

Prof. dr hab. Michał Arabski
tel. 041 349 63 31
email: arabski@ujk.edu.pl



ZAKŁAD BIOLOGII MEDYCZNEJ
INSTYTUT BIOLOGII
WYDZIAŁ NAUK ŚCISŁYCH I PRZYRODNICZYCH
UNIwersytet JANA KOCHANOWSKIEGO
W KIELCACH



Kielce, 18.08.2026

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

PANI MGR ADRIANNY DĄBROWSKIEJ-HULKA

***ROLA MITOCHONDRIALNEGO KANAŁU BK_{Ca} W FIZJOLOGII I USZKODZENIACH
KOMÓREK NABŁONKA ODDECHOWEGO WYWOŁANYCH PRZEZ PYŁY MIEJSKIE***

Pyły miejskie należą do najbardziej agresywnych czynników środowiskowych oddziałujących na nabłonek oddechowy. Nawet krótkotrwała ekspozycja na zawieszone cząstki prowadzi do mikrouszkodzeń powierzchni nabłonka, zaburzenia pracy rzęsek oraz osłabienia bariery śluzowo-rzęskowej, stanowiącej pierwszą linię obrony układu oddechowego. Pyły te nasilają nadreaktywność oskrzeli wynikającą z przewlekłego stanu zapalnego, co osłabia barierę ochronną dróg oddechowych i sprzyja rozwojowi astmy oraz przewlekłej obturacyjnej choroby płuc. Ultradrobne cząstki zawierające metale ciężkie czy wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne przedostają się do krwiobiegu, wywołując stan zapalny ogólnoustrojowy prowadzący do chorób sercowo-naczyniowych, a długotrwała ekspozycja na toksyczne składniki pyłów zwiększa ryzyko rozwoju nowotworów płuc. Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr Adrianny Dąbrowskiej-Hulka doskonale wpisuje się w tą aktualną i ważną tematykę. Wysokie stężenia pyłów w dużych miastach utrzymują się mimo regulacji środowiskowych, co powoduje stałą ekspozycję populacji na szkodliwe cząstki. Jednocześnie rośnie częstość chorób układu oddechowego, sercowo-naczyniowego i nowotworów, których patogenеза jest bezpośrednio związana z zanieczyszczeniem powietrza. Badania nad mechanizmami działania pyłów, ich wpływem na nabłonek oddechowy oraz konsekwencjami ogólnoustrojowymi są kluczowe dla zdrowia publicznego.

Rozprawa doktorska Pani mgr A. Dąbrowskiej-Hulka ma typową strukturę tzn. zawiera wprowadzenie z jasno określonym celem, przegląd literatury przedstawiający aktualny stan wiedzy, opis zastosowanej metodologii, prezentację wyników, ich omówienie w rozdziale dyskusja oraz wnioski podsumowujące realizację celów i weryfikację hipotez. Praca doktorska została zrealizowana w Katedrze Fizyki i Biofizyki Instytutu Biologii SGGW pod kierunkiem Pana prof. dr hab. Piotra Bednarczyka, funkcję promotora pomocniczego pełniła Pani dr Agnieszka Łukasik. Badania przedstawione w ramach rozprawy doktorskiej był sfinansowane dzięki wsparciu Narodowego Centrum Nauki, konkurs OPUS 18.

W dalsze części recenzji odniosę się do jej poszczególnych części.

Wprowadzenie do rozprawy ma charakter ogólny i stanowi szeroki kontekst dla podjętej tematyki badawczej. Obejmuje ono omówienie czynników uszkadzających komórki, ze szczególnym uwzględnieniem pyłów miejskich, ich źródeł, rodzajów, składu chemicznego oraz wpływu na układ oddechowy człowieka. Kolejny rozdział przedstawia budowę i funkcje nabłonka oddechowego, stanowiącego podstawową barierę ochronną dróg oddechowych. Następna część dotyczy mitochondriów, w tym roli kanałów jonowych w regulacji ich funkcji i odpowiedzi komórkowej na stres. Ostatni podrozdział części teoretycznej stanowi przegląd wybranych związków pochodzenia naturalnego o działaniu ochronnym, ze szczególnym uwzględnieniem ich wpływu na mitochondrialne kanały potasowe. Do tej części rozprawy mam pytanie dotyczące właściwości biologicznych kwercetyny. Ten flawonoid o bardzo wysokim potencjale przeciwutleniającym może wykazywać działanie prooksydacyjne w specyficznych warunkach np. związanych z zastosowanym stężeniem czy w obecności jonów metali przejściowych. Mam pytanie na ile powyższe właściwości mają znaczenie na aktywność cytoprotekcyjną kwercetyny w kontekście nabłonka oddechowego.

Cel pracy jest klarownie sformułowany i składają się na niego dwa zadania mające zweryfikować hipotezy, że mitochondrialny kanał BK_{Ca} pełni ważną rolę w fizjologii komórek nabłonka oddechowego oraz aktywacja mitochondrialnego kanału BK_{Ca} jest istotnym elementem ochrony w uszkodzeniach komórek nabłonka oddechowego wywołanych przez pyły miejskie. Realizacja celów szczegółowych pozwoliła na realizację założeń – cel główny pracy został osiągnięty.

Zastosowany w rozprawie szeroki wachlarz metod badawczych świadczy o wysokim doświadczeniu laboratoryjnym i praktycznym Doktorantki. Opis metod w rozdziale **Materiały i metody** jest na tyle kompletny i precyzyjny, że umożliwia odtworzenie części doświadczalnej pracy. Doktorantka wykorzystwała rozbudowany zestaw technik biofizycznych, pozwalających na analizę aktywności kanału $mitoBK_{Ca}$ w mitochondriach, ocenę zużycia tlenu w przebiegu oddychania komórkowego oraz monitorowanie zmian potencjału błony wewnętrznej mitochondriów. Uzupełnieniem tych badań były metody biochemiczne, które umożliwiły ocenę cytotoksyczności, pomiar produkcji reaktywnych form tlenu oraz analizę profilu białkowego z zastosowaniem techniki Western blot. Badania przeprowadzono z wykorzystaniem ludzkiej linii komórek nabłonka dróg oddechowych HBE oraz, co należy szczególnie podkreślić, unikalnej linii HBE z delecją w genie kodującym kanał jonowy $BKCa$. Linia ta została wytworzona we współpracy z Pracownią Wewnątrzkomórkowych Kanałów Jonowych Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN. W związku z tym mam pytanie o zakres ewentualnego udziału Doktorantki w realizacji tej współpracy naukowej.

W rozdziale dotyczącym **wyników** materiał badawczy został przedstawiony w formie przejrzystych, starannie opracowanych rycin i wykresów, które znacząco ułatwiają interpretację uzyskanych danych. W pierwszej części badań Doktorantka wykazała bezpośredni wpływ

kwercetyna na aktywację kanału mitoBK_{Ca}, podczas gdy izoramnetyna nie wpływa na jego działanie, a penitrem A go blokuje. W komórkach HBEWT nie stwierdzono konkurencji wiązania między kwercetyną a penitremem A. Kwercetyna, podobnie jak NS11021, zwiększa tempo oddychania mitochondrialnego oraz powoduje depolaryzację błony wewnętrznej w sposób zależny od stężenia. Badania te pokazują, że kwercetyna jest aktywatorem kanału mitoBK_{Ca} i wywołuje charakterystyczne zmiany funkcjonalne mitochondriów.

W kolejnej części badań Doktorantka charakteryzuje efekt PM na linię HBEWT. Badania wykazały, że PM wywołuje stres oksydacyjny w komórkach HBE WT, co potwierdzono barwieniem fluorescencyjnym z sondą H2DCFDA. Kwercetyna w najwyższym testowanym stężeniu (10 µg/ml) skutecznie ogranicza ten efekt, zmniejszając poziom RFT. Zbieżne wyniki uzyskano w pomiarach TEER, wskazując, że działanie ochronne kwercetyny wynika z aktywacji kanałów mitoBK_{Ca}.

Następnie Doktorantka scharakteryzowała wrażliwość linii komórkowej HBE z delecją w genie kodującym kanał jonowy BK_{Ca} (HBEΔαBK) w porównaniu do typu dzikiego. Do tej części rozprawy mam pytanie, jak zdaniem Doktorantki, można wyjaśnić zwiększoną produkcję RFT przez linię HBEΔαBK w obecności PM w porównaniu z komórkami typu dzikiego?

Badania porównawcze obu linii komórkowych wykazały istotną rolę kanału mitoBK_{Ca} w procesie oddychania komórkowego oraz różnice w ekspresji białek kompleksów III i IV łańcucha oddechowego. Biorąc pod uwagę ekspozycję komórek na reaktywne formy tlenu, zależną m.in. od zastosowanych związków chemicznych, w początkowym etapie badań określono wrażliwość obu analizowanych linii komórkowych, wykorzystując trzy niezależne techniki pomiarowe. Doktorantka zaobserwowała efekt ochronny kwercetyny o stężeniu 10 µg/ml wobec stresu oksydacyjnego indukowanego przez PM, co potwierdzają wyniki uzyskane we wszystkich zastosowanych metodach.

Doktorantka w sposób merytoryczny odniosła się do wyników tych wielowątkowych badań w części rozdziału **Dyskusja**. Wykorzystała przy tym starannie dobraną i adekwatną literaturę naukową, co pozwoliło Jej nie tylko na interpretację uzyskanych danych, lecz także na umiejscowienie ich w szerszym kontekście badań nad funkcją kanału mitoBK_{Ca}. Trafne zestawienie własnych obserwacji z doniesieniami innych zespołów badawczych świadczy o Jej wysokiej kompetencji analitycznej oraz umiejętności krytycznego prowadzenia dyskusji naukowej. Do tej części rozprawy mam pytanie, jakie według wiedzy Doktorantki istnieją przesłanki literaturowe dotyczące molekularnych podstaw uzyskanych przez nią wyników badań oraz czy mogą one stanowić podstawę do praktycznych zastosowań w ramach terapii chorób związanych z szeroko rozumianymi zaburzeniami układu oddechowego?

Ponadto, Doktorantka jest współautorką czterech publikacji naukowych o łącznym *Impact Factor* wynoszącym 16,9. Jej aktywność naukowa obejmuje udział w konferencjach o zasięgu

krajowym oraz uczestnictwo w licznych kursach i szkoleniach, organizowanych głównie przez firmę Merck, bezpośrednio związanych z tematyką prowadzonej działalności badawczej.

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr Adrianny Dąbrowskiej-Hulka *Rola mitochondrialnego kanału BK_{Ca} w fizjologii i uszkodzeniach komórek nabłonka oddechowego wywołanych przez pyły miejskie* stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i spełnia warunki określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce. Uwzględniając udokumentowaną zdolność Doktorantki do samodzielnego prowadzenia badań naukowych oraz Jej przygotowanie merytoryczne, wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie Pani mgr Adrianny Dąbrowskiej-Hulka do dalszych etapów postępowania doktorskiego.



Signed by /
Podpisano przez:

Michał Stanisław
Arabski

Date / Data: 2026-
08-18 14:51