str.40).

Mam świadomość, że Doktorantka nie jest chemikiem i nie musi znać się na materiałach polimerowych. Z kolei obowiązkiem Recenzenta, specjalisty w dziedzinie, jest zwrócenie uwagi na niedokładności a niekiedy również rażące błędy merytoryczne w pracy. Na pocieszenie mogę powiedzieć Doktorantce, że nie ona jedna naraża się na takie ryzyko związane z interdyscyplinarnym charakterem pracy.

Celem głównym rozprawy jest pomiar kinetyki uwalniania leków przeciwbakteryjnych z jednodniowych soczewek kontaktowych, w tym opracowanie warunków eksperymentalnych do oszacowania ilości leku uwalnianego z soczewek, zbliżonych do

warunków rzeczywistych, w przestrzeni gałki oczna – powieka. Innym ważnym celem jest określenie różnic w kinetyce uwalniania leku dla podstawowych dwóch rodzajów soczewek: klasycznych hydrożelowych na bazie polimerów akrylowych i polimerów modyfikowanych strukturami zawierającymi krzem nazywanymi silikonowo-hydrożelowymi SiHy.

Doktorantka stawia też dwie tezy, że: 1) kinetyka uwalniania leków z soczewek zależy od metody pomiarowej materiału, z którego wykonana jest soczewka oraz leku i 2) dodatek triblokowego kopolimeru na bazie glikolu etylenowego i glikolu propylenowego do roztworu moksyflokscyny powoduje zwiększenie uwalniania leku z soczewek silikonowo-hydrożelowych.

W części doświadczalnej Doktorantka przedstawia charakterystyką 7 badanych jednodniowych, komercyjnie dostępnych soczewek kontaktowych. Wszystkie o mocy -3,00 dioptrie i średnicy 8,6 mm. W badaniach wykorzystano dwa antybiotyki wykorzystywane do leczenia infekcji przedniego odcinka gałki ocznej, o szerokim spektrum działania przeciwko bakteriom gram ujemnym jak i gram dodatnim. Wybór spektrofotometrii jako narzędzia analitycznego do oceny zawartości antybiotyków w buforze fosforanowym lub sztucznej cieczy łzowej nie budzi zastrzeżeń (prostota pomiaru, małe ilości próbek, dokładność oznaczeń na podstawie krzywych kalibracyjnych). W rozdziale dotyczącym instrumentalnych badań spektrofotometrycznych z zakresu ultrafioletu i zakresu widzialnego promieniowania optycznego wykorzystywane jest pojęcie światła, co nie jest prawidłowe, ponieważ w ten sposób pojęcie światła, a więc promieniowania widzialnego dla człowieka, rozciągane jest na ultrafiolet, a więc zakres promieniowania, które przez człowieka nie jest postrzegane. W tej części pracy naprzemiennie wykorzystywane jest pojęcie „absorbcji” pisanej przez literę „b” i absorpcji pisanej przez literę „p”. Oczywiście użycie pojęcia absorpcji pisanej przez literę „b” jest błędem językowym i jego stosowanie w elaboratach naukowych nie jest poprawne. Pojęcie absorpcji pochodzi od łacińskiego słowa „absorptio” i tak powinno być pisane. Błędy w tej części to nie tylko sprawa poprawnej terminologii. Przykładem może być rys. 16 na którym przedstawiono widmo absorpcyjne. W jakich jednostkach określona jest absorpcja (na wykresie jest opis absorbcja!). Czy w skali numerycznej wartości absorpcji zmiennej od zera do jedności, czy w skali absorbancji, która jest wyrażana w skali logarytmicznej, zmiennej od zera do plus nieskończoności? Warto też zauważyć, że mianem absorpcji nazywamy zjawisko fizyczne pochłaniania promieniowania EM, a miarą tego zjawiska jest absorbancja.

Bardzo interesujące jest wykorzystanie w badaniach platformy OcuFlow odzwierciedlającej anatomiczny kształt oka i umożliwiającej symulację warunków panujących na powierzchni oka. Tak na marginesie skąd nazwa platforma dla aparatu lub urządzenia? Szkoda, że Doktorantka nie przytoczyła informacji czy jest to unikatowy aparat dostępny tylko w Centrum Badań Soczewek Kontaktowych w Kanadzie, gdzie przebywała an stażu naukowym, czy też takie urządzenia używane są również w innych laboratoriach. W tym miejscu chciałbym podkreślić wyjątkową pracowitość Doktorantki która zgromadziła ogromną ilość danych, co łatwo zauważyć gdy się uwzględni, że badała 7 rodzajów soczewek zawierających 2 różne leki, przygotowała z nich roztwory o różnych stężeniach do inkubacji

soczewek, badała stężenie uwalnianych z tych soczewek antybiotyków w 12 przedziałach czasowych od 5 sekund do 24 godzin, prowadziła symulacje na platformie OcuFlow dla dwóch rodzajów płynów imitujących ciecz łzową i dwóch trybów pracy platformy „bez mrugania” oraz w warunkach tarcia mechanicznego.

Interpretacja uzyskanych wyników jest w zasadzie poprawna i logiczna, są jednak niechlubne wyjątki. Dla przykładu analizując różnice w szybkości uwalniania leków w badanych soczewkach, Doktorantka zastanawia się dlaczego nelfilcon A wykazuje podobne zachowanie do materiałów SiHy i dochodzi do wniosku, że jest to wynikiem wykorzystania poli(alkoholu winylowego). Dalej próbuje wyjaśniać zachowanie hydrożelu na bazie PVA w oparciu o błędne przesłanki. Otóż poli(alkohol winylowy) nie powstaje w wyniku polimeryzacji bo nie istnieje taki monomer jak alkohol winylowy. W wyniku izomeryzacji alkohol ten przekształca się w inny tautomer jakim jest aldehyd octowy, który nie polimeryzuje. PVA uzyskuje się w wyniku hydrolizy poli(octanu winylu). Tak otrzymany PVA można sieciować aldehydem glutarowym, solami boru, chromu etc. To właśnie taka forma usieciowanego poli(alkoholu winylowego) stanowi bazowy hydrożel (nie ma więc stanu niespolimeryzowanego PVA, co oznacza pojęcie „trójwymiarowa matryca soczewki”?).

W analizie wyników Autorka jest bardzo dociekliwa. Przyczyn różnic w prędkościach uwalniania leków do buforu fosforanowego i sztucznej cieczy łzowej (ATS) upatruje w obecności substancji wielkocząsteczkowych takich jak białka czy lipidy w ATS. Trudno się z tym nie zgodzić jeśli uwzględnić zwiększony promień hydrodynamiczny makrocząsteczek w roztworach. Doktorantka nie kończy dociekań i sugeruje też wpływ naprężeń ścinających występujących w warunkach mrugania powieki (przypadek płynów nienewtonowskich rozrzedzonych ścinaniem).

Ten pozytywny obraz rozprawy zaburza też niestaranna korekta pracy. Poniżej przytaczam kilkanaście przykładów:

- str. 13, elektrolity zwarte w warstwie wodnej to sól, potas, magnez oraz wapń, domyślam się, że chodzi tu o sole potasu lub magnezu lub wodorotlenki tych pierwiastków.
- str. 15, działanie polega na rozkładaniu paptydoglikanu zamiast peptydoglikanu.
- str.15, stężenie laktoferyna we łzach, zamiast stężenie laktoferyny.
- str.15, chyba znacznie częściej używa się określenia albumina surowicy wołowej (bovine serum albumin) aniżeli surowicza albumina wołowa.
- str. 16, bariery blokujące przechodzenie związków chemicznych (drobnocząsteczkowych), w chemii stosuje się raczej podział na związki małowcząsteczkowe (low molecular weight) np. monomery i związki wielkocząsteczkowe (high molecular weight) np. polimery syntetyczne ale także polipeptydy (białka), polisacharydy etc.
- str. 37, stosowane monomery to m.in. akrylan silikonowy, akrylan fluorosilikonowy, octano- maślan celulozy oraz polimery fluorowe, przyznam, że nie spotkałem się z takimi monomerami i trudno mi sobie wyobrazić ich strukturę chemiczną, ponadto podobnie jak celuloza, która nie jest monomerem również jej pochodne powstałe w wyniku estryfikacji nie są monomerami.

str. 38, polimer powstały w polimeryzacji 2-hydroksyetylometakrylanu w skrócie HEMA to poli(metakrylan hydroksyetylu) czyli PHEMA a nie pHEMA. Wystarczy tu przywołać inne popularne skróty jak PMMA wywodzący się nazwy monomeru metakrylowego jakim jest metakrylan metylu (nie pMMA), lub PVC powstały z chlorku winylu (vinyl chloride), więc też nie pVC.

str. 38, soczewki HEMA to raczej żargon, jeśli już to soczewki wykonane są z PHMA i na pewno w soczewkach nie ma monomeru HEMA.

str. 39, cytowana na stronie jednostka przepuszczalności, stosowana w technologii membran i przemyśle soczewek kontaktowych to Barrer. Nazwa pochodzi od nazwiska Richarda Barrera i powinna być pisana z dużej litery podobnie jak 1 Pa, jednostka wyprowadzona z układu SI dla ciśnienia i naprężenia mechanicznego.

str. 39, „ $D_k$  jest związane”, powinno być parametr  $D_k$  lub tlenoprzepuszczalność jest związana.

str. 39, jest „wg normy niska zawartość wody” powinno być wg normy i nie niska lecz mała zawartość wody.

str. 41, osadzanie się lipidów na powierzchni gałki ocznej doprowadza do „zaburzeń wizji” czy zaburzeń widzenia u pacjenta?

str. 42, „Pure Vision są poddawane utlenianiu plazmowemu natomiast Focus Night Day są pokrywane cienką warstwą plazmy”. Nawet w Internecie, znaleźć można tylko takie określenia jak: soczewki Pure Vision, soczewki kontaktowe Pure Vision, tanie soczewki Pure Vision. Taki język nie przystoi pracy naukowej jaką jest praca doktorska. Ponadto jak można materiał pokrywać warstwą plazmy. Plazma to zjonizowana forma materii stanie skupienia przypominającym gaz i nie można nią nic pokrywać. Owszem w wyniku działania plazmy niskotemperaturowej różnych gazów, zależnie od charakteru podłoża można wygenerować grupy funkcyjne np. hydroksylowe, karbonylowe lub karboksylowe etc. Stosując monomery winylowe można też osadzić na powierzchni tzw. polimery plazmowe, z reguły charakteryzujące się inną strukturą chemiczną niż ma to miejsce w przypadku polimeryzacji rodnikowej.

str. 46, podczas polimeryzacji macierzy PHEMA, zamiast polimeryzacji polimeru, który stanowi później matrycę lub osnowę kompozytu.

str. 49, wśród najczęściej stosowanych monomerów wymieniony jest poli(metakrylan 2-hydroksyetylowy), to zdanie jest nielogiczne, polimer nie jest monomerem

str. 50, „soczewki wilorazowego użytku”.

str. 57, do pomiaru stężenia leków wykorzystano spektrofotometrię oraz spektrofotometrię fluorescencyjną, jaką spektrofotometrię? Jak wynika z treści rozprawy była to spektroskopia UV-Vis

str. 58, jest „zweryfikowano poprzez pomiar spektrum generowanego przez dany lek”, powinno być: pomiar spektrum absorpcji

str. 65, kolejnym ważnym zastosowaniem jest optymalizacja formulacji leków.

str. 70, Doktorantka powinna się zdecydować czy używa nazwy moksyflokscyna czy moksiflokscyna

Niestety przykładów stosowania uproszczonych nazw, nieprecyzyjnych określeń lub zwykłych tzw. literówek jest w pracy znacznie, znacznie więcej.

Mgr inż. Magdalena Cieślak postawiła sobie za cel naukowy i badawczy określenie kinetyki uwalniania wybranych leków (antybiotyków) z jednodniowych soczewek kontaktowych. Cel ten zrealizowała, uzyskując dziesiątki danych na temat oddziaływań substancji czynnych zawartych w lekach z polimerowymi hydrożelami. Wykazała, że uwalnianie leków z soczewek kontaktowych jest funkcją właściwości materiału z jakiego wykonane są soczewki, właściwości fizykochemicznych leku oraz wykorzystywanego w badaniach sposobu pomiaru.

#### Uwagi końcowe

Uzyskane wyniki wskazują, że Doktorantka jest sprawnym eksperymentatorem, potrafiącym prawidłowo dobrać zestaw technik badawczych, co pozwala jej logicznie opisać kinetykę uwalniania leków z soczewek kontaktowych. Autorka rozprawy wykazała się szeroką wiedzą specjalistyczną w obszarze medycyny, farmacji, analityki, inżynierii materiałowej i choć w niektórych tych dyscyplinach dają się zauważyć pewne braki to całość zgromadzonej wiedzy jest spójna i wnosi istotny wkład w poznanie transportu leków w soczewkach kontaktowych różnego typu. Doktorantka potwierdziła też umiejętność samodzielnego sformułowania celu i prowadzenia badań naukowych, opracowania i prezentacji wyników badań doświadczalnych oraz wyciągania właściwych wniosków z przeprowadzonych badań.

Dodać też trzeba, że Doktorantka ma już spory dorobek naukowy w postaci 7 publikacji w czasopiśmie o obiegu międzynarodowym, 4 publikacji, które ukazały się w materiałach pokonferencyjnych. Uczestniczyła w wielu konferencjach i sympozjach, krajowych i zagranicznych.

Biorąc pod uwagę powyższą ocenę stwierdzam, że rozprawa doktorska pani mgr inż. Magdaleny Cieślak spełnia wymogi stawiane pracom doktorskim przez „Ustawę o stopniach naukowych i tytule naukowym” i wnoszę o dopuszczenie Jej do dalszych etapów przewodu doktorskiego, w tym publicznej obrony rozprawy doktorskiej.

*Janusz Piętocki*