



UNIWERSYTET  
OPOLSKI

Prof. dr hab. Teresa Janas  
ZESPÓŁ BADAŃ EGZOSOMÓW I LIPOSOMÓW  
INSTYTUT BIOLOGII  
ul. Kominka 6, 6a ; 45-032 Opole  
tel. +48 77 401 60 50  
fax. +48 77 401 60 51  
teresa.janas@uni.opole.pl

Opole, 26.05.2022

Recenzja rozprawy habilitacyjnej  
osiągnięcia naukowego dr n.med. Igi Hołyńskiej-Iwan

„Znaczenie transportu jonów w tkance skórnej dla utrzymania homeostazy.

Wpływ wybranych ksenobiotyków: cisplatyny, kapsaicyny, propolisu oraz deltametryny na parametry elektrofizjologiczne skóry”

#### Charakterystyka osiągnięcia naukowego

Osiągnięcie zatytułowane: „Znaczenie transportu jonów w tkance skórnej dla utrzymania homeostazy. Wpływ wybranych ksenobiotyków: cisplatyny, kapsaicyny, propolisu oraz deltametryny na parametry elektrofizjologiczne skóry” opisane jest w sześciu pracach eksperymentalnych: **P1, P2, P3, P4, P5, P6** (wszystkie przypisane są do dyscypliny: nauki farmaceutyczne):

**P1:** Hołyńska-Iwan I.\*, Szewczyk-Golec K.: Analysis of changes in sodium and chloride ion transport in the skin. Sci. Rep. 2020, 10(1): 18094. 140 pkt. MNiSW, 4.379 pkt. IF

**P2.** Hołyńska-Iwan I.\*, Smyk P., Chrustek A., Olszewska-Słonina D., Szewczyk-Golec K.: The influence of hydration status on ion transport in the rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) skin-An in vitro study. PLoS ONE. 2021, 16(8): e0255825. 100 pkt. MNiSW, 3.240 pkt. IF

**P3:** Hołyńska-Iwan I.\*, Sobiesiak M.: Cisplatin influences the skin ion transport: an in vitro study. Biomed. Pharmacol. 2020, 129: 1-11. 100 pkt. MNiSW, 6.529 pkt. IF

**P4.** Hołyńska-Iwan I.\*, Dziembowska I., Smyk P., Olszewska-Słonina D.: Capsaicin used on skin influences ion transport pathways : an in vitro study. Skin Pharmacol. Physiol. 2018, 31: 19-27. 35 pkt. MNiSW, 1.892 pkt. IF

**P5.** Smyk P., Hołyńska-Iwan I., Olszewska-Słonina D.: Effect of propolis preparations on transepithelial electrical potential, resistance, and ion transport in In vitro study. Evid.-based Complment Altern. Med. 2019, 2019: 1-9. 70 pkt. MNiSW, 1.813 pkt. IF,

**P6.** Hołyńska-Iwan I.\*, Bogusiewicz J., Chajdas D., Szewczyk-Golec K., Lampka M., Olszewska-Słonina D.: The immediate influence of deltamethrin on ion transport through rabbit skin: an in vitro study. *Pest. Biochem. Physiol.* 2018, 148: 144-150. 30 pkt. MNiSW, 2.870 pkt. IF

W pięciu pracach dr Hołyńska-Iwan jest pierwszą autorką. Większość prac powstała z dominującym wkładem Habilitantki. Jej procentowy udział w poszczególnych pracach wynosi, odpowiednio : **80, 80, 95, 80, 35, 75.**

Zgodnie z analizą bibliometryczną łączna punktacja MNiSW przedstawionego cyklu składającego się z wyżej wymienionych 6 prac wynosi **475** pkt, a sumaryczny współczynnik oddziaływania Impact Factor: **20.723** pkt. Indeks Hirscha dla wszystkich prac opublikowanych przez Habilitantkę wynosi **5.**

Głównym tematem badawczym przedstawionego przez Habilitantkę do oceny dzieła jest wykazanie znaczenia transportu jonów przez tkankę skórną w utrzymaniu homeostazy. Homeostaza jest wypadkową wielu procesów komórkowych zachodzących synchronicznie, w tym transportu wielu jonów i innych cząsteczek aktywnych biologicznie. Uważam, że jest to temat zbyt ogólny, w związku z tym sprecyzowanie tego tematu do procesów komórkowych badanych przez Habilitantkę wskazywałoby na faktyczną treść zawartą w rozprawie.

Habilitantka pisze w Autoreferacie , że „celem badań była ocena transportu jonów, szczególnie sodowych i chlorkowych, w tkance skórnej badanej *in vitro*”. Uważam, że rozprawa habilitacyjna byłaby znaczącym wkładem do poznania procesów zachodzących w tkance skórnej, gdyby Habilitantka mierzyła transport wybranych jonów, zamiast go oceniać.

Habilitantka jako szczegółowy cel swoich badań wybrała: „identyfikację poszczególnych składowych jonowych generujących i utrzymujących przelnabłonkową różnicę potencjału oraz warunkujących opór elektryczny skóry w warunkach niezaburzonych.” Analizę tę opiera na wynikach pomiarów opublikowanych w dwóch pracach: **P1** oraz **P2**. W obu pracach **P1** oraz **P2** Habilitantka dokonuje pomiarów potencjałów przelnabłonkowych w warunkach zaburzonych (a nie jak pisze w celu badań, w warunkach niezaburzonych), ponieważ w pracy (**P1**) stosuje blokery transportu jonów sodowych oraz chlorkowych (amiloryd oraz bumetanid), natomiast w pracy **P2** poddaje tkankę skórną dehydratacji oraz rehydratacji co nazywa metodami odwodnienia tkanki.

Ponadto Habilitantka badała wpływ wybranych ksenobiotyków na potencjały elektryczne w tkance skórnej. Według Habilitantki wszystkie wybrane przez nią ksenobiotyki wywołują reakcje nadwrażliwości oraz alergii po podaniu ich na skórę. Wybranymi ksenobiotykami były:

- cisplatyna, wykorzystywana w terapii onkologicznej, wyniki pomiarów analizuje w pracy **P3**
- kapsaicyna, wykorzystywana w lecznictwie, wyniki pomiarów analizuje w pracy **P4**.

- propolis, jako ekstrakt w alkoholu etylowym lub roztwór wodny oraz w postaci maści wazeliniowej, wykorzystywany w kosmetologii, wyniki pomiarów analizuje w publikacji P5.

- deltametryna (środek owadobójczy) w stężeniu niższym od zalecanego w środkach owadobójczych wyniki pomiarów analizuje w publikacji P6.

W swojej pracy Habilitantka mierzyła:

- przeznabłonkowy potencjał elektryczny mierzony w warunkach stacjonarnych (PD),
- przeznabłonkowy potencjał maksymalny (PDmax)
- przeznabłonkowy potencjał minimalny (PDmin) mierzony w warunkach 15 sekundowej stymulacji mechanicznej lub mechaniczno-chemicznej,
- opór elektryczny (R) tkanki skórnej.

Habilitantka przeprowadzała badania na fragmentach skóry pełnej grubości pochodzących od królików, obojga płci, rasy Nowozelandzkiej białej w wieku od 3 do 5 miesięcy, o wadze od 2.5 -4.0 kg. Badane fragmenty skóry cechowały się zachowanymi zakończeniami nerwowymi, były w pełni reaktywne, co umożliwiło obserwację reakcji komórek w nich zawartych na oplukiwanie wybranymi w/w ksenobiotykami.

Habilitantka pisze w opisie osiągnięcia naukowego o „zmianach w transporcie jonów”, ale nigdzie nie wyjaśnia co należy rozumieć pod tym pojęciem. Według Habilitantki w/w zmiany w transporcie jonów warunkują utrzymanie właściwej pobudliwości komórek, osmolalności oraz funkcji poszczególnych warstw skóry. Habilitantka nie analizuje związku obserwowanych zmian potencjałów z wyżej wymienionymi przez Habilitantkę procesami. Uważam, że to właśnie było zadaniem Habilitantki, aby ten związek przyczynowo-skutkowy wyjaśnić poprzez przeprowadzenie dobrze zaplanowanych odpowiednich pomiarów. Ponadto Habilitantka nie precyzuje jakie zmiany (wzrosty czy spadki) potencjału przeznabłonkowego obserwuje w wyniku działania na tkankę skórną wybranych ksenobiotyków. Nie wyjaśnia co oznacza (o czym informuje) wzrost lub spadek potencjału przeznabłonkowego w badanej tkance. Habilitantka nie wyjaśnia jaki jest związek przyczynowo-skutkowy pomiędzy obserwowanymi zmianami potencjału przeznabłonkowego a strumieniami jonów generowanymi w tkance skórnej przez odpowiednie mechanizmy transportu (tj transport kanałowy, bierny nośnikowy, transport aktywny lub dyfuzyjny).

Według Habilitantki: „Mierzony przeznabłonkowy potencjał elektryczny w warunkach doświadczalnych pozwala odpowiedzieć na pytania, w jakim zakresie zmiany potencjału dotyczą transportu jonów sodowych i chlorkowych oraz czy wybrane ksenobiotyki: cisplatyna, kapsaicyna, propolis oraz deltametryna wpływają na aktywność kanałów jonowych, a tym samym na zmiany w pobudliwości, zapoczątkowanie reakcji komórek immunokompetentnych oraz odczuwanie bólu.” Niestety Habilitantka nie udzieliła odpowiedzi na powyższe pytania w przeprowadzonych badaniach. Z faktu, że inhibitory kanału chlorkowego oraz kotransportera kationowo-chlorkowego zmieniają

potencjał przeznabłonkowy, nie wynika, że źródłem obserwowanych zmian potencjału pod wpływem ksenobiotyków są zmiany w transporcie jonów chlorkowych i sodowych. Zmiany potencjału przeznabłonkowego w tkance skórnej mogą wynikać m. inn. ze zmian strumieni dyfuzyjnych wielu jonów pomiędzy komórkami w przestrzeni tkanki, zmian strumieni jonów wynikających z zaburzenia struktury dwuwarstwy lipidowej błon, zmian strumieni jonów poprzez szereg systemów kanałowych, zmian strumieni jonów pompowanych aktywnie przez odpowiednie białka transmembranowe, zmian strumieni różnych jonów przenoszonych poprzez przenośniki białkowe oraz zmian w procesach wiązania jonów do składników macierzy zewnątrzkomórkowej. Badane ksenobiotyki mogą wpływać na wszystkie w/w procesy, nie tylko na transport jonów chlorkowych i sodowych.

Habilitantka twierdzi, że „ocena transportu jonów sodowych i chlorkowych w strukturze tkanki z zachowaną warstwowością, reaktywnością i wrażliwością na bodźce daje możliwość obserwacji reakcji elektrofizjologicznych, zarówno w warunkach fizjologicznych, jak i zmienionych przez zastosowane w eksperymentach substancje egzogenne”. Uważam, że „ocena transportu jonów” nie może dać możliwości „obserwacji reakcji elektrofizjologicznych”. Albowiem „reaktywność oraz wrażliwość na bodźce” są wynikiem ukierunkowanego strumienia odpowiednich jonów w strukturze tkanki.

Niestety, Habilitantka w pracach dotyczących wybranych ksenobiotyków nie wykazała związku przyczynowo-skutkowego pomiędzy strumieniami odpowiednich jonów a obserwowanymi reakcjami nadwrażliwości bądź alergii. Przyczyną niezrozumienia tych związków jest brak w badaniach pomiarów strumienia jakiegokolwiek z jonów fizjologicznych (jony sodowe, chlorkowe, potasowe, wapniowe, magnezowe). Habilitantka mierzyła jedynie zmiany potencjałów, które wynikają z wypadkowego rozkładu jonów w poprzek tkanki skórnej.

Ponadto interpretacja otrzymanych wyników badań dotyczących ksenobiotyków może budzić poważne zastrzeżenia, ponieważ same te związki mogą zmieniać potencjał przeznabłonkowy, gdy znajdują się w formie zjonizowanej w asymetrycznej tkance skórnej. Habilitantka uważa, że „Najważniejszymi jonami, których ruch warunkuje mierzalne zmiany przeznabłonkowego potencjału elektrycznego, są jony sodowe oraz chlorkowe”, ale strumieni tych jonów także nie mierzyła w swoich badaniach.

Propolis jest zbiorem wielu związków chemicznych. Habilitantka nie podejmuje próby analizy mechanizmów dotyczących oddziaływania propolisu na potencjały przeznabłonkowe, w tym wpływu poszczególnych składników tej mieszaniny.

Uważam, że konkluzja jaką zamieściła Habilitantka w Autoreferacie, czyli: „Przytoczone wyniki z sześciu prac udowadniają, że badania elektrofizjologiczne tkanki skórnej pełnej grubości, z aktywnymi zakończeniami nerwowymi oraz zachowanym transportem jonów do i z komórek, może być pomocne w wyjaśnieniu patomechanizmów działania ksenobiotyków na skórę ssaków (P1, P2, P3, P4,

P5, P6).” nie jest uzasadniona na podstawie wyników badań dotychczas przeprowadzonych przez Habilitantkę. Zatem Habilitantka nie wykazała w swojej pracy związku pomiędzy transportem odpowiednich jonów i procesami komórkowymi utrzymującymi homeostazę.

### **Charakterystyka dorobku naukowego poza głównymi osiągnięciami badawczymi**

Po uzyskaniu doktoratu w 2007 roku Habilitantka opublikowała 20 artykułów w czasopismach naukowych nie wchodzących w skład rozprawy habilitacyjnej. Prace te powstały w latach 2009-2020. Są to publikacje wieloautorskie. Habilitantka nie uczestniczyła w pracach zespołów badawczych realizujących projekty finansowane w drodze konkursów krajowych lub zagranicznych. W dorobku naukowym Habilitantki nie ma udokumentowanej współpracy z ośrodkami zagranicznymi.

### **Działalność dydaktyczna i konferencyjna**

Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora, Habilitantka uczestniczyła czynnie w kilkunastu konferencjach naukowych. Opiekowała się również Studenckim Kołem Naukowym. Uzyskała kilka uczelnianych wyróżnień dydaktycznych i naukowych.

### **Wniosek końcowy**

Poznanie mechanizmu przyczynowo-skutkowego w procesach nadwrażliwości lub alergii jest niezwykle ważne z punktu widzenia medycznego. Jednakże osiągnięcie naukowe Habilitantki na obecnym etapie nie jest wystarczająco udokumentowane, aby stanowiło znaczący wkład w rozwój dyscypliny naukowej nauki farmaceutycznej, w rozumieniu Art. 219. Pkt.1. Ustawy. W związku z tym stwierdzam, że nie mogę poprzeć wniosku o nadanie dr Hołyńskiej-Iwan stopnia naukowego doktora habilitowanego.

*Teresa Janas*