



Białystok, 15.06.2021r.

Prof. dr hab. n. med. Napoleon Waszkiewicz

Klinika Psychiatrii

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

**OCENA DOROBKU NAUKOWEGO, OSIĄGNIĘĆ DYDAKTYCZNYCH
I ORGANIZACYJNYCH**

oraz

**OCENA I OPINIA DOTYCZĄCA OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO
„Ślina jako materiał diagnostyczny do analizy leków psychotropowych”**

DR N. FARM. EWELINY DZIURKOWSKIEJ

w związku z postępowaniem o nadanie stopnia doktora habilitowanego.

Pismem z dnia 21 kwietnia 2021r. (WFD-501-H-106/2020) oraz Uchwałą (nr 36/2021) Rady Nauk Farmaceutycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego zostałem powołany na recenzenta w *postępowaniu habilitacyjnym dr n. farm. Eweliny Dziurkowskiej* z Katedry i Zakładu Chemii Analitycznej Wydziału Farmaceutycznego Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, co obejmuje również ocenę osiągnięcia naukowego kandydatki pt. „Ślina jako materiał diagnostyczny do analizy leków psychotropowych”. Sporządziłem recenzję w oparciu o art. 219 ust. 1 pkt 2 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawa o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 późn. zm.). Oceny dokonałem na podstawie dostarczonej dokumentacji w wersji papierowej i elektronicznej.

Dane biograficzne i działalność zawodowa habilitantki

Doktor nauk farmaceutycznych Ewelina Dziurkowska uzyskała tytuł magistra farmacji 28.05.2003 r. na podstawie pracy magisterskiej pt. „Oznaczanie florfenikolu w osoczu krwi metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej”, wykonanej w Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej, Wydziału Farmaceutycznego, Akademii Medycznej w Gdańsku. Tytuł doktora nauk farmaceutycznych obroniła 11.10.2011 r., na podstawie rozprawy doktorskiej pt. „Wpływ leków przeciwdepresyjnych na poziom kortyzolu w ślinie kobiet z



Prof. dr hab. n. med. Napoleon Waszkiewicz, Klinika Psychiatrii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

depresją”, wykonanej w Katedrze i Zakładzie Chemii Analitycznej, Wydziału Farmaceutycznego, Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. W 2011 r. uzyskała Specjalizację z Analityki Farmaceutycznej. Od 2003 do 2008 roku pracowała jako asystent w Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej Akademii Medycznej w Gdańsku, a następnie do 2013 roku jako asystent w Katedrze i Zakładzie Chemii Analitycznej Akademii Medycznej w Gdańsku (aktualnie Gdański Uniwersytet Medyczny), gdzie od 2013 roku pracuje jako adiunkt.

Ocena głównego osiągnięcia naukowego

Podstawę do sformułowania wniosku o nadanie stopnia doktora habilitowanego stanowi cykl 6 publikacji. Łączny współczynnik oddziaływania IF prac habilitacyjnych wynosi 16,392 i 390 punktów MNiSW, we wszystkich pracach Habilitantka jest pierwszym autorem, w czterech pracach jest także autorem korespondencyjnym.

Tytuł osiągnięcia naukowego „Ślina jako materiał diagnostyczny do analizy leków psychotropowych”. Głównym celem badań habilitantki, będącym podstawą cyklu publikacji i stanowiących osiągnięcie naukowe była analiza i proces oczyszczania śliny i izolacji związków stosowanych w zaburzeniach psychicznych m.in. depresji, schizofrenii oraz zaburzeniach afektywnych dwubiegunowych, a także zastosowanie opracowanych metod do oznaczenia stężenia analitów w ślinie osób leczonych badanymi lekami. Osiągnięcie naukowe tworzy cykl 6 powiązanych tematycznie publikacji:

1. Dziurkowska Ewelina, Wesołowski Marek, Simultaneous quantification of citalopram and its main metabolite, desmethylcitalopram, in human saliva by UHPLC. *Curr. Anal. Chem.* 2018, vol. 14, s. 554-561. doi:10.2174/1573411013666171113144 10
Impact Factor: 1.242 Punktacja MNiSW: 20.000
2. Dziurkowska Ewelina, Wesołowski Marek, Evaluation of solid-phase extraction procedures for the quantitation of venlafaxine in human saliva by high-performance liquid chromatography. *J. Sep. Sci.* 2018, vol. 41, s. 2151-2160. doi:10.1002/jssc.201701184
Impact Factor: 2.516 Punktacja MNiSW: 30.000
3. Dziurkowska Ewelina*, Wesołowski Marek, Solid phase extraction purification of saliva samples for antipsychotic drug quantitation. *Molecules* 2018, vol. 23, s. 1-11. doi:10.3390/molecules23112946
Impact Factor: 3.060 Punktacja MNiSW: 30.000



4. Dziurkowska Ewelina*, Wesołowski Marek, Simultaneous quantification of antipsychotic and antiepileptic drugs and their metabolites in human saliva using UHPLC-DAD. *Molecules* 2019, vol. 24, s. 1-20. doi:10.3390/molecules24162953
Impact Factor: 3.267 Punktacja MNiSW: 100.000
5. Dziurkowska Ewelina*, Jiménez-Morigosa Cristian, López-Rivadulla Manuel, Wesołowski Marek, Development and validation of solid-phase extraction coupled with a liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for quantitation of olanzapine in saliva. *J. Chromatogr. B* 2020, vol. 1136, s. 1-14. doi:10.1016/j.jchromb.2019.121896
Impact Factor: 3.004 Punktacja MNiSW: 70.000
6. Dziurkowska Ewelina*, Wesołowski Marek, Effects of age, drug dose, and sampling time on salivary levels of olanzapine, quetiapine, and their metabolites. *J. Clin. Med.* 2020, vol. 9, 3288. Doi: 10.3390/jcm9103288
Impact Factor: 3.303 Punktacja MNiSW: 140.000

Ślina, jako łatwo dostępny materiał do badań, stanowi dobre źródło informacji o przyjmowanych lekach przez osoby cierpiące na zaburzenia psychiczne. W pracy opublikowanej w *Curr. Anal. Chem.* (2018, vol. 14, s. 554-561) Habilitantka podjęła się równoczesnego oznaczania citalopramu i jego głównego metabolitu demetylocitalopramu w ślinie. Opracowała dwie metody oczyszczania śliny wykorzystując ekstrakcję ciecz-ciecz (LLE - liquid-liquid extraction) i ekstrakcję ciecz-ciało stałe (SPE – solid phase extraction) oraz równoczesną izolację citalopramu i demetylocitalopramu, a także porównała wydajność obu ekstrakcji. Oznaczone stężenia citalopramu były zgodne z danymi literaturowymi, natomiast porównanie otrzymanych wyników w przypadku demetylocitalopramu nie było możliwe ze względu na brak danych w dotychczasowym piśmiennictwie. Znacznie mniejsze zużycie toksycznych rozpuszczalników, krótszy czas potrzebny na izolację związków ze śliny i możliwość automatyzacji, a także brak tworzenia się emulsji w trakcie procesu oczyszczania próbek spowodował, iż kolejne związki izolowane były ze śliny z użyciem SPE.

W pracy opublikowanej w *J. Sep. Sci.* (2018, vol. 41, s. 2151-2160) zauważono, że w przypadku analizy śliny, w której była oznaczana wenlafaksyna, należąca do leków przeciwdepresyjnych, charakteryzujących się wysoką lipofilnością, wskazane jest zastosowanie dwuetapowej procedury oczyszczania próbki. Jednoetapowa procedura nie pozwala na oznaczenie wenlafaksyny w najniższym stężeniu. Najbardziej optymalne okazały się kolumnienki C18 i procedura 1 (woda dejonizowana; mieszanina (1:1) metanolu i wody



dejonizowanej) oraz kolumnienki C8 i procedura 3 (do przemycia złoza użyto buforu fosforowego i mieszaniny metanolu i buforu fosforanowego (5:95; v:v); analit wymywano ze złoza 25% amoniakiem i metanolem w proporcji (5:95; v:v)). W obu przypadkach pozwoliły one oznaczyć wenlafaksynę ilościowo z pożądanym odzyskiem i współczynnikiem determinacji powyżej 0,99. Powyższe wyniki zostały również potwierdzone przez analizę wieloczynnikową, gdzie wszystkie procedury umożliwiające oznaczenie wenlafaksyny w całym badanym 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 kolejnej pracy, opublikowanej w *J. Chromatogr. B* (2020, vol. 1136, s. 1-14), opracowano szybką i dokładną metodę oceny ilościowej olanzapiny w ludzkiej ślinie, wykorzystując po raz pierwszy SPE i LC-MS/MS (chromatografię cieczową z tandemową spektrometrią mas). Zoptymalizowana metoda była selektywna oraz charakteryzowała się liniowością w zakresie stężeń 1–500 ng/mL, przy współczynniku korelacji $R > 0,9991$. Granicę wykrywalności dla olanzapiny ustalono na poziomie 0,3 ng/mL, podczas gdy LLOQ wyniosło 1,0 ng/mL.

W następnym etapie badań (*Molecules* 2018, vol. 23, s. 1-11), Habilitantka opracowała metodę pozwalającą oczyścić ślinę z endogennych substancji tak, aby możliwe było szybkie i wiarygodne oznaczenie najczęściej stosowanych neuroleptyków (olanzapiny, kwetiapiny, arypiprazolu, risperidonu i klozapiny), karbamazepiny oraz ich metabolitów (N-demetylo olanzapiny, norkwetiapiny, dehydroarypiprazolu, 9-OH-risperidonu, N-demetylo klozapiny, epoksydu karbamazepiny) w tym materiale diagnostycznym. Badania jednoznacznie potwierdziły, że najbardziej efektywne oczyszczenie próbek uzyskano stosując kolumnienki zawierające wymiennicz jonowy i ten typ złoza umożliwił również izolację wszystkich analitów z obciążonej próbki śliny. Z czterech procedur (25-28) umożliwiających izolację ze śliny ww związków, najbardziej efektywna okazała się procedura 25 i kolumnienki Strata X-C, gdzie do przemywania kolumnienki użyto kolejno wody i mieszaniny wody z metanolem (1:1), natomiast pozostałość zaadsorbowaną na kolumnienkach wymywano 5% roztworem amoniaku w metanolu.

Kontynuując badania, w pracy opublikowanej na łamach *Molecules* (2019, vol. 24, s. 1-20) celem było opracowanie i walidacja szybkiej, czulej i selektywnej metody pozwalającej stwierdzić obecność w ślinie pięciu neuroleptyków (klozapiny, kwetiapiny, olanzapiny, risperidonu i arypiprazolu) wraz z ich metabolitami (N-demetylo klozapiną, norkwetiapiną, N-demetylo olanzapiną, 9-OH-risperidonem i dehydroarypiprazolem) oraz karbamazepiny i



epoksydu karbamazepiny. Opracowana przez Habilitantkę metoda ekstrakcji okazała się być skuteczna w przypadku wszystkich badanych związków z wyjątkiem karbamazepiny i jej metabolitu, gdzie wydajność ekstrakcji wyniosła około 50%. Oba związki wykazały wyższy stopień oddziaływania z sorbentem w środowisku bardziej zasadowym. Jako, że celem badań było opracowanie metody umożliwiającej równoczesne oznaczenie wszystkich dwunastu związków, osiągnięto to kosztem niskiej wydajności ekstrakcji tych analitów. Określono również stabilność analitów i to zarówno w materiale biologicznym, jak i ekstraktach podczas ich przechowywania w autosamplerze.

Jako, że dotychczasowe badania nad zależnością stężenia olanzapiny lub kwetiapiny od dawki, płci lub wieku pacjentów były prowadzone tylko przy użyciu krwi, kolejnym etapem badań (J. Clin. Med. 2020, vol. 9, 3288) było określenie zależności pomiędzy stężeniem leku w ślinie a stosowaną dawką, wiekiem i płcią pacjentów. Okazało się, że olanzapina i kwetiapina odznaczały się niższym stężeniem w ślinie kobiet. W przypadku olanzapiny wiek pacjentów nie miał wpływu na poziom związku macierzystego ani jego metabolitu w ślinie. Została zaobserwowana także niewielka korelacja między dawką, a stężeniem analitu w ślinie, co może być wytłumaczone dużą zmiennością indywidualną. Jednocześnie zauważono wysoką korelacją między stężeniem związku macierzystego i jego metabolitu. Najsilniejsza korelacja obejmowała pacjentów rozpoczynających leczenie.

Podsumowaniem powyższych prac było sformułowanie tezy, że ślina z powodzeniem może być zastosowana jako materiał diagnostyczny do oznaczania związków zarówno przeciwdepresyjnych jak i przeciwpsychotycznych. Ponadto, zastosowanie odpowiedniej procedury oczyszczania śliny przy pomocy SPE umożliwiło izolację wszystkich analitów, a użyteczność opracowanych procedur została potwierdzona poprzez zastosowanie ich do analizy próbek śliny pochodzących od pacjentów.

Podsumowując tę część recenzji stwierdzam, że cykl publikacji, wchodzących w skład głównego osiągnięcia naukowego, stanowi spójną całość, każda kolejna publikacja jest kontynuacją problemu badanego w poprzedniej, co nadaje osiągnięciu oryginalny charakter i dużą wartość naukową zarówno poznawczą, jak i terapeutyczną. W znacznej części zagadnienia, przedstawiane w publikacjach, są nowatorskie. Wszystkie cechują się dodatkowo bardzo wartościowym aspektem praktycznym, szczególnie w zakresie leczenia pacjentów. Ogólnie osiągnięcie świadczy o dobrym przygotowaniu Habilitantki do samodzielnego prowadzenia badań, jak i zdolności organizowania zespołowej pracy badawczej. Stanowi ono również znaczny wkład autorki w rozwój psychofarmakologii.



Ocena pozostałej działalności naukowo-badawczej

Poza osiągnięciem habilitacyjnym (16,392IF i 390 punktów MNiSW), osiągnięcia naukowo-badawcze dr n. farm. Eweliny Dziurkowskiej po uzyskaniu stopnia naukowego doktora przedstawiają się następująco:

- 10 publikacji o wartości IF: 15,227 i punktacji MNiSW=315.

-całkowity dorobek naukowy po doktoracie wynosi IF: 31,619 i 705 punktów MNiSW.

-Indeks-h według bazy Web of Science wynosi 4, oraz według bazy Scopus wynosi 4., jednak jest to związane najprawdopodobniej z faktem, że większość prac posiadających IF, łącznie z tymi tworzącymi jednotematyczny cykl stanowiący główne osiągnięcie, zostały opublikowane w ostatecznej formie w latach 2018-2020.

Wyniki badań dr Dziurkowskiej były publikowane w renomowanych czasopismach krajowych i zagranicznych jak J Clin Med., J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci., Molecules, Psychiatr Pol., Curr Anal Chem., J Sep Sci. Scientific World Journal., J Sep Sci., Arch Womens Ment Health.

Działalność naukowo-badawcza przed uzyskaniem stopnia doktora nauk farmaceutycznych dotyczyła wykorzystania śliny jako łatwo dostępnego materiału biologicznego w diagnostyce, w tym istotne było oznaczanie kortyzolu w ślinie z użyciem metody HPLC, następnie wykorzystując zarówno SPE jak i LLE, aby określić wpływ stosowanych leków przeciwdepresyjnych i przeciwpsychotycznych na poziom tego hormonu. Po uzyskaniu stopnia doktora zainteresowania naukowe nadal skupiały się na zastosowaniu śliny w diagnostyce, jednak rozszerzone były o zastosowanie śliny do analizy stężenia ksenobiotyków, a w szczególności leków psychotropowych.

Habilitantka był ponadto wykonawcą grantu z Narodowego Centrum Nauki (NCN) – Miniatura 1. Pozwoliła ona na opracowanie metody oczyszczania śliny oraz równoczesnego oznaczania w niej pięciu leków przeciwpsychotycznych (klozapiny, kwetiapiny, olanzapiny, risperidonu i aripiprazolu) wraz z ich metabolitami (N-demetylo klozapiną, norkwetiapiną, N-demetylo olanzapiną, 9-OH-risperidonem i dehydroarypiprazolem) oraz karbamazepiny i epoksydu karbamazepiny.

Za swoją działalność naukową otrzymała Nagrodę Rektora Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego zespołowa II stopnia za osiągnięcia dydaktyczne za rok 2008, Nagrodę Prezydenta Miasta Gdańska i Gdańskiego Towarzystwa Naukowego w dziedzinie nauk biologicznych i medycznych (2011) za rozprawę doktorską, następnie Nagrodę Rektora



Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego za osiągnięcia naukowe w latach: 2011 – wyróżniona praca doktorska; 2013 - zespołowa I stopnia za osiągnięcia naukowe; 2018 - zespołowa II stopnia za osiągnięcia naukowe; 2019 – zespołowa I stopnia za osiągnięcia naukowe.

Podsumowując tę część recenzji stwierdzam, że dr Ewelina Dziurkowska ma znaczący dorobek naukowy poza publikacjami wchodzącymi w skład osiągnięcia. Obejmuje on spójne kierunki badań biochemiczno-farmaceutyczno-klinicznych z interesującymi wnioskami. Wartym podkreślenia jest fakt, że wyniki większości opublikowanych prac mogą być wykorzystane w praktycznej działalności klinicznej. Dorobek naukowy zawarty w tych publikacjach spełnia wymagania stawiane w postępowaniu habilitacyjnym.

Działalność dydaktyczna i organizacyjna

Dr n. farm. Ewelina Dziurkowska w latach 2003-2009, pracując w Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej AMG prowadziła zajęcia z analizy leków, ze studentami III roku kierunku Farmacja, uczestniczyła w opracowaniu skryptu dla studentów obejmującego zagadnienia dotyczące metod analizy ilościowej środków leczniczych, za który otrzymała dydaktyczną nagrodę Rektora za rok 2008. Od 2009 roku, pracując w Katedrze i Zakładzie Chemii Analitycznej, uczestniczy w realizacji zajęć dydaktycznych obejmujących ćwiczenia, seminaria oraz wykłady, m. in. zajęcia laboratoryjne z analizy miareczkowej, analizy instrumentalnej (fakultet dla kierunku Farmacja Przemysłowa), opracowała fakultet pt. „Co nam zdradzi ślina”, od 2019 prowadzi zajęcia z analizy miareczkowej w języku angielskim, itp.

Była ponadto opiekunem 12 prac magisterskich, od roku 2012 pełni funkcję zastępcy opiekuna I roku studiów na kierunku Analityka Medyczna.

W 2011 roku była członkiem komitetu organizacyjnego II Ogólnopolskiego Symposium Naukowego nt. „Ocena jakości preparatów farmaceutycznych z uwzględnieniem metod badania w fazie stałej”.

Uczestniczyła w sposób czynny w licznych konferencjach krajowych oraz międzynarodowych, prezentując wyniki swoich badań w formie posterów oraz wystąpień ustnych np. w ramach szkoleń ciągłych i specjalizacyjnych realizowanych w Wydziale Farmaceutycznym AMG, czy w trakcie Podlaskich Warsztatów Psychiatrycznych w Białowieży.

Współpracuje z ośrodkiem w Santiago de Compostela (Catedrático de Toxicología Servicio de Toxicología Forense, Instituto Universitario de Ciencias Forenses Facultad de



Medicina, Universidad de Santiago de Compostela), specjalizującym się w oznaczaniu związków psychotropowych w ślinie, krwi, włosach i paznokciach.

Jest aktywnym recenzentem wielu wydawnictw, m. in. Springer (Chemical Papers), MDPI (Diagnostics, Journal of Clinical Medicine, International Journal of Environmental Research and Public Health, Processes, Applied Sciences, Antibiotics, Journal of Personalized Medicine, Scientia Pharmaceutica, Biomedicines, Separations, Antioxidants, Medicina, ChemEngineering, Molecules), Taylor&Francis Group (Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies).

Jestem członkiem Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego oraz Gdańskiego Towarzystwa Naukowego.

Podsumowując tę część recenzji stwierdzam, że przedstawioną działalność dydaktyczną i organizacyjną oceniam bardzo wysoko, ponieważ działalność ta kreśli sylwetkę osoby ze zdolnościami sprawnego organizatora o pasji dydaktycznej w swojej dziedzinie.

Wniosek końcowy

Na podstawie przekazanej do opinii dokumentacji stwierdzam, że dr n. farm. Ewelina Dziurkowska jest doświadczonym i dociekliwym badaczem. Przedstawione do oceny osiągnięcia naukowe i pozostały dorobek naukowy, dydaktyczny i organizacyjny spełniają kryteria określone w art. 219 ust. 1 pkt 2 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawa o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 późn. zm.) oraz w ustawie z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2017r. poz. 1789) wymagane do nadania stopnia doktora habilitowanego. Poza dość wysoką wartością naukową dorobku Habilitantki, ponownie podkreślam bardzo znaczący aspekt praktyczny wniosków w ocenianych publikacjach. Przedstawiam zatem Radzie Nauk Farmaceutycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o dopuszczenie dr n. farm. Eweliny Dziurkowskiej do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.


Prof. dr hab. n. med. Napoleon Waszkiewicz
lekarz medycyny
specjalista psychiatra
1754124

