

Prof. dr hab. Piotr Wroczyński  
Kierownik Katedry Farmacji Fizycznej i Bioanalizy  
Warszawski Uniwersytet Medyczny

Warszawa 10.06.2021

**Recenzja dorobku naukowego dr nauk farm. Eweliny Dziurkowskiej,  
zatrudnionej w Katedrze i Zakładzie Chemii Analitycznej Wydziału Farmaceutycznego  
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego,  
w związku z postępowaniem o nadanie stopnia doktora habilitowanego  
w dziedzinie nauk medycznych, w dyscyplinie nauki farmaceutyczne**

**Strona formalna**

Przedstawioną poniżej ocenę przeprowadzono na podstawie dostarczonych, następujących materiałów:

1. wniosek z dnia 11. 12. 2020 Pani dr n. farm. Eweliny Dziurkowskiej za pośrednictwem Rady Nauk Farmaceutycznych o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego
2. autoreferat
3. analiza bibliometryczna publikacji autorstwa Pani dr n. farm. Eweliny Dziurkowskiej przygotowaną przez Bibliotekę Główną GUM
4. wykaz osiągnięć naukowych
5. kopie prac będących podstawą postępowania habilitacyjnego, w tym stanowiące wskazane przez Habilitanta osiągnięcie naukowe
6. oświadczenia współautorów
7. dane wnioskodawcy
8. kopia dokumentu potwierdzającego nadanie stopnia doktora

Pani dr n. farm. Ewelina Dziurkowska przedłożyła do oceny dokumenty, zgodnie z wymogami formalnymi określonymi na podstawie art. 221 ust. 10 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce, wskazując we wniosku jako jednostkę naukową do przeprowadzenia postępowania habilitacyjnego Radę Nauk Farmaceutycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego w Gdańsku. Dnia 21. 04. 2021 r. Rada Nauk

Farmaceutycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego Uchwałą nr 36/2021 z dnia 13.04.2021 powołała mnie jako recenzenta w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego Pani dr Ewelinie Dziurkowskiej, adiunktowi Katedry i Zakładu Chemii Analitycznej Wydziału Farmaceutycznego Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

### **Informacje ogólne o kandydacie**

Dr nauk farmaceutycznych Ewelina Dziurkowska uzyskała dyplom magistra farmacji na Gdańskim Uniwersytecie Medycznym na Wydziale Farmaceutycznym w Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej w roku 2003 broniąc pracę magisterską pod tytułem „*Oznaczanie florfenikolu w osoczu krwi metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej*”, a dyplom doktora nauk farmaceutycznych uzyskała, również na Gdańskim Uniwersytecie Medycznym na Wydziale Farmaceutycznym w Katedrze i Zakładzie Chemii Analitycznej w roku 2011 broniąc pracę doktorską pod tytułem „*Wpływ leków przeciwdepresyjnych na poziom kortyzolu w ślinie kobiet z depresją*”. W latach 2003 – 2008 była zatrudniona jako asystent w Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej, a od roku 2008 jako asystent, a obecnie adiunkt w Katedrze i Zakładzie Chemii Analitycznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

### **Wskazane osiągnięcie naukowe**

Przedstawione przez Panią dr Ewelinę Dziurkowską osiągnięcie naukowe pod tytułem „*Ślina jako materiał diagnostyczny do analizy leków psychotropowych*” stanowi zwarty i w pełni uzasadniony cykl publikacji dotyczących badań nad wykorzystaniem śliny jako alternatywnego do krwi materiału diagnostycznego do analizy stężenia leków przeciwdepresyjnych i przeciwpsychotycznych. Badania dotyczyły osób leczonych związkami psychotropowymi z wykorzystaniem do izolacji substancji aktywnych ekstrakcji do fazy stałej. Należy również podkreślić, że przedstawione osiągnięcie naukowe będące podstawą do wszczęcia postępowania habilitacyjnego jest kontynuacją badań nad wykorzystaniem śliny jako materiału diagnostycznego i związanych z tym metod izolacji substancji aktywnych było zapoczątkowane i przedstawione w pracy doktorskiej. Przedstawiony do oceny cykl publikacji zawiera 6 prac, w których są przedstawione metody oczyszczania śliny i izolacji związków stosowanych w chorobach takich jak depresja, schizofrenia czy afektywna choroba dwubiegunowa. Łączny współczynnik oddziaływania IF

prac stanowiących osiągnięcie naukowe wynosi 16,392 i 390 punktów MNiSW. Poza osiągnięciem habilitacyjnym po doktoracie Pani dr Ewelina Dziurkowska opublikowała 10 prac o łącznym współczynniku oddziaływania IF o wartości 15,227 i punktacji MNiSW równej 315. Tak więc całkowity dorobek po doktoracie wynosi IF: 31, 619 i 705 punktów MNiSW. Indeks Hirscha według bazy Web of Science i według bazy Scopus wynosi 4.

### **Ocena osiągnięć naukowych, które stanowią podstawę postępowania habilitacyjnego**

W terapii zaburzeń psychicznych bardzo ważnym zagadnieniem jest odpowiednie monitorowanie przebiegu leczenia. Dotyczy to zarówno doboru odpowiedniej dawki leku, jak i jego metabolizmu. Monitorowanie pozwala bowiem określić, czy pacjent prawidłowo przyjmuje leki, a obserwacja głównych metabolitów daje odpowiedź, czy metabolizm związku jest prawidłowy i w razie czego pozwala na modyfikacje leczenia. Należy również podkreślić, że osoby z zaburzeniami psychicznymi są niekiedy bardzo trudnymi pacjentami. Czasami dochodzi do tego, że pacjent zaraz po poprawie stanu zdrowia i ustąpieniu najbardziej nieprzyjemnych objawów choroby nie kontynuuje terapii pomimo, że często jest wymagane leczenie praktycznie do końca życia, na przykład w schizofrenii leczenie neuroleptykami.

Podstawowym materiałem służącym do monitorowania poziomu leków w organizmie jest krew i mocza. Ślina zaś może stanowić alternatywę jako potencjalny materiał diagnostyczny. Wynika to między innymi z tego, że jej pobór jest szybki, nie wymaga obecności wyspecjalizowanego personelu, a także zwykle nie wzbudza kontrowersji i sprzeciwu pacjenta. Warunkiem użycia śliny jako wartościowego materiału diagnostycznego jest stwierdzenie występowania korelacji pomiędzy stężeniem leku we krwi i ślinie. Dlatego przedstawione publikacje stanowiące osiągnięcie naukowe Pani dr Eweliny Dziurkowskiej wpisuje się znakomicie we współczesne trendy w procesie poszukiwania nowych, czy alternatywnych metod diagnostycznych i całkowicie uzasadnia wybór śliny jako materiału diagnostycznego do analizy i monitorowania leków psychotropowych.

Ślina jako materiał biologiczny pomimo łatwości jej pobierania jest bardzo złożona i występuje w niej bardzo dużo różnych związków, między innymi kwas moczowy, kreatynina, bilirubina, glukoza, aminokwasy, aminy czy różne białka i peptydy. Przed przystąpieniem do analizy chromatograficznej próbka śliny musi być odpowiednio oczyszczona ze związków białkowych oraz ich pochodnych, np. z glikoprotein. Dlatego

pierwszym etapem pracy Pani dr Eweliny Dziurkowskiej było opracowanie metody jej oczyszczania i dostosowanie jej do możliwości odpowiedniego oznaczania wybranych leków psychotropowych i ich metabolitów. W związku z tym Habilitantka w pracy **H1** opracowała dwie metody oczyszczania śliny wykorzystując LLE (*liquid-liquid extraction*) i SPE (*solid phase extraction*) uzyskując możliwość równoczesnej izolacji w ślinie citalopramu i jego głównego metabolitu demetylocitalopramu oraz porównała wydajność obu ekstrakcji. Ze względu na mniejsze zużycie toksycznych rozpuszczalników, krótszy czasu ekstrakcji i brak możliwości tworzenia się emulsji kolejne związki izolowane były ze śliny z użyciem metody SPE. Metodę tę zastosowano również do izolacji wenlafaksyny, następnego związku o działaniu przeciwdepresyjnym. W pracy **H2** Pani dr Ewelina Dziurkowska wykazała, że w przypadku śliny, w której oznaczała wenlafaksynę wskazane jest zastosowanie dwu-etapowej procedury oczyszczania próbki i zastosowanie odpowiednich kolumniek (C18 i C8). W pracy tej Habilitantka określiła w sposób wyjątkowo staranny i przemyślany dokładne procedury postępowania. Pozwoliło to na oznaczenie wenlafaksyny ilościowo z pożądanym odzyskiem i współczynnikiem determinacji powyżej 0.99. Należy również podkreślić, że otrzymane wyniki zostały również potwierdzone przez analizę wieloczynnikową, gdzie wszystkie opisane procedury dzięki którym możliwe jest oznaczenie wenlafaksyny w całym zakresie stężeń znalazły się w jednym klasterze zarówno w przypadku CA (analiza skupień; *cluster analysis*), jak i PCA (analiza głównych składowych; *principal component analysis*).

W czasie leczenia pacjentów z zaburzeniami psychicznymi często stosuje się podawanie dziennie wielu leków, a nie tylko monoterapię. Dlatego ważnym problemem w psychiatrii jest właściwe monitorowanie efektów leczenia, a zwłaszcza działań niepożądanych. W związku z tym w pracy **H3** Pani dr Ewelina Dziurkowska opisała opracowaną przez siebie metodę pozwalającą oczyścić ślinę z endogennych substancji i w ten sposób móc wiarygodnie oznaczyć najczęściej stosowane neuroleptyki w ślinie: arypiprazolu, klozapiny, olanzapiny, kwetiapiny, risperidonu i karbamazepiny i ich metabolitów. Opracowanie odpowiednich procedur niewątpliwie wymagało ogromnego zaangażowania oraz niewątpliwej wiedzy i doświadczenia. Bardzo wysoko oceniam powyższą pracę z uwagi na jej olbrzymie walory diagnostyczne.

Dalsze badania dotyczące opracowania i walidacji szybkiej, czułej i selektywnej metody pozwalającej oznaczyć w ślinie pięciu neuroleptyków: klozapiny, kwetiapiny, olanzapiny, risperidonu i arypiprazolu w z ich metabolitami zawarte są w pracy **H4**. Opracowana metoda została przez Panią dr Ewelinę Dziurkowską zwalidowana przez określenie jej liniowości dla każdego z analitów w określonym zakresie stężeń, a otrzymane

wyniki wykazały, że metoda jest precyzyjna zarówno w przypadku powtarzalności, jak i precyzji pośredniej. Podsumowując w tej bardzo dobrej pracy opracowano nową metodę pozwalającą równoczesne oznaczenie dwunastu związków.

W związku z tym, że jednym z najczęściej stosowanych leków o działaniu antypsychotycznym jest olanzapina, izolowana do tej pory ze śliny za pomocą ekstrakcji ciecz-ciecz, Pani dr Ewelina Dziurkowska, w pracy **H5** opracowała szybką i bardzo dokładną metodę oznaczania olanzapiny w ślinie wykorzystując po raz pierwszy SPE i LC-MS/MS, co jest niewątpliwym dużym sukcesem analitycznym. Zoptymalizowana metoda charakteryzowała się odpowiednią liniowością, przy współczynniku korelacji  $R > 0,9991$  i granicą wykrywalności na poziomie 0,3 ng/mL.

Jak już pisałem, monitorowanie stężenia leków w organizmie jest niezwykle istotne w przypadku psychiatrii. Wszystkie wcześniejsze badania zależności pomiędzy dawką, wiekiem czy płcią pacjenta, a stężeniem leku były prowadzone przy użyciu krwi jako materiału klinicznego. Dlatego Pani dr Ewelina Dziurkowska w pracy **H6** podjęła, zakończoną sukcesem, próbę użycia do tego celu zgodnie z logiką przedłożonej habilitacji, śliny. Przy użyciu metod opisanych w pracach **H3** i **H4** wykonała badania u 27 pacjentek Szpitala dla Nerwowo i Psychicznie Chorych w Starogardzie Gdańskim oraz 36 mieszkańców Domu Opieki Społecznej. Praca ta niewątpliwie wykazała, że ślina jako materiał diagnostyczny może z powodzeniem służyć jako wskaźnik zdrowia psychicznego, pozwala oznaczać w niej stężenie leków i ich metabolitów, a co za tym idzie pozwala na monitorowanie i indywidualizację terapii. Uważam, że wyniki zawarte w pracy H6 są niejako ukoronowaniem przedstawionego do oceny osiągnięcia naukowego wykazującego spójność tematyczną, dużą wartość diagnostyczną i wysoki poziom naukowy.

Pani Ewelina Dziurkowska, moim zdaniem, w przedstawionej habilitacji w pełni wykazała, że ślina z powodzeniem może być użyta jako materiał diagnostyczny alternatywny do krwi, zarówno do oznaczania stężeń, jak i monitorowania przebiegu leczenia lekami przeciwdepresyjnymi, jak i antypsychotycznymi. Jest to zgodne z tytułem i zamierzeniem przedstawionego do oceny osiągnięcia naukowego „Ślina jako materiał diagnostyczny do analizy leków psychotropowych”.

### **Działalność naukowa przed uzyskaniem stopnia doktora nauk farmaceutycznych**

Pracę naukową Pani dr Ewelina Dziurkowska rozpoczęła od początku zatrudnienia, najpierw na Wydziale Farmaceutycznym Akademii Medycznej, a później Gdańskiego

Uniwersytetu Medycznego i dotyczącą wykorzystania śliny jako materiału diagnostycznego do oznaczania kortyzolu przy użyciu HPLC. W tym czasie udało się obecnej Habilitantce opracować dwie metody ekstrakcji wykorzystując zarówno SPE jak i LLE. Badania dotyczyły pacjentek przebywających w Szpitalu dla Nerwowo i Psychicznie Chorych w Starogardzie Gdańskim z powodu depresji. Miały one na celu wykazanie jak stosowane leki przeciwdepresyjne wpływają na poziom kortyzolu. Wśród stosowanych leków znalazły się preparaty podawane zarówno w mono- jak i politerapii, należące do grupy TLPD. Otrzymane wyniki poddano obróbce statystycznej, zarówno analizie skupień (CA), jak i analizie głównych składowych (PCA). Otrzymane wyniki zostały opublikowane i część z nich stanowiło pracę doktorską. W sumie ukazało się 9 opublikowanych prac o sumarycznym współczynniku oddziaływania  $IF=1,099$  i punktach  $MNiSW = 51$ .

W tym miejscu należy podkreślić, że moim zdaniem, uzyskane w tym okresie działalności naukowej doświadczenie Pani dr Eweliny Dziurkowskiej stało się solidną podstawą do podjęcia ambitnego zadania jakim było wykorzystania śliny jako materiału diagnostycznego w monitorowaniu leczenia chorób psychiatrycznych. Należy pamiętać, że ślina jest co prawda łatwym materiałem do pozyskania, ale bardzo skomplikowanym z punktu widzenia na swój skład i opracowanie wiarygodnej metody diagnostycznej wymaga dużego doświadczenia.

### **Działalność naukowa po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych**

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych prace naukowe Pani dr Eweliny Dziurkowskiej dotyczyły nadal zastosowaniu śliny w diagnostyce, ale zostały rozszerzone do analizy stężenia ksenobiotyków, a zwłaszcza leków psychotropowych. Część uzyskanych wyników zostały włączone do cyklu publikacyjnego stanowiącego osiągnięcie naukowe. Ponadto, Pani dr Ewelina Dziurkowska nadal kontynuowała pracę dotyczącą oznaczania kortyzolu, ale w ślinie pacjentów leczonych protetycznie. Otrzymane wyniki zostały zaprezentowane w formie publikacji albo wystąpień na konferencjach naukowych. W tym czasie Pani dr Ewelina Dziurkowska nawiązała współpracę z ośrodkiem w Santiago de Compostela, w którym odbyła trzymiesięczny staż. Pobyty na Universidad de Santiagode Compostela, co zaowocowało opracowaniem metody izolacji olanzapiny w ślinie (praca w cyklu **H3 i H4**). Uzyskanie dofinansowania w ramach Miniatura 1 pozwoliło Pani Ewelinie Dziurkowskiej na opracowanie metody oczyszczania śliny i równoczesnego oznaczania w niej pięciu leków przeciwpsychotycznych (praca w cyklu **H5**). Pozostałe prace

dotyczące izolacji karbamazepiny oraz jej metabolitu, epoksydu karbamazepiny, z wykorzystaniem deproteinizacji jako metody oczyszczania śliny po badaniach śliny pacjentów leczonych lekiem przeciwpadaczkowym zostały opublikowane w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym. Oczywiście pozostałe prace wchodzące w do cyklu prac składających się na osiągnięcie naukowe (**H1, H2 i H6**) powstały w tym samym okresie. W sumie ukazało się 12 opublikowanych prac o sumarycznym współczynniku oddziaływania IF=15, 227 i punktach MNiSW =315, bez prac zamieszczonych w cyklu habilitacyjnym.

### **Działalność dydaktyczna**

Pani Ewelina Dziurkowska, pracując na początku swojej kariery zawodowej, w Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej prowadziła zajęcia ze studentami z analizy leków opracowując skrypt dotyczący metod analizy ilościowej środków leczniczych (nagroda Rektora). Od 2009 roku pracując zaś w Katedrze i Zakładzie Chemii Analitycznej realizowała ćwiczenia, seminaria, wykłady oraz zajęcia laboratoryjne z analizy miareczkowej i analizy instrumentalnej. W ramach zajęć fakultatywnych opracowała autorski fakultet pt. „Co mi wadzi ślina”, w którym po krótkiej charakterystyce śliny omawia możliwości zastosowanie jej w diagnostyce. Pani Ewelina Dziurkowska prowadzi również zajęcia na Kierunku Farmacja – English Division. Była również opiekunem 12 prac magisterskich.

### **Działalność organizacyjna, popularyzacyjna i inne aktywności**

Pani Ewelina Dziurkowska w roku 2011 była członkiem komitetu organizacyjnego II Ogólnopolskiego Sympozjum organizowanego w Gdańsku, uczestniczyła w licznych konferencjach krajowych, jak i zagranicznych, prowadziła wykłady popularyzacyjne i jest autorem licznych prac o charakterze przeglądowym. Pani Ewelina Dziurkowska recenzowała ponadto więcej niż 30 publikacji naukowych dla różnych zagranicznych wydawnictw. Za swoje osiągnięcia otrzymała szereg nagród i wyróżnień zarówno zespołowych, jak i indywidualnych. Jest członkiem Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego.

## Wniosek końcowy

Pragnę podkreślić, że osiągnięcie naukowe Pani dr n. farm. Eweliny Dziurkowskiej pod tytułem „Ślina jako materiał diagnostyczny do analizy leków psychotropowych” stanowi istotny wkład Autorki w rozwój metod diagnostycznych. Pozostałe osiągnięcia naukowo-badawcze Habilitantki również w dużym stopniu przyczyniają się do rozwoju nauki. Wszystkie dokonania naukowe wymienione w recenzji wraz z dorobkiem dydaktycznym, organizacyjnym oraz umiejętnością współpracy naukowej sprawiają, że Pani dr n. farm. Ewelina Dziurkowska, w mojej ocenie, spełnia wszystkie kryteria określone w art. 219 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 ze zm.) wymagane do uzyskania tytułu doktora habilitowanego.

Przedstawiam więc Radzie Nauk Farmaceutycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego pozytywną opinię i wnioskuję o dopuszczenie Pani dr n. farm. Eweliny Dziurkowskiej do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne.

KIEROWNIK  
Zakładu Bioanalizy i Analizy Leków  
  
Prof. dr hab. n. farm. Piotr Wroczyński