

Śląski Uniwersytet Medyczny
Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu
Katedra i Zakład Farmacji Fizycznej

Recenzent:

dr hab. n. farm. Małgorzata MACIĄŻEK-JURCZYK, prof. SUM

Sosnowiec, 21.12.2020

Ocena działalności naukowej, w tym osiągnięcia naukowego będącego podstawą habilitacji oraz działalności dydaktyczno – organizacyjnej dr n. farm. Anny Marii ROSZKOWSKIEJ, w związku z postępowaniem o nadanie Jej stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne.

Tytuł osiągnięcia naukowego:

„Strategia analityczna w badaniach metabolomicznych, klinicznych i środowiskowych oparta na mikroekstrakcji do fazy stałej (SPME) w warunkach *in vivo*”.

Recenzja została przygotowana na podstawie przesłanej dokumentacji zawierającej m.in. autoreferat, kopie publikacji stanowiących wymagane Ustawą „osiągnięcie naukowe” wraz z oświadczeniami współautorów, wykaz opublikowanych prac naukowych i analizę bibliometryczną publikacji przygotowaną przez Bibliotekę Główną Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego oraz na podstawie danych z bazy *Web of Science i Scopus* z dnia 19.05.2020 roku.

1. Dane biograficzne

Anna Maria ROSZKOWSKA, z domu Koryziak, doktor nauk farmaceutycznych, urodzona 3 sierpnia 1979 roku w Starogardzie Gdańskim, studiowała na Wydziale Farmaceutycznym Akademii Medycznej w Gdańsku (obecnie Gdański Uniwersytet Medyczny), uzyskując w 2003 roku tytuł zawodowy magistra farmacji. W latach 2003-2009 była słuchaczką dziennych studiów doktoranckich, których uwieńczeniem było uzyskanie stopnia naukowego doktora nauk farmaceutycznych, nadanego 5 maja 2009 roku uchwałą Rady Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej w Gdańsku (obecnie Gdański Uniwersytet Medyczny) na podstawie przedstawionej rozprawy doktorskiej pt. „Wpływ zmian stężenia jonów wodorowych i potasowych na właściwości kinetyczno – regulacyjne deaminazy AMP z dojrzałego łożyska ludzkiego”. Zarówno praca magisterska, jak i doktorska zostały wykonane w Katedrze i Zakładzie Biochemii Farmaceutycznej pod promotorstwem prof. dr hab. Krystiana Kalety. Kariera naukowa Habilitantki związana jest od 2012 roku z Gdańskim Uniwersytetem Medycznym, początkowo jako wykładowca (2012-2014) i asystent (2014-2015) w Katedrze i Zakładzie Farmakologii Wydziału Lekarskiego, a następnie jako adiunkt w Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej, gdzie pracuje od 2015 roku do chwili obecnej. W latach 2016-2017 Pani dr ROSZKOWSKA odbyła roczny staż zagraniczny typu post-doc, w Departamencie Chemii Uniwersytetu w Waterloo w Kanadzie.

Analizując dane zawarte w Autoreferacie nie sposób pominąć posiadania przez Habilitantkę prawa wykonywania zawodu farmaceuty wydanego przez Gdańską Okręgową Izbę Aptekarską, co bez wątplenia znalazło pozytywny wydźwięk w Jej pracy naukowej.

W mojej ocenie rozwój naukowy dr ROSZKOWSKIEJ przebiega prawidłowo, a ustawiczne pogłębianie wiedzy, doświadczenie i umiejętności Habilitantki oraz Jej współpraca z innymi jednostkami naukowymi, zwłaszcza zawarta podczas stażu zagranicznego, zagwarantowały uzyskanie nowatorskich wyników badań, co zakwalifikowało opublikowanie ich w popularnych czasopismach z bazy *Journal Citation Reports (JCR)*.

2. Ocena w zakresie osiągnięć naukowo-badawczych

Śląski Uniwersytet Medyczny
Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu
Katedra i Zakład Farmacji Fizycznej

Analiza dokumentacji habilitacyjnej dr Anny ROSZKOWSKIEJ wskazuje, iż dominującym obszarem zainteresowań naukowych Kandydatki przed uzyskaniem stopnia doktora nauk farmaceutycznych była analiza właściwości deaminazy AMP łożyska ludzkiego za pomocą metod chromatograficznych, elektroforetycznych oraz pomiarów kolorymetrycznych i spektrofotometrycznych, co stanowiło podstawę rozprawy doktorskiej. Pragnę nadmienić, iż swoje pierwsze doświadczenia we wspomnianej tematyce Kandydatka zdobyła pod opieką Pana prof. dr hab. Krystiana Kalety, który pełniąc funkcję promotora pracy magisterskiej i pracy doktorskiej, bez wątpienia zaszczerpił w Habilitantce pasję do kontynuowania swojej kariery naukowej. Dorobek naukowy Pani dr ROSZKOWSKIEJ przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora nauk farmaceutycznych stanowią prace opublikowane w *Acta Biochimica Polonica* i *Molecular and Cellular Biochemistry* o łącznej wartości IF = 4.560 oraz dodatkowo w Przeglądzie Lekarskim, co w sumie daje 550 punktów MNiSW i obejmuje tematykę, wokół której koncentrował się wówczas Jej dorobek. Spośród wymienionych prac tylko w 1 Habilitantka była pierwszym autorem, szacując swój wkład jako wiodący, niemniej jednak w pozostałych Jej udział w powstaniu prac oszacowany został jako ważny. Na uwagę zasługuje fakt, iż owocem Jej zaangażowania prócz publikacji stanowią także prezentacje wyników w formie 9 doniesień na spotkaniach naukowych o zasięgu nie tylko krajowym, lecz także międzynarodowym. Nie sposób nie wspomnieć o dojrzałości naukowej Habilitantki i potrzebie podnoszenia swoich kwalifikacji, gdyż jeszcze przed uzyskaniem stopnia doktora odbyła 2 miesięczne szkolenia, w aptece szpitalnej Bloomington Hospital and Healthcare System Pharmacy w USA oraz w dziale badań klinicznych w firmie Synevo w Gdańsku, co prawdopodobnie w przyszłości wpłynęło pozytywnie na Jej naukowe decyzje.

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych dorobek dr ROSZKOWSKIEJ znacznie się powiększył. Poza pracami zgłoszonymi przez dr ROSZKOWSKĄ jako osiągnięcie naukowe w ramach postępowania habilitacyjnego jest współautorką 4 publikacji o zasięgu międzynarodowym (w 3 pracach jest drugim autorem, w 1 – trzecim), autorką 2 prac opublikowanych w czasopiśmie spoza *JCR* oraz 1 monografii naukowej, gdzie jest autorem rozdziału dotyczącego *in vivo* SPME w badaniach środowiskowych i toksykologicznych. Punktacja *Impact Factor* za prace opublikowane w tym czasie, prócz prac zgłoszonych do cyklu, to 16.727 a punktacja MNiSW to 223. Późniejsze szlify naukowe pozwoliły Pani ROSZKOWSKIEJ na poszerzenie działalności naukowej o kolejne rozdziały, tym razem związane ściśle z tematem osiągnięcia naukowego będącego podstawą ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego. Otóż przebywając na rocznym stażu podoktorskim w Uniwersytecie w Waterloo, Pani dr pod kierunkiem Pana prof. Janusza Pawliszyna brała udział w licznych projektach badawczych obejmujących zastosowanie techniki mikroekstrakcji do fazy stałej (SPME) w szerokim zakresie badań metabolomicznych, klinicznych i środowiskowych. Od tego momentu nastąpił zasadniczy wzrost Jej aktywności naukowej. Z moich obserwacji wynika, iż pobyt na rocznym stażu zagranicznym u prof. Pawliszyna to milowy krok w kierunku osiągnięcia sukcesu w karierze naukowej dr Roszkowskiej. Na powiększenie dorobku naukowego również mogła wpłynąć współpraca Pani ROSZKOWSKIEJ (którą utrzymywała w ramach pobytu na stażu) z Malignant Hyperthermia Investigation Unit w Department of Anesthesia and Pain Management, Toronto General Hospital (TGH), Department of Latner Thoracic Surgery, Toronto General Hospital (TGH) i którą praktykuje do dziś, tj. z University of Toronto i Toronto General Hospital, Katedrą Farmakodynamiki i Farmakologii Molekularnej, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Katedrą i Zakładem Anatomii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego (GUMed), Laboratorium Spektrometrii Mas Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i GUMed, Kliniką Psychiatrii Dorosłych GUMed, Uniwersytetem w Rostoku. Należy mieć na uwadze, iż na każdym etapie pracy po powrocie ze stażu technika SPME uplasowała sobie w dorobku Pani ROSZKOWSKIEJ miejsce wiodące czyniąc Panią doktor specjalistką w tej dziedzinie. Wymiernym efektem tej współpracy są publikacje opisujące projekty inne, niż te omówione w cyklu prac wchodzących w skład osiągnięcia, w czasopismach takich jak: *Canadian Journal of Anesthesia*, *Journal of*

Śląski Uniwersytet Medyczny
Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu
Katedra i Zakład Farmacji Fizycznej

Pharmaceutical Analysis, Arthritis & Rheumatology oraz doniesienia ustne i sesje posterowe na konferencjach.

Całościowy dorobek naukowy dr Anny ROSZKOWSKIEJ obejmuje Jej autorstwo/współautorstwo w 13 oryginalnych, pełnotekstowych pracach naukowych o cyrkulacji międzynarodowej (posiadających *Impact Factor*) oraz 4 prac o charakterze popularno – naukowym (w czasopismach bez *Impact Factor*). Pani doktor jest również autorką 1 rozdziału w monografii naukowej. Łączny dorobek Habilitantki w ujęciu bibliometrycznym, na dzień 20.05.2020 (z pewnością od tego czasu wzrósł) wynosił IF 49.212, a wg punktacji MNiSW 738. W 8 pracach jest pierwszym autorem, w 6 drugim, a w pozostałych 4 pracach trzecim bądź czwartym autorem.

Pragnę również nadmienić, iż wszystkie przedstawione prace ze współczynnikiem wpływu IF ukazały się w uznanych i często cytowanych czasopismach międzynarodowych, tj. *Scientific Reports (IF 4.011)*, *Environmental Science & Technology Letters (IF 6.934)*, *Environmental Pollution (IF 5.714)*, *Talanta (IF 4.916)*, *Analytical Chemistry (IF 6.35)*, *Acta Biochimica Polonica (IF 1.032)*, *Molecular and Cellular Biochemistry (IF 1.764)*, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis (IF 3.255)*, *Journal of Chromatography (IF 3.981)*, *Journal of Separation Science (IF 2.441)*. Warto zwrócić uwagę na pozycję naukową Kandydatki na arenie międzynarodowej. Świadczą o tym liczba cytowań wg *Web of Science Core Collection*, która wynosi 127, wg *Scopus* 124 a indeks *Hirscha* 7 i 6, wg odpowiednio *Web of Science Core Collection* i *Scopus*.

Pani dr Anna ROSZKOWSKA już przed uzyskaniem stopnia doktora nauk farmaceutycznych prezentowała swoje prace podczas zjazdów/konferencji naukowych w liczbie 9, z czego 2 miały miejsce poza granicami kraju. Po uzyskaniu stopnia doktora, upowszechnienie swoich badań w formie prezentacji posterowych, krajowych i zagranicznych, poszerzyła o wystąpienia ustne, gdzie spośród 3 wygłosiła 1 podczas konferencji zagranicznej. Pani doktor jest współautorem 15 streszczeń ze zjazdów krajowych (1 nagrodzone za najlepszą prezentację) i 9 ze zjazdów zagranicznych.

Za działalność naukową Habilitantka została dwukrotnie uhonorowana Zespołowymi Nagrodami Naukowymi Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego w latach 2009 za pracę zespołową nad analizą peroksydacji lipidów i degradacji nukleotydów adeninowych w łożysku ludzkim oraz 2016 za zastosowanie nowoczesnych metod w analizie substancji endogennych i ich metabolitów. Ponadto ważnym z punktu widzenia kariery zawodowej naukowca wydaje się fakt uhonorowania nagrodą za najlepszą prezentację posterową podczas konferencji krajowej w 2018 roku. Niemniej jednak nie ulega wątpliwości, iż wyróżnienie publikacji wchodzącej w skład osiągnięcia naukowego, jako jednej z pięciu najlepszych w 2019 roku w czasopiśmie *Environmental Science & Technology Letters (American Chemical Society)*, można uznać za znaczące osiągnięcie.

Pani dr ROSZKOWSKA rozumie potrzeby nieustannego kształcenia. W ramach rozwoju kompetencji naukowo – badawczych, ze względu na profil prowadzonych badań, brała udział w licznych szkoleniach i kursach. Jest specjalistką z zakresu nowych procedur w badaniach na zwierzętach oraz mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej (SPME). Brała udział w spotkaniach poświęconych pracom nad rozwojem obszarów badań farmaceutycznych, klinicznych i metabolicznych, służących medycynie spersonalizowanej i rozwojowi nowych metod diagnostyki terapii i analiz środowiskowych.

Ocena osiągnięcia naukowego stanowiącego podstawę habilitacji

Osiągnięcie naukowe Kandydatki stanowi cykl 5 publikacji (prac oryginalnych) powiązanych tematycznie, opublikowanych w latach 2018-2019, o tytule ***Strategia analityczna w badaniach metabolomicznych, klinicznych i środowiskowych oparta na mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej (SPME) w warunkach in vivo.*** Wszystkie wskazane pozycje to prace współautorskie (5-9 autorów), w 4 pracach Habilitantka jest

Śląski Uniwersytet Medyczny
Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu
Katedra i Zakład Farmacji Fizycznej

pierwszym autorem, a jej wkład jest wiodący i zalicza się do niego: zaprojektowanie doświadczenia lub współdziałanie w opracowaniu eksperymentu i wykonaniu doświadczeń związanych z techniką SPME, interpretacji wyników analiz, przygotowywaniu manuskryptu. Publikacja, w której jest współautorem, czwartym spośród pięciu, również jest wynikiem znacznego wkładu Pani dr ROSZKOWSKIEJ w jej powstanie, gdzie zajmowała się wykonaniem analiz SPME oraz interpretacją wyników wraz z współtworzeniem pracy. We wszystkich pracach Habilitantka odpowiadała na odpowiedzi do recenzentów. Treści dołączonych oświadczeń potwierdzają wyczerpująco opisowy wkład współautorów.

Tabela I Zestawienie danych dotyczących artykułów naukowych wchodzących w skład osiągnięcia naukowego

Nr	Tytuł czasopisma	Rok publikacji	IF	Wskaźnik MNiSW	Wydawca czasopisma
1	<i>Scientific Reports</i>	2018	4.011	40	<i>Nature</i>
2	<i>Environmental Science & Technology Letters</i>	2018	6.934	140	<i>American Chemical Society</i>
3	<i>Environmental Pollution</i>	2019	5.714	100	<i>Elsevier</i>
4	<i>Talanta</i>	2018	4.916	40	<i>Elsevier</i>
5	<i>Analytical Chemistry</i>	2019	6.350	140	<i>American Chemical Society</i>
Σ 1-5			27.925	460	

Jak wynika z danych zawartych w Tabeli I, prace zostały opublikowane w latach 2018-2019, co świadczy o dynamicznym w tym czasie wzroście liczby pozycji naukowych w dorobku Habilitantki, która afiliując we wszystkich pracach Department of Chemistry, University of Waterloo, gdzie w latach 2016-2017 przebywała na stażu podoktorskim w grupie prof. Pawliszyna, wskazała tę jednostkę na miejsce wykonania wszystkich doświadczeń i analiz. Wszystkie publikacje zostały zamieszczone w bazie *Journal of Citation Reports (JCR)*.

Biorąc pod uwagę fakt, iż opisane w w/w pracach eksperymenty, uzyskane wyniki oraz ich interpretacja zostały zweryfikowane pod względem merytorycznym przez niezależnych recenzentów (w procesie *peer review*), w niniejszej recenzji dokonam jedynie analizy zawartości poszczególnych prac z uwzględnieniem ich spójności tematycznej i zgodności z nadanym przez Habilitantkę tytułem osiągnięcia naukowego.

Jakościowe i ilościowe oznaczanie związków endogennych i ksenobiotyków w materiale biologicznym wymaga ekstrakcji analitów za pomocą konwencjonalnych technik, które oparte są na ekstrakcji typu ciecz-ciecz (ang. *liquid-liquid extraction*, LLE), ekstrakcji do fazy stałej (ang. *solid-phase extraction*, SPE), lub prostej technice strącania białek (ang. *protein precipitation*, PPT). Niestety narzędzia te posiadają szereg wad związanych z długim czasem trwania analizy i zużyciem dużych ilości rozpuszczalników organicznych. Biorąc pod uwagę powyższe oraz potrzebę stosowania technologii z zachowaniem zasad tzw. *green chemistry*, poszukiwanie nowoczesnych technik przygotowania próbek do analizy, takich jak mikroekstrakcja do fazy stałej (ang. *solid phase microextraction*, SPME) oraz opracowanie strategii analitycznych w badaniach opartych na technice SPME do izolacji metabolitów oraz wybranych leków z tkanek organizmów żywych stało się inspiracją do prowadzenia przez Habilitantkę badań, które opublikowała w pracach zgłoszonych w formie cyklu do habilitacji. Technika SPME, opracowana w latach 90-tych XX wieku przez profesora Janusza Pawliszyna z University of Waterloo w Kanadzie, niegdyś stosowana tylko do analizy próbek środowiskowych, dziś znana jest jako narzędzie w badaniach leków i substancji endogennych w obszarze badań farmaceutycznych i biomedycznych. Dzięki równoczesnej

Śląski Uniwersytet Medyczny
Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu
Katedra i Zakład Farmacji Fizycznej

izolacji i zateżenia analitów oraz oczyszczaniu próbki jest szybką, prostą i wydajną techniką ekstrakcji związków z różnych matryc wraz z ich bezpośrednią analizą przy użyciu metod instrumentalnych. Reasumując, technika, którą zajmowała się Habilitantka – *in vivo* SPME – pozwala na monitorowanie poziomu substancji leczniczych oraz związków endogennych w czasie rzeczywistym w organizmach żywych.

Analizując treść poszczególnych publikacji zaobserwować można pewną prawidłowość. We wszystkich pracach głównym narzędziem badawczym Kandydatki była technika mikroekstrakcji do fazy stałej (SPME) a jej nowatorski charakter w aspekcie zastosowania w analizach metabolomicznych i badaniach środowiskowych oraz klinicznych podkreślono odpowiednio w pracach [H1-H3] oraz [H4-H5]. Głównymi celami badawczymi ujętymi w ramach osiągnięcia naukowego były *i) in vivo* SPME analiza profilu lipidomicznego mięśni żywych ryb oraz wpływ temperatury i czasu przechowywania na zmiany zachodzące w tkance, *ii) in vivo* SPME analiza środowiskowa profilu metabolomicznego mięśni żywych ryb i poszukiwanie markerów zmian na poziomie molekularnym u ryb żyjących w warunkach naturalnych i laboratoryjnych, *iii) opracowanie metody oznaczania doksorubicyny w tkance płucnej za pomocą techniki SPME-LC/MS poprzez optymalizację parametrów wpływających na izolację leku z płuc podczas zabiegu operacyjnego i pomiar frakcji wolnej leku ekstrahowanego z tkanki płucnej na podstawie analiz laboratoryjnych i opracowanie matematycznego modelu *in silico*.*

Zastosowanie technologii *in vivo* SPME w niecelowanych analizach metabolomicznych i badaniach środowiskowych, jako temat przewodni prac [H1-H3] mają charakter praktyczny. Ze względu na to, że tradycyjne techniki ekstrakcji używane w analizach niestety mają często pewne ograniczenia. Nie dość, że małowzrostkowe związki endogenne, będące potencjalnymi markerami chorób, występują w bardzo niskich stężeniach, w tego typu badaniach stosuje się standardowy protokół analityczny obejmujący pobranie tkanki, przechowywanie/mrożenie, homogenizację czy użycie rozpuszczalników organicznych, które mogą prowadzić do dezaktywacji lub/i degradacji metabolitów, zaburzając obraz metabolomu. Dlatego wykonanie ekstrakcji bez konieczności pobierania materiału biologicznego, czym zajmowała się dr ROSZKOWSKA, było niezwykle zasadne. Fundusze na realizację tego typu badań zostały pozyskane z Resortu Środowiska rządu kanadyjskiego w ramach funduszu, którego celem było przeciwdziałanie zniszczeniom środowiska naturalnego. Habilitantka *in vivo* oraz *ex vivo* ekstrakcję SPME przeprowadziła odpowiednio z mięśni ryb przed zamrożeniem przy użyciu włókien typu *mixed-mode* oraz z rozmrożonych, homogenizowanych tkanek ekstrakcją SLE (ang. *solid-liquid extraction*) [H1]. By ocenić wpływ temperatury przechowywania i czasu na profil matabolomiczny mięśni ryb, do czasu analizy instrumentalnej włókna *mixed-mode* były przechowywane rok w temperaturze -80°C. Do opisywania i zobrazowania zależności profilu lipidomicznego zastosowano metody statystyczne i bioinformatyczne. Pani dr wskazała, iż długoterminowe przechowywanie próbek negatywnie wpływa na stabilność związków małowzrostkowych, co zapewne podkreśla zalety techniki SPME. Potwierdziła, iż istotą technologii *in vivo* SPME jest możliwość ekstrakcji krótkotrwałych związków przejściowych oraz niestabilnych metabolitów należących jedynie do wolnej frakcji analitów obecnych w matrycy. Ponadto priorytetowym stwierdzeniem Habilitantki jest fakt, iż rodzaj techniki ekstrakcji obok warunków przechowywania próbek biologicznych jest kluczowym elementem procesu analitycznego, mającym istotny wpływ na uzyskany profil danych lipidomicznych. Jak donoszą dane literaturowe, zmiany na poziomie molekularnym zachodzące w organizmach żywych pod wpływem różnych bodźców (zanieczyszczenie, drobnoustroje, ksenobiotyki) stanowią podstawy tzw. ekspozomu. Kandydatka umiejętnie zagłębiła temat ekspozomu, prowadząc przy użyciu technologii *in vivo* SPME badania jego wpływu na profil metabolomiczny ryb poddanych ekspozycji na benzo[a]piren (BaP) [H2]. Ekstrakcję *in vivo* SPME wykonano w warunkach laboratoryjnych, poddając badaniu ten sam gatunek ryb, który został opisany w pracy [H1], używając także włókien typu *mixed-mode*. Pani ROSZKOWSKA potwierdziła istotny wpływ obecnego w środowisku wodnym związku toksycznego na procesy biochemiczne ryb. Obecność

Śląski Uniwersytet Medyczny
Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu
Katedra i Zakład Farmacji Fizycznej

BaP w środowisku może powodować zmiany metaboliczne w organizmie żywym. Ponieważ BaP powstaje w wyniku niepełnego spalania substancji organicznych i występuje w dymie papierosowym i spalinach, może powodować działanie rakotwórcze, mutagenne i cytotoksyczne. Dlatego przeprowadzone badania nad wpływem tej substancji na organizm po raz kolejny potwierdzają celowość stosowania technologii SPME, a wyróżnienie pracy jako jednej z pięciu najlepszych publikacji w 2018 roku czasopisma *Environmental Science & Technology Letters* dodatkowo podkreśla osiągnięcia Habilitantki. W warunkach naturalnych czynniki środowiskowe mogą wpływać na przemiany metaboliczne w sposób synergistyczny, addytywny, antagonistyczny. Niestety taka analiza kompletnego metabolomu jest procesem bardzo skomplikowanym, który wymaga użycia zaawansowanych narzędzi analitycznych i bioinformatycznych. Podobnie jak w przypadku pracy [H2], Habilitantka podjęła się próby analizy wpływu czynników środowiskowych na organizm ryb żyjących w warunkach naturalnych [H3]. Biorąc udział w badaniach będących częścią projektu mającego na celu ocenę stanu środowiska w obszarach wydobywania ropy naftowej i śledzenie zmian w ekosystemie w trakcie rozwoju przemysłu naftowego. Zastosowano technikę *in vivo* SPME, która umożliwiła jednocześnie ekstrakcję i oznaczenie związków toksycznych i endogennych metabolitów w mięśniach, co przyczyniło się do uzyskania wartościowych informacji na temat zmian metabolicznych korelujących z miejscem przebywania tryb i rodzajem toksyn obecnych w ich mięśniach. W pracy użyto ostrzy ze złożem typu C18, które wykazuje wysokie powinowactwo do związków o naturze hydrofobowej, np. toksycznych, które były przedmiotem badań. *in vivo* SPME jest skuteczną techniką do ekstrakcji wielu substancji toksycznych, a równoczesna identyfikacja specyficznych tkankowo związków, które powstały w wyniku zmienionego metabolizmu, mogące służyć jako biomarkery określające stopień ekspozycji organizmów na zanieczyszczenie środowiska, pozwoliła Habilitantce na ogólne stwierdzenie, iż jest niezwykle użytecznym narzędziem do monitorowania wpływu ekspozycji na zmiany metabolizmu organizmów wodnych.

SPME w analizie leków na przestrzeni ostatnich lat stało się bardzo popularne, ze względu na to, iż umożliwia określenie nawet śladowych ilości związków w próbkach środowiskowych, żywnościowych i materiale biologicznym. Główną zaletą SPME jest izolacja jedynie wolnej frakcji leku, która determinuje biodostępność i aktywność substancji czynnej. Technika *in vivo* SPME w badaniach klinicznych może być uznawana za wiodące narzędzie, zwłaszcza, że ostatnimi czasy uzyskała zgodę na użycie do badań w warunkach *in vivo* u ludzi. W szpitalu Toronto General Hospital w Kanadzie technologia ta stała się elementem składowym badań klinicznych pierwszej fazy, dotyczących monitorowania stężenia i dystrybucji doksorubicyny w płatach płuc, podczas nowatorskiej techniki leczenia przerzutów, gdzie chemioterapeutyk podawany jest bezpośrednio do płuc, z pominięciem krążenia układowego u pacjenta. Pani ROSZKOWSKA podczas pobytu na rocznym stażu w Kanadzie brała udział w realizacji grantu dotyczącego opracowania strategii terapii nowotworu płuc poprzez monitorowanie chemioterapii w czasie rzeczywistym, w miejscu badań. Mając na uwadze praktyczne wykorzystanie metodologii w dalszych badaniach na ludziach, Habilitantka wraz z zespołem badawczym włożyli ogrom pracy w opracowanie szczegółowego, a przede wszystkim precyzyjnego protokołu użycia włókien *in vivo* SPME do oznaczenia stężenia doksorubicyny w różnych płatach płuc, by określić dotąd nieznaną terapeutyczną dawkę leku podanego bezpośrednio do płuc [H4, H5]. Praca polegała na optymalizacji SPME, co obejmowało wpływ wyjąławiania włókien *mixed-mode* (złożonych z C-18 i kwasu benzenosulfonowego) na wydajność ekstrakcji, wybór odpowiedniej ilości homogenatu tkankowego, wybór metody kalibracji oraz sposobu pomiaru stężenia leku [H4]. Jako materiału do badań testowych użyto płuc jagnięcych. Po raz kolejny udowodniono, iż zastosowana technika umożliwia w sposób prosty i precyzyjny, bez konieczności pobierania próbek, wykonanie analiz. Pani dr wykazała, iż model matrycy zastępczej oraz prowadzenie ekstrakcji *ex vivo* SPME może stanowić optymalne narzędzie analityczne do przełożenia na warunki analiz klinicznych, celem monitorowania w przyszłości stężenia innych leków podczas nowatorskich metod chemioterapii. Prócz badań prowadzonych w laboratorium (*ex vivo*) dr ROSZKOWSKA wykonała także badania na modelu matematycznym (*in silico*) przy użyciu odpowiedniego

Śląski Uniwersytet Medyczny
Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu
Katedra i Zakład Farmacji Fizycznej

programu komputerowego, aby określić kinetykę ekstrakcji leku [H5]. Aby móc wyznaczyć pełny profil kinetyki ekstrakcji leku, zakres badań, który wykonano, obejmował pomiary stopnia ekstrakcji dokсорubicyny przez włókna SPME w stanie równowagi i *pre-equilibrium* z płynnej matrycy, tj. roztwór PBS, bez i w obecności albuminy surowicy krwi ludzkiej oraz ze stałej matrycy, tj. żel agarozowy oraz homogenat tkanki płucnej. Za pomocą dostępnych narzędzi po raz pierwszy opracowano model, który posłużył do obliczenia stopnia wiązania leku z elementami tkankowymi (białka, DNA i błony komórkowe) oraz wyznaczono stężenie wolnej frakcji leku w tkance płucnej. Na uwagę zasługuje fakt, iż tak opracowana metoda została z sukcesem zastosowana u dwóch pacjentów poddanych procedurze opisanej powyżej (perfuzja płuc *in vivo*) w Toronto General Hospital. Prócz ekstrakcji dokсорubicyny udało się także wyekstrahować małowymaglowe związki endogenne. Ustalono, iż u pacjentów poddanych terapii zmienia się profil metabolomiczny. Niezwykle istotnym było także połączenie SPME-MS i zastosowanie tego narzędzia do celów klinicznych i terapeutycznych ze względu na dostarczanie informacji na temat stężenia leku i zastosowanie odpowiednich dawek podczas zabiegów, co stanowić może wymierny efekt prowadzenia badań.

Biorąc pod uwagę *i*) nowoczesność techniki mikroekstrakcji do fazy stałej (*solid phase microextraction*, SPME) w badaniach na żywych organizmach (*in vivo*) w niecelowanych analizach metabolomicznych, badaniach środowiskowych oraz terapeutycznym monitorowaniu leków, *ii*) potencjał technologii *in vivo* SPME w poszukiwaniu biomarkerów zmian na poziomie molekularnym (nawet dla związków mało stabilnych i występujących w śladowych ilościach w materiale biologicznym, *iii*) prowadzenie eksperymentów z zachowaniem najwyższych standardów i jakości analiz, moim zdaniem można uznać, iż osiągnięcie Habilitantki może stanowić przełom w celowanych i niecelowanych analizach i wnosi istotne znaczenie praktyczne.

Ocena pozostałego dorobku naukowego

Poza cyklem publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe, dorobek dr ROSZKOWSKIEJ to 13 publikacji naukowych, w tym 7 prac oryginalnych, 5 prac poglądowych i popularno-naukowych oraz 1 rozdział w monografii naukowej.

Biorąc pod uwagę dorobek naukowy Habilitantki poza cyklem prac zgłoszonych do habilitacji, jak już wcześniej wspomniano, początkowo głównym tematem zainteresowań była ocena właściwości deaminazy AMP łożyska ludzkiego, co w głównej mierze stanowiło podstawę rozprawy doktorskiej. W toku realizowanej pracy magisterskiej a potem doktorskiej dr ROSZKOWSKA nabyła doświadczenie naukowo – badawcze w zakresie metod chromatograficznych oraz pomiarów kolorymetrycznych i spektrofotometrycznych. Aż do dnia dzisiejszego, zainteresowania naukowe Habilitantki związane są z rozwijaniem umiejętności analitycznych poprzez opracowywanie nowych protokołów przygotowania próbek do analizy stosując różne techniki ekstrakcji w celu izolacji i oznaczania metabolitów. Swoją wiedzę i doświadczenie wykorzystwała podczas współpracy z Kliniką Pediatrii, Gastroenterologii, Hepatologii i Żywienia Dzieci oraz Kliniką Pediatrii, Hematologii i Onkologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego (GUMed). Wówczas rozpoczęła badania przy użyciu techniki opartej na mikroekstrakcji do upakowanej strzykawki (ang. *microextraction in packed syringe*, MEPS), stosując metodę LC-HILIC-MS oraz dyspersyjnej mikroekstrakcji ciecz-ciecz a owocem współpracy były dwie prace wpisujące się w tematykę z zakresu badań biomedycznych. Stosując technikę SPME, która stała się wiodącym narzędziem badawczym w rękach Pani doktor, uczestniczyła w badaniach ekstrakcji endogennych metabolitów z fragmentów mięśni pacjentów ze złośliwą hipertermią, poszukując markerów w/w choroby i korelując uzyskane wyniki z badaniami genetycznymi, co budzi nadzieję na wykorzystanie opracowanego profilu biochemicznego jako narzędzia diagnostycznego u takich pacjentów. Ponadto realizowała plan badawczy, który dotyczył zastosowania włókien *in vivo* SPME do oznaczenia profilu metabolomicznego i zmian zachodzących na poziomie molekularnym w płucach podczas

Śląski Uniwersytet Medyczny
Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu
Katedra i Zakład Farmacji Fizycznej

wielogodzinnego zabiegu perfuzji płuc oraz opracowania wyników niecelowanych analiz metabolomicznych oraz określenia poziomu leków przeciwnowotworowych do płuc po zabiegu perfuzji. Kandydatka do chwili obecnej współpracuje z grupą badawczą profesora Pawliszyna w Uniwersytecie w Waterloo oraz University of Toronto i Toronto General Hospital, kontynuując temat związany z profilowaniem metabolomicznym surowicy krwi pacjentów chorych na łuszczycę i łuszczycowe zapalenie stawów. Głównym celem badań jest poszukiwanie nowych markerów służących szybszej diagnozie pacjentów z w/w jednostką chorobową, i nie budzi wątpliwości, iż będzie to stanowiło praktyczny aspekt badań. Pani ROSZKOWSKA nie zaprzestała badań z wykorzystaniem techniki SPME w analizach metabolomicznych, co więcej, można uznać iż staż podoktorski i współpraca dodatkowo rozbudziły w Kandydatce entuzjazm badawczy. Stała się często wybieranym recenzentem publikacji naukowych w czasopiśmie o pokaźnym współczynniku oddziaływania. W latach 2017-2020 zrecenzowała 15 prac. Ścisłe współpracując z Katedrą Farmakodynamiki i Farmakologii Molekularnej Collegium Medicum w Bydgoszczy oraz Katedrą i Zakładem Anatomii GUMed intensywnie pracuje nad opracowaniem metody jednoczesnej izolacji i oznaczania endogennych kannabinoidów z mózgu szczura, korelując wyniki z poziomem receptorów dla endokannabinoidów w oparciu o analizy immunohistochemiczne. Ze względu na to, iż związki te występują w materiale biologicznym na bardzo niskim poziomie, opracowanie protokołu analitycznego opartego o ekstrakcję SPME i analizę LC-MS/MS przez zespół badawczy z udziałem Pani dr budzi na przyszłość nadzieję na rozpoczęcie monitorowania poziomu tych metabolitów w warunkach *in vivo* w różnych strukturach mózgu. Kolejne zainteresowania badawcze Habilitantki związane są z niecelowanymi analizami proteomicznymi prowadzonymi na mózgu myszy, uwzględniając wpływ płci na skład białek mózgowych, w oparciu o ponowną współpracę z Katedrą i Zakładem Anatomii GUMed oraz Laboratorium Spektrometrii Mas Międzyuczelnianego Wydziału Uniwersytetu Gdańskiego i GUMed. Kontynuując tematykę monitorowania stężenia leków w konwencjonalnych i niekonwencjonalnych matrycach biologicznych (krew i ślina), wraz z Kliniką Psychiatrii Dorosłych GUMed, zajmowała się optymalizacją technik mikroekstrakcji (DLLME i SPME). Prócz atypowych leków przeciwpsychotycznych, opracowuje także metodę ekstrakcji i analizy leków w immunosupresyjnych w osoczu a wymiernym efektem Jej pracy jest zgłoszenie wniosku do finansowania we współpracy z Uniwersytetem w Roztoku. Habilitantka jest bardzo aktywna naukowo. Wiedzę i dotychczasowe doświadczenie opublikowała w pracy przeglądowej (IF 2.441, MNiSW = 30), która w latach 2018-2019 uplasowała sobie wysoką pozycję wśród najczęściej czytanych publikacji czasopisma *Journal of Separation Science*. Poza zaangażowaniem Kandydatki w przytoczoną wyżej tematykę badawczą, opartą w każdym punkcie o współpracę i wspólne publikacje/projekty, Pani dr dosyć zwięźle określiła swoje plany naukowe na przyszłość, tj. studia metabolomiczne, analizy farmaceutyczne związków endogennych oraz współpraca, która w tego typu badaniach jest nieoceniona.

Z przedstawionej dokumentacji wynika, że Pani dr A. ROSZKOWSKA uczestniczyła w realizacji różnego typu projektów badawczych. W latach 2005-2007 była kierownikiem projektu Akademii Medycznej w Gdańsku na badania własne. Podczas stażu podoktorskiego w Uniwersytecie w Waterloo była współwykonawcą projektu Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada i Canadian Institutes of Health Research oraz Environmental Damages Fund, z których pozyskane fundusze wspomogły prowadzone badania a wymiernym efektem jest pochodzący z tego czasu dorobek naukowy Kandydatki. Można uznać, iż staż naukowy Habilitantki odegrał pozytywną rolę w Jej życiu naukowym, wpływając pozytywnie nie tylko na wzrost wskaźników naukowych lecz także świadomość dr Roszkowskiej o potrzebie poszukiwania źródeł finansowania badań naukowych. Mimo iż brała udział w kilku spotkaniach poruszających zagadnienia m.in. nawiązywania kontaktów i prowadzenia projektów unijnych, w mojej ocenie bez odwagi w myśleniu i działaniu naukowym nie miałaby na swoim koncie 9 złożonych wniosków do Narodowego Centrum Badań i Rozwoju, Narodowego Centrum Nauki czy Komitetu Badań Naukowych, jako kierownik lub współwykonawca projektu, z czego 2 czekają na

Śląski Uniwersytet Medyczny
Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu
Katedra i Zakład Farmacji Fizycznej

rozstrzygnięcie. Biorąc pod uwagę aktywność Habilitantki nie dziwi także fakt, iż jest obecnie członkiem kilku krajowych organizacji i towarzystw naukowych (Gdańska Okręgowa Izba Aptekarska, Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne, Polskie Towarzystwo Farmakologiczne i Europejski Związek Towarzystw Farmakologicznych oraz Międzynarodowa Unia Farmakologii Podstawowej i Klinicznej), które czynią ją obecną w środowisku farmaceutycznym.

Uwagi

Zarówno osiągnięcie naukowe, jak i pozostały dorobek naukowy dr Anny ROSZKOWSKIEJ oceniam bardzo wysoko, ale mam pewne uwagi, których z racji stanowiska Recenzenta nie mogę pominąć. W trakcie swojej kariery naukowej, zwłaszcza po powrocie z rocznego stażu zagranicznego, Kandydatka nie sprawowała opieki nad doktorantami w charakterze opiekuna naukowego lub promotora pomocniczego. W mojej ocenie, posiadając doświadczenie naukowe, które zdobyła w tak krótkim czasie, byłaby wartościową podporą merytoryczną promotora. Habilitantka nie brała udziału w komitetach redakcyjnych i radach naukowych czasopism. Nie znalazłam także informacji na temat recenzowania prac magisterskich, czy licencjackich. Zgodnie z zapisem w Rozdziale 1, &5 pkt. 2 Uchwały nr 34/2019 Senatu Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego z dnia 27 maja 2019 r. (załącznik nr 5 do Uchwały nr 109/2019 Senatu GUMed z dnia 12.12.2019 r.), dotyczącym szczegółowego trybu postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego, w przypadku, gdy praca zbiorowa ma więcej niż pięciu współautorów, obowiązkiem Habilitanta jest dołączenie prócz oświadczenia określającego w sposób opisowy jego indywidualny udział, procentowy wkład, czego Habilitantka nie zamieściła. Brakuje też w dorobku Pani dr współpracy z otoczeniem społecznym i gospodarczym, w szczególności ujmującym zgłoszenia patentowe, wdrożone technologie czy udział w zespołach eksperckich. Niemniej jednak wymienione uwagi nie umniejszają w żaden sposób wartości dorobku Kandydatki, który oceniam bardzo wysoko.

3. Ocena działalności dydaktycznej, organizacyjnej, popularyzującej naukę lub sztukę oraz współpracy międzynarodowej

Pozostałe formy aktywności Kandydatki, m.in. w ramach działalności dydaktycznej, organizacyjnej, popularyzującej naukę lub sztukę oraz współpracy międzynarodowej czy udziału w rozwoju młodej kadry nie budzą również żadnych zastrzeżeń. Była opiekunem 3 prac magisterskich studentów Wydziału Farmaceutycznego GUMed, sprawowała opiekę merytoryczną nad studentami zagranicznymi w ramach praktyk czy wymiany. Ponadto jest opiekunem Studenckiego Koła Naukowego przy Katedrze, w której pracuje, a otrzymane wyniki były prezentowane na krajowych konferencjach naukowych.

Z załączonych materiałów jasno wynika, że Habilitantka posiada bardzo bogate doświadczenie dydaktyczne ze studentami farmacji, kierunku lekarsko-dentystycznego, lekarskiego, pielęgniarstwa i położnictwa, w ramach kształcenia przeddyplomowego, prowadząc zajęcia obowiązkowe z przedmiotów takich jak: Chemia Farmaceutyczna, Biochemia, ponadto Farmakologia i Toksykologia oraz Biochemia i Farmakologia Kliniczna dla studentów kierunku lekarskiego English Division, fakultatywne z zakresu „Wpływu substancji psychoaktywnych na funkcjonowanie organizmu ludzkiego”, również dla studentów Studiów Doktoranckich (Praktyczne aspekty izolacji substancji biologicznie czynnych z próbek biologicznych, farmaceutycznych i środowiskowych) oraz kształcenia podyplomowego w ramach kursu specjalizacyjnego dla diagnostów laboratoryjnych (wykład pt. Farmakogenomika w onkologii). O jej doświadczeniu świadczą także kursy, w których uczestniczyła w ramach rozwoju kompetencji dydaktycznych, tj. kurs dla nauczycieli akademickich w Uniwersytecie w Waterloo, z zakresu ochrony danych osobowych, podniesienia kompetencji kadry dydaktycznej oraz pedagogiki dorosłych.

Śląski Uniwersytet Medyczny
Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu
Katedra i Zakład Farmacji Fizycznej

W ramach popularyzacji nauki należy podkreślić udział Kandydatki w Ogólnopolskiej Konferencji Naukowo-Szkoleniowej Ratownictwo w Zintegrowanym Systemie, gdzie wygłosiła wykład nt. działania substancji psychoaktywnych a użycie paralizatora elektrycznego. W odpowiedzi na zaproszenie studentów Studenckiego Koła Naukowego przy Zakładzie Anatomii i Neurobiologii GUMed przedstawiła swoje wyniki badań.

Biorąc pod uwagę aktywność organizacyjną Habilitantki, pragnę podkreślić, iż mimo obowiązków dydaktycznych i naukowych, w Jej dorobku znajdują się też w tym zakresie osiągnięcia, w tym m.in. udział w organizacji Międzynarodowego Konkursu Wiedzy Neurobiologicznej Brain Bee, Międzynarodowej Konferencji Naukowej CECE'2019 oraz Konferencji Naukowej Wydziału Farmaceutycznego GUMed.

Wnioski końcowe

W mojej opinii dr n. farm. Anna ROSZKOWSKA spełnia niemalże wszystkie kryteria określone w art. 219 ust. 1 pkt 2 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 późn. zm.), stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora habilitowanego. Jest cenionym nauczycielem akademickim – wszechstronnym dydaktykiem i uznanym specjalistą w dyscyplinie nauk farmaceutycznych. Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora nauk farmaceutycznych, a w szczególności po powrocie z rocznego stypendium zagranicznego, Habilitantka znacznie powiększyła swój dorobek publikacyjny o prace opublikowane w czasopismach znajdujących się na liście filadelfijskiej o zasięgu międzynarodowym. W mojej ocenie, na podstawie przedstawionego Autoreferatu i dostępnych źródeł uważam, iż Jej dorobek naukowy jest spójny tematycznie, noszący znamiona cech nowatorskich, świadczący o dojrzałości naukowej Habilitantki, która nieustannie doskonali swój warsztat badawczy.

Dr n. farm. Anna ROSZKOWSKA bezsprzecznie wnosi znaczny wkład w rozwój dyscypliny nauk farmaceutycznych dotyczący zastosowania mikroekstrakcji do fazy stałej SPME w badaniach metabolicznych, klinicznych i środowiskowych. Osiągnięcie naukowe Habilitantki poświęcone SPME stanowi znaczący element Jej dorobku naukowego. Panią dr ROSZKOWSKĄ cechuje umiejętność posługiwania się nowatorską techniką badawczą, zarówno z punktu widzenia wiedzy podstawowej, jak i znaczenia praktycznego, a wdrożenie opracowywanych przez nią strategii analitycznych do badań na ludziach, to tylko kwestia czasu. Uważam, iż środowisko naukowe wiele zyska, gdy do grona samodzielnych naukowców dołączy Pani dr Anna ROSZKOWSKA.

Podsumowując stwierdzam, że zarówno dorobek naukowy, jak i prowadzona działalność dydaktyczna oraz popularyzatorska dr n. farm. Anny ROSZKOWSKIEJ są wystarczające, a przedstawiony do recenzji cykl 5 prac pełnotekstowych powiązanych tematycznie o sumarycznym wskaźniku *Impact Factor* 27.925 i liczbie punktów MNiSW 460 spełnia podstawowe wymogi formalne stawiane rozprawom habilitacyjnym. Uważam, iż Habilitantka jest bardzo dobrze merytorycznie przygotowana do samodzielnej pracy naukowej, która wymaga organizacji warsztatu badawczego, kierowania zespołem badawczym i pozyskiwania funduszy. Mając na uwadze powyższe, z pełną świadomością przedkładam Wysokiej Radzie Nauk Farmaceutycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o dopuszczenie dr n. farm. Anny ROSZKOWSKIEJ do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

Recenzent: dr hab. n. farm. Małgorzata MACIĄŻEK-JURCZYK, prof. SUM

KIEROWNIK
Katedry i Zakładu Farmacji Fizycznej
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

dr hab. n. farm.
Małgorzata Maciążek-Jurczyk prof. SUM