

Prof. dr hab. inż. Agata Markowska-Szczupak
Katedra Inżynierii Chemicznej i Procesowej
Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej
Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie
Al. Piastów 42, pok. 25
71-065 Szczecin
tel. +48 91 449 41 55

Szczecin, 28.10.2024 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej pt.:

„Badania procesu atomizacji cieczy jako metody wytwarzania aerozoli do zastosowań medycznych z uwzględnieniem zjawisk fizykochemicznych towarzyszących depozycji inhalowanych kropeł”

wykonanej przez

mgr inż. Katarzynę Dobrowolską-Dziarlik

pod opieką

Promotora: prof. dra hab. inż. Tomasza Sosnowskiego

Promotora pomocniczego: dra inż. Marcina Odziomka

1. Podstawa formalna wykonania recenzji

Podstawą opracowania recenzji jest uchwała RNDIC.h.9-13.2024 i pismo Przewodniczącego Rady Naukowej Dyscypliny Inżynieria Chemiczna Politechniki Warszawskiej prof. dra hab. inż. Tomasza Sosnowskiego z dnia 17 września 2024 r., w sprawie powierzenia mi obowiązków recenzenta rozprawy doktorskiej pt. „Badania procesu atomizacji cieczy jako metody wytwarzania aerozoli do zastosowań medycznych z uwzględnieniem zjawisk fizykochemicznych towarzyszących depozycji inhalowanych kropeł”, wykonanej przez mgr inż. Katarzynę Dobrowolską-Dziarlik.

2. Podstawowe informacje o ocenianej rozprawie doktorskiej

Przesłana do recenzji rozprawa doktorska zatytułowana „Badania procesu atomizacji cieczy jako metody wytwarzania aerozoli do zastosowań medycznych z uwzględnieniem zjawisk fizykochemicznych towarzyszących depozycji inhalowanych kropel” została przygotowana przez Panią mgr inż. Katarzynę Dobrowolską-Dziarnik na Politechnice Warszawskiej pod opieką naukową profesora dra hab. inż. Tomasza Sosnowskiego, promotora rozprawy oraz dra inż. Marcina Odziomka, promotora pomocniczego.

Rozprawa doktorska ma formę klasycznej monografii napisanej w języku polskim. Obejmuje 246 strony maszynopisu i składa się z 12 rozdziałów: wstęp (rozdział 1), przegląd literatury (rozdziały 2, 5 – 7), motywacja do podjęcia badań oraz tezy i zakres pracy (rozdziały 3 i 4), część metodyczną (rozdziały 8 – 9), wyniki i ich omówienie (rozdział 10), podsumowanie i wnioski (rozdział 11 i 12). Ponadto rozprawa zawiera streszczenie w języku polskim i angielskim, słowa kluczowe, spis skrótów i symboli, bibliografię obejmującą 321 pozycji, oświadczenia dotyczące finansowania badań i autorstwa rysunków oraz podziękowania dla firmy ONY Biotech (USA). Rozprawa Pani mgr inż. Katarzyny Dobrowolskiej-Dziarnik jest bogato ilustrowana graficznie (schematy, wykresy, zestawienia tabelaryczne, wzory). Uzupełnieniem są załączniki w których Doktorantka zamieściła zdjęcia poglądowe nebulizatorów, opis aparatury pomiarowej Spraytec, mikroskopu BAM oraz dodatkowe 12 rysunków i 5 tabel. Na końcu dysertacji umieszczono zestawienie dorobku publikacyjnego Doktorantki.

Ocena merytoryczna rozprawy doktorskiej

Zmiany klimatyczne i rosnący stopień zanieczyszczeń powietrza to najważniejsze czynniki negatywnie wpływające na zdrowie człowieka. Przyczyniają się one do rozwoju chorób układu oddechowego takich, jak: pylice, nieżyty górnych i dolnych dróg oddechowych, alergie, przewlekła obturacyjna choroba płuc (POCHP), astma oskrzelowa oraz prowadzą do skrócenia oczekiwanej długości życia. W kompleksowym leczeniu wymienionych schorzeń aerozoloterapia, polegająca na podawaniu leków w postaci wziewnej, zajmuje kluczowe miejsce. Wynika to z faktu, że w porównaniu do doustnej i dożylniej drogi podania, jest metodą bezpieczniejszą, szybszą oraz pozwala na zastosowanie mniejszych dawek leku (bez zmiany jego skuteczności).

Systemy do podawania terapeutycznego aerozoli rozwinęły się znacznie na przestrzeni wieków, co pozwoliło na poszerzenie katalogu wdychanych leków terapeutycznych. Pierwsze zastosowania aerozoloterapii pojawiły się w starożytności (medycyna ajurwedyjska i medycyna egipska). Stosowano wówczas inhalację oparów ze spalonych roślin bogatych w alkaloidy tropanowe o działaniu spazmolitycznym i przeciwbólowym. Pojawienie się pierwszych nebulizatorów w połowie XIX wieku stało się znaczącym postępem w dziedzinie dostarczania leków w postaci aerozoli i rozpoczęło okres szybkiego i znaczącego rozwoju technologicznego. Obecnie możliwe jest podawanie drogą wziewną zarówno nanocząsteczek, jak i kwasów nukleinowych (np. DNA plazmidowego, siRNA), przeciwciał monoklonalnych (mAbs) oraz szczepionek. Przyjmowanie leków poprzez bezpośrednią doustną inhalację do płuc staje się nie tylko alternatywą dla tradycyjnych systemów dostarczania leków, ale pozwala na opracowanie nowych metod leczenia mukowiscydozy (choroba genetyczna), raka płuc, zakażeń spowodowanych przez bakterie, grzyby i wirusy (w tym SARS-CoV-2), a także chorób niezwiązanych z układem oddechowym (np. cukrzyca, schizofrenia, choroba Parkinsona itp.).

Warto dodać, że w jednej z ostatnich wersji raportu dotyczącego rynku produktów farmaceutycznych wynika, że skumulowany roczny wskaźnik wzrostu CAGR (ang. *Compound Annual Growth Rate*) dla leków wziewnych prognozowany na lata 2023 – 2030, kształtuje się na poziomie ok. 7%.

Wraz ze wzrostem liczby chorób leczonych terapią aerozolową i postępem jaki dokonał się w konstrukcji nebulizatorów oraz technologii opracowywania leków, ważne jest zwrócenie uwagi na czynniki, które ograniczają skuteczne stosowanie terapii wziewnej. Przeprowadzenie wszystkich badań i prac koniecznych do wprowadzenia nowego leku dostarczanego do płuc stanowi wyzwanie na wielu poziomach i wiąże się z pokonaniem wielu przeszkód. Dotyczą one nie tylko formulacji leku i wyboru urządzenia, ale i doboru odpowiednich modeli komórkowych lub zwierzęcych do badań przedklinicznych. Ogromnym problemem jest również brak możliwości kontroli procesu inhalacji, wynikający z osobniczych cech pacjentów m.in. różnic fizjologicznych, anatomicznych oraz indywidualnych umiejętności użytkowników nebulizatorów. Aby opracować skuteczną terapię wziewną, należy w pełni zrozumieć złożoną anatomię układu oddechowego, mechanizmy dynamiki tworzenia i przepływu aerozolu, jego depozycji w płucach oraz aspekty związane bezpieczeństwem inhalacji.

Biorąc powyższe pod uwagę tematyka rozprawy doktorskiej, zaproponowana przez Panią mgr inż. Katarzynę Dobrowolską-Dziarnik doskonale wpisuje się w aktualne nurty badawcze. W rozprawie doktorskiej omówiono wiele aspektów inżynierskich dotyczących właściwości fizykochemicznych rozpylanych cieczy oraz wpływu warunków nebulizacji na właściwości aerozolowe uzyskanej mgły leczniczej. Doktorantka, zajęła się również stosowaniem leków generycznych (odtwórczych) w terapiach inhalacyjnych. Podjęta tematyka wpisuje się również w światowe trendy rozwojowe inżynierii chemicznej, która coraz częściej znajduje zastosowanie w analizie ilościowej procesów przebiegających zarówno w organizmie, jak i w urządzeniach medycznych. Pozwala to na rozwój celowanych i personalizowanych terapii wielu chorób.

Głównym celem naukowym ocenianej rozprawy doktorskiej było badanie procesu atomizacji cieczy pod kątem czynników technicznych wpływających na jakość aerozolu terapeutycznego uwalnianego z inhalatorów medycznych i na rolę właściwości fizykochemicznych cieczy atomizowanej. Z pewnością mocną stroną rozprawy jest obszerny przegląd literatury. Moją szczególną uwagę zwrócił rozdział 5 pt. „Elementy inżynierii chemicznej w zastosowaniu do opisu procesów biegnących w układzie oddechowym”. Przedstawiono w nim, w jaki sposób zdobycze inżynierii chemicznej w zakresie wymienników masy i ciepła, mechaniki płynów, układów wielofazowych oraz projektowania urządzeń, mogą przyczynić się do rozwoju wiedzy na temat pożądanych i niepożądanych właściwości wdychanych do płuc aerozoli. Pewien niedosyt budzi zaprezentowany na rysunku 5.1., schemat drzewa tchawiczo-oskrzelowego, na którym zaznaczono dominujące mechanizmy depozycji cząstek aerozolu leczniczego w układzie oddechowym. Wydaje się, że naniesienie na rysunek podziału na generacje, umożliwiłoby czytelnikowi lepszą wizualizację prezentowanych w podrozdziale 5.2. zagadnień dotyczących terapii inhalacyjnych. W przeglądzie literatury zamieszczono ponadto najistotniejsze zagadnienia dotyczące procesu nebulizacji, charakterystykę produktów leczniczych i substancji pomocniczych stosowanych w aerozoterapii. Przedstawiono również szeroką gamę substancji pochodzenia naturalnego, które mogą być użyte w formulacji leków wziewnych.

W części doświadczalnej rozprawy Pani mgr inż. Katarzyna Dobrowolska-Dziarnik omówiła w jaki sposób zostały dobrane leki, substancje modelowe (m.in. modyfikatory przewodności, napięcia powierzchniowego i lepkości roztworów) i substancje pochodzenia naturalnego używane w badaniach procesu atomizacji cieczy. Zaprezentowała również sposób uzyskania modelowych surfaktantów płucnych stosowanych w badaniach i opisała stosowane metody pomiarowe i obliczeniowe. Tę część pracy zamyka opis konfiguracji urządzeń pomiarowych oraz przebiegu prowadzonych badań. Wszystkie metody i procedury badawcze są poprawne i adekwatne do potrzeb realizacji wytyczonych celów.

Przedstawione w rozdziałach 10 i 11 dysertacji wyniki badań obliczeniowych i interpretacyjnych stanowią oryginalne osiągnięcie poznawcze Doktorantki. Co istotne na podstawie uzyskanych rezultatów można stwierdzić, że przeprowadzone przez Panią mgr inż. Katarzynę Dobrowolską-Dziarnik badania znacząco pogłębiają wiedzę teoretyczną nt. atomizacji cieczy (badania podstawowe) i mogą zostać wykorzystane do opracowywania nowych leków wziewnych (badania aplikacyjne).

Do rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Katarzyna Dobrowolska-Dziarnik wykorzystała łącznie 321 pozycje literaturowe. Dobór piśmiennictwa jest odpowiedni do analizy podjętego problemu badawczego. Blisko jedna trzecia cytowanych prac to publikacje wydane w ostatnim dziesięcioleciu.

W mojej opinii rozprawa Pani mgr inż. Katarzyny Dobrowolskiej-Dziarnik zasługuje na wysoką ocenę pod względem merytorycznym. Całość rozprawy doktorskiej wskazuje, że Doktorantka posiada zarówno niezbędną wiedzę teoretyczną, jak i umiejętność prowadzenia badań doświadczalnych.

3. Uwagi krytyczne i dyskusyjne

Pod kątem edytorskim praca została przygotowana starannie, biorąc pod uwagę jej objętość (246 stron). Doktorantka nie ustrzegła się błędów interpunkcyjnych (np. użycie myślników, półpauz i dywizów), błędów formatowania oraz stylistycznych, których zdecydowałam się nie zamieszczać w recenzji bo nie utrudniają zrozumienia tekstu. W spisie bibliograficznym zdarzają się też przypisy z niepełnym opisem (np. pozycja 48, 262, 294), w spisie symboli brakuje niektórych skrótów stosowanych w rozprawie (np. FDA, EMA, WHO itp.). Kilka rysunków ma niską rozdzielczość (np. Rys. 6.7., 6.10., 6.11.).

W trakcie czytania rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Katarzyny Dobrowolskiej-Dziarnik nasunęły mi się pewne uwagi i spostrzeżenia,

- 1) strona 37, w opisie surfaktantu płucnego znajduje się stwierdzenie, że w „hipofazie można znaleźć tzw. makrofagi płucne (również zaznaczone na rysunku rys. 5.2.) odpowiedzialne za ochronę organizmu poprzez wchłanianie i fagocytozę zanieczyszczeń”. Jest to określenie nieprecyzyjne i nie wiadomo o jakim typie makrofagów jest mowa. W zdrowych płucach znajdują się dwa główne typy makrofagów tj. makrofagi pęcherzykowe AMs (ang. *alveolar macrophages*), które umiejscawiają się w sąsiedztwie nabłonka pęcherzyków płucnych, oraz makrofagi śródmiąższowe IMs (ang. *interstitial macrophages*), które są prawdopodobnie prekursorami makrofagów pęcherzykowych i znajdują się w miąższu pod nabłonkiem pęcherzyków. Gdy dochodzi do infekcji lub urazu, monocyty dostają się do jamy pęcherzyka i przekształcają się w makrofagi pęcherzykowe tkankowo-rezydentne TR-AMs (ang. *tissue-resident alveolar macrophages*) oraz makrofagi pęcherzykowe pochodzące z monocytów Mo-AMs (ang. *monocyte-derived alveolar macrophages*). Główną rolą makrofagów jest obrona

organizmu przed infekcjami wywołanymi przez patogeny (bakterie, grzyby i wirusy), a nie ochrona przed zanieczyszczeniami. Do pęcherzyków płucnych mogą się dostawać jedynie najdrobniejsze frakcje pyłu i nie potwierdzono jak dotąd wykształcenia się specyficznych struktur stanowiących dedykowane zabezpieczenie przed tym zjawiskiem. Makrofagi, jako komórki żerne pełnią jedynie rolę pomocniczą w usuwaniu zanieczyszczeń. Wiadomo jednak, że zdolność fagocytozy oraz ruchliwość makrofagów jest zmniejszona w warunkach ekspozycji na zanieczyszczenia powietrza.

- 2) na rys. 6.5. (strona 65) Autorka przedstawiła wynik badań własnych nie podając czy badane nebulizatory siateczkowe Aerogen Solo i Diagnostic ProMesh różnią się konstrukcją stosowanej membrany czy nie? Z tekstu nie wynika również czym jest traser.
- 3) Tytuł rozdziału 7.4. (pt. „Substancje pochodzenia naturalnego o potencjalnym zastosowaniu w nebulizacji”) jest mylący. Autorka zaprezentowała w nim ograniczenia dotyczące stosowania w nebulizacji substancji pomocniczych w postaci związków syntetycznych. W mojej opinii rozdział ten powinien być połączony z rozdziałem 7.3., natomiast podrozdział 7.4.1. powinien stanowić treść tej części rozprawy.
- 4) strona 96, nieprecyzyjne sformułowania dotyczące pozyskiwania agaru i gumy ksantanowej. Agar uzyskuje się ze ścian komórkowych krasnorostów (*Rhodophyta*) klasyfikowanych jako glony. Współcześnie w literaturze naukowej nie używa się już pojęcia wodorosty. Guma ksantanowa powstaje w wyniku fermentacji glukozy i sacharozy prowadzonej przez Gram-ujemne bakterie *Xanthomonas campestris*.
- 5) Rys. 10.43. etykieta osi Y „% depozycji w stosunku do ilości zainhalowanej (%)” wymaga poprawy (zwyczajowo nie używamy symboli na początku frazy).
- 6) We wnioskach zabrakło mi konkretnych wskazań np. który sposób modyfikacji właściwości aerozolu poprzez dodatek substancji pomocniczych okazał się najlepszy? Która konstrukcja nebulizatora gwarantuje lepszą depozycję inhalowanego aerozolu? itp.

W tym miejscu chciałbym również zaznaczyć, że powyższe uwagi nie obniżają wartości merytorycznej rozprawy. Zostały podane w celu uporządkowania prezentowanych treści i jako wskazówka do przygotowywania artykułów z tej tematyki.

Wyniki uzyskane przez Panią mgr inż. Katarzynę Dobrowolską-Dziarnik zachęcają do dyskusji, dlatego podczas publicznej obrony prosiłbym Doktorantkę o ustosunkowanie się do następujących kwestii:

- 1) Jak ocenia Pani „terapeutyczną użyteczność” nanocząstek, kropek kwantowych (QD) i liposomów (naturalnych i syntetycznych) w terapiach inhalacyjnych?
- 2) Co wiemy na temat odpowiedzi makrofagów na leki wziewne?
- 3) W swoich badaniach używała Pani modelu wielościeżkowego obliczania depozycji cząstek MPPD (ang. *multi-path particle dosimetry*). Czy według Pani przyszłością farmakokinetyki leków wziewnych będą modele *in silico* i wykorzystanie sztucznej inteligencji (AI) czy raczej należy się spodziewać rozwoju modeli *in vitro* opartych o hodowle komórek nabłonkowych na granicy powietrze-ciecz ALI (ang. *Air-liquid Interface*), organoidów płucnych czy technologii platform typu OoC (ang. *Organ-on-a-Chip*)?
- 4) Wiele raportów wskazuje, że ponad 50% dorosłych pacjentów (odsetek ten jest jeszcze większy wśród dzieci) nie przyjmuje inhalacji zgodnie z zaleceniami lub instrukcjami. Jaki

widzi Pani sposób na zmianę tego niekorzystnego trendu w odniesieniu do formulacji leków lub konstrukcji nebulizatorów?

4. Podsumowanie

Recenzowana rozprawa doktorska jest kompleksowym opracowaniem, stanowiącym oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Do niewątpliwych osiągnięć Pani mgr inż. Katarzyny Dobrowolskiej-Dziarnik, predestynujących Kandydatkę do ubiegania się o stopień doktora w dziedzinie nauk inżynieryjno-technicznych w dyscyplinie inżynieria chemiczna zaliczam:

- istotne poszerzenie wiedzy podstawowej na temat wpływu właściwości fizykochemicznych rozpraszanej cieczy (lepkości, napięcia powierzchniowego, przewodności elektrolitycznej) oraz konstrukcji nebulizatora na charakterystykę powstającego aerozolu,
- wykazanie, że zasada działania i konstrukcja nebulizatora wpływają w większym stopniu na parametry emitowanego aerozolu (m.in. wielkość wytwarzanych kropeł, strumień emitowanego aerozolu) niż właściwości fizykochemiczne atomizowanych cieczy,
- określenie, że naturalne zamienniki syntetycznych surfaktantów mogą zmieniać właściwości tworzonego aerozolu i wpływać na efektywność aeroterapii.
- potwierdzenie różnic pomiędzy aerozolem wytwarzanym w wyniku atomizacji leków oryginalnych i generycznych,

W myśl zasady, że każdy lek wziewny dostępny na rynku to połączenie substancji lub mieszaniny substancji oraz urządzenia do podawania uważam, że uzyskane przez Doktorantkę wyniki mają charakter użyteczny i mogą przyczynić się do stworzenia nowych formułacji terapeutycznych aerozoli, które w odpowiedniej ilości będą precyzyjnie dostarczać do właściwego miejsca w płucach pacjentów.

5. Ocena dorobku doktorantki

Cały dorobek naukowy Pani mgr inż. Katarzyny Dobrowolskiej-Dziarnik w oparciu o bazę Web of Science (14.10.2024 r.) obejmuje 7 prac z listy JCR. Łączne wskaźniki dla tych artykułów to: IF = 23,2 i 760 punktów MEiN (Komunikat Ministra Nauki z dnia 5 stycznia 2024 r. w sprawie wykazu czasopism naukowych i recenzowanych materiałów z konferencji międzynarodowych z późn. zm.). Index Hirscha wynosi 4, a liczba cytowań – 47 (bez autocytowań). Pozostały dorobek Doktorantki obejmuje: 6 artykułów spoza listy JCR (o łącznej punktacji MEiN = 75 pkt), 2 rozdziały w monografiach Instytutu Technologii Eksploatacji – Państwowego Instytutu Badawczego. Doktoranta nie podała natomiast czy prezentowała swoje wyniki na konferencjach krajowych lub zagranicznych i czy jest współautorką zgłoszeń patentowych lub patentów. Pani mgr inż. Katarzyna Dobrowolska-Dziarnik była kierownikiem projektu badawczego PRELUDIUM i grantu przyznanego przez Dziekana Wydziału Inżynierii Chemicznej i Procesowej Politechniki Warszawskiej oraz wykonawcą w projekcie OPUS.

6. Wniosek końcowy

Stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr inż. Katarzyny Dobrowolskiej-Dziarnik pt. „Badania procesu atomizacji cieczy jako metody wytwarzania aerozoli do zastosowań medycznych z uwzględnieniem zjawisk fizykochemicznych

towarzyszących depozycji inhalowanych kropeł” spełnia wszystkie kryteria zwyczajowe i formalne stawiane rozprawom doktorskim. Wobec powyższego wnioskuję do Rady Naukowej Dyscypliny Inżynieria Chemiczna Politechniki Warszawskiej o dopuszczenie Pani mgr inż. Katarzyny Dobrowolskiej-Dziarnik do dalszych etapów przewodu doktorskiego, zgodnie z ustawą Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 r. (tekst jedn. Dz. U. z 2022 r. poz. 574, z późn. zm.).

Oryginalność pod względem wyboru tematyki badań wpisujących się w zagadnienia inżynierii chemicznej i procesowej, fizykochemii powierzchni oraz medycyny, ale też nieszablonowe zastosowanie narzędzi inżynierii chemicznej na etapie projektowania metodyki pomiarowej i analizy danych oraz załączony dorobek naukowy, dają podstawy do zgłoszenia wniosku o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Katarzyny Dobrowolskiej-Dziarnik.

Ajata Markowska-Szumpele