

Prof. dr hab. Anna Herman-Antosiewicz  
Katedra Biologii i Genetyki Medycznej  
Wydział Biologii Uniwersytetu Gdańskiego  
ul. W. Stwosza 59  
80-308 Gdańsk  
tel: 58 523 6034

Gdańsk, 26 maja 2022 r.

**Recenzja osiągnięcia naukowego oraz pozostałego dorobku  
Pana dr. Patryka Krzemińskiego w związku z postępowaniem w sprawie nadania stopnia doktora  
habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w  
dyscyplinie nauki biologiczne**

**Wysztalcenie i praca zawodowa Kandydata**

Pan dr Patryk Krzemiński ukończył studia magisterskie na Międzywydziałowym Studium Biotechnologii w Szkole Głównej Gospodarstwa Wiejskiego (SGGW) w Warszawie w 2003 r. Pracę magisterską pt. *Rola szlaku Pi3K/AKT w apoptozie komórek glejaka linii C6 indukowanej UVC* wykonał pod opieką pani prof. dr hab. Bożeny Kamińskiej w Instytucie Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN w Warszawie. W tym instytucie 4 lata później obronił pracę doktorską pt. *Występowanie i aktywność wybranych receptorów nukleotydowych w nowotworowych liniach komórkowych pochodzenia glejowego: wpływ warunków hodowli*, której promotorem była pani prof. dr hab. Jolanta Barańska.

W latach 2009-2020 przebywał na stażach podoktorskich; najpierw w Centrum Badań nad Rakiem, a następnie na Wydziale Hematologii szpitala Uniwersyteckiego w Salamance w Hiszpanii. Od 2020 r. pracuje na stanowisku adiunkta w Katedrze Nanobiotechnologii Instytutu Biologii SGGW w Warszawie.

**Ocena osiągnięcia naukowego**

Podstawą do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego przez pana dr. Patryka Krzemińskiego jest osiągnięcie pt. *Wpływ wybranych zmian genetycznych i epigenetycznych na patogenezę szpiczaka plazmocytozy, na które składa się 5 publikacji (4 prace eksperymentalne i 1 praca przeglądowa)*. Zostały one opublikowane w latach 2015-2020 w dobrych i bardzo dobrych czasopismach o łącznym IF=23,81. Całkowita liczba punktów ministerialnych (wg roku publikacji) wynosi 240. Prace te były cytowane 40 razy (w momencie składania dokumentacji). Wszystkie te publikacje są efektem pracy zespołowej, przy czym w trzech pracach Habilitant jest pierwszym autorem (równocześnie też autorem korespondującym w 2 z nich), w jednej jest na drugim i w jednej – na 4 miejscu listy autorów.

Przedmiotem badań Habilitanta był szpiczak plazmocytozy będący nowotworem złośliwym pochodzącym z komórek plazmatycznych, stanowiący 1% przypadków nowotworów. Ze względu na różnorodność zmian genetycznych i epigenetycznych, co przekłada się na heterogenność fenotypową

komórek nowotworowych, jest on trudny do leczenia i charakteryzuje się częstymi nawrotami. Stąd nieustannie poszukuje się kolejnych molekularnych celów terapii, m.in. poprzez badania mechanizmów leżących u podłoża progresji tej choroby, również w fazie nawrotu po zastosowanym już leczeniu. Osiągnięcie naukowe pana dr. Krzezińskiego wpisuje się w te badania, a jako najważniejsze wnioski z prac eksperymentalnych składających się na nie wskazałabym:

- a) wykazanie, że w liniach komórkowych szpiczaka różniących się zmianami genetycznymi oraz u większości pacjentów ze szpiczakiem (testowano ponad 90 prób) obserwuje się obniżony poziom miR-155 (kluczowego czynnika w procesie różnicowania limfocytów B) oraz że u osób chorych niski poziom miR-155 koreluje ze stopniem zaawansowania choroby i krótszym czasem przeżycia. Zatem ten niekodujący RNA mógłby być dobrym markerem prognostycznym;
- b) wykazanie, że obniżony poziom miR-155 często koreluje z metylacją wysp CpG w promotorze i pierwszym egzonie jego genu, co osłabia wiązanie czynników transkrypcyjnych. Zatem obniżenie metylacji genów może być opcją w projektowaniu nowych terapii (a i b w pracy: **Krzeziński P.**, Sarasquete E.M., Misiewicz-Krzezińska I., Corral R., Corchete A. L., Martín A.A., García-Sanz R., San Miguel F.J., Gutiérrez C.N. *Insights into epigenetic regulation of microRNA-155 expression in multiple myeloma*. Biochimica et Biophysica Acta - Gene Regulatory Mechanisms, 2015, 1849 (3): 353-366. IF<sub>2015</sub>=6,26; punkty MNiSW<sub>2015</sub>=40; cytowana 19 razy);
- c) wykazanie na podstawie analizy zmian genetycznych w komórkach szpiczaka od pacjentów w momencie diagnozy i po nawrocie choroby (łącznie od 20 pacjentów), że zmiany na poziomie chromosomów, szczególnie delecje, są poważniejsze wraz z zaawansowaniem choroby oraz że podczas nawrotu choroby istnieje odwrotna zależność między metylacją a ekspresją konkretnych genów (*SORL1* i *GLT1D1*), co może wskazywać na udział ich produktów w progresji szpiczaka. W tej pracy pokazane są też ciekawe związki między wielkością obszarów zmienionych, a liczbą i zestawem genów o zmienionej ekspresji (praca: **Krzeziński P.**, Corchete A.L., García L.J., López-Corral L., Ferriñán E., García M.E., Martín A.A., Hernández-Rivas M.J., García-Sanz R., San Miguel F.J., Gutiérrez C.N. *Integrative analysis of DNA copy number, DNA methylation and gene expression in multiple myeloma reveals alterations related to relapse*. Oncotarget, 2016, 7(49): 80664-80679. IF<sub>2016</sub>=5,32; punkty MNiSW<sub>2016</sub>=40, cytowana 11 razy);
- d) pokazanie, że zebularyna efektywnie obniża żywotność fenotypowo różnych linii szpiczaka i efekt ten jest związany nie tylko z jej wpływem na globalną metylację genomu i indukcję uszkodzenia DNA, ale też na produkcję i aktywność konkretnych białek. Jeśli są to białka, od których komórki nowotworowe są uzależnione (np. onkogen c-Myc), to ich eliminacja może być wykorzystana do planowania skuteczniejszych terapii łączonych (praca: **Krzeziński P.**, García-Sanz R., Gutiérrez C.N. *Zebularine-induced myeloma cell death is accompanied by decreased c-Myc expression*. Cellular Oncology, 2020, 43(4): 743-750. IF<sub>2020</sub>=5,3; punkty MNiSW<sub>2020</sub>=100, cytowana 2 razy);
- e) wskazanie potencjalnych białkowych markerów predykcyjnych odpowiedzi na leczenie kombinacją bortezomib-lenalidomid-deksametazon na podstawie analizy poziomu białek zaangażowanych w

działanie tych leków w próbach pochodzących od 174 pacjentów (praca: Misiewicz-Krzemińska I., de Ramón C., Corchete A.L., **Krzemiński P.**, Rojas A.E., Isidro I., García-Sanz R., Martínez-López J., Oriol A., Bladé J., Lahuerta J.J., San Miguel F.J., Rosiñol L., Mateos V.M., Gutiérrez C.N. *Quantitative expression of Ikaros, IRF4, and PSMD10 proteins predicts survival in VRD treated patients with multiple myeloma*. Blood Advances, 2020, 4(23): 6023-6033. IF<sub>2020</sub>=4,9; punkty MNiSW<sub>2020</sub>=40, cytowana 2 razy).

W skład osiągnięcia wchodzi też praca przeglądowa z 2019 r. (Misiewicz-Krzemińska I., **Krzemiński P.**, Corchete A.L., Quwaider D., Rojas A.E., Belén Herrero A., Gutiérrez C.N. *Factors regulating microRNA expression and function in multiple myeloma*. Non-coding RNA, 2019, 5(1): 9. IF<sub>2019</sub>=2.03, punkty MNiSW<sub>2019</sub>=20, cytowana 13 razy), w której Habilitant opracował rozdział poświęcony związkowi mikroRNA ze zmianami epigenetycznymi w szpiczaku plazmocytowym.

Prace składające się na osiągnięcie naukowe pana dr. Krzemińskiego dobitnie pokazują, jak bardzo złożoną i dynamiczną pod względem genetycznym i epigenetycznym jest choroba nowotworowa na przykładzie szpiczaka plazmocytozy. Przekonują również o potrzebie dalszych badań w celu opracowania terapii na miarę danego nowotworu oraz poszerzonej diagnostyki umożliwiającej dobranie takiej terapii. Niewątpliwie dużą wartością tych badań jest zastosowanie wielu nowoczesnych technik biologii molekularnej i doskonałe (również pod względem bioinformatycznym) opracowanie wyników. Są to według mnie rezultaty oryginalne, ważne - również z praktycznego punktu widzenia i znaczące dla rozwoju dyscypliny. Wiodący wkład Habilitanta w 3 pierwsze publikacje jest bezdyskusyjny, w pracę przeglądową i eksperymentalną w Blood Advances z 2020 r. – znaczący. W tej ostatniej zasługą Habilitanta był pomysł i wykonanie analizy biomarkerów odpowiedzi na glukokortykoidy, czego wcześniej nie badano.

Podsumowując, uważam, że przedstawione osiągnięcie spełnia wymagania określone w art. 219 ust. 1 pkt 2b oraz w art. 219 ust. 2 Ustawy z dn. 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce.

### **Ocena działalności naukowej**

Pozostały dorobek publikacyjny pana dr. Patryka Krzemińskiego to 18 prac (według złożonej dokumentacji), z czego 10 powstało przed uzyskaniem stopnia doktora. Problematyka prac przed doktoratem dotyczyła różnych aspektów biologii komórek glejaka (m.in. ich odpowiedzi na sfingozynę, hamowanie ERK1/2, ROCK, niedobór czynników wzrostu oraz udziału w tych procesach sygnalizacji z udziałem receptorów purynergicznym czy jonów wapnia) oraz badań nad ruchliwością *Amoeba proteus*. Wyniki tych poczynań zostały opublikowane m.in. w *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *Acta Biochimica Polonica*, *Acta Protozoologica*, *FEBS Journal*, *Protoplasma*, *European Journal of Pharmacology*, a ich łączny IF wynosi 15,71. Pan dr Krzemiński jest pierwszym autorem w 4 z nich, a w jednej jest też autorem korespondującym.

Tematyka prac opublikowanych po uzyskaniu stopnia doktora, które nie wchodzi w skład osiągnięcia naukowego, w głównej mierze dotyczy biologii szpiczaka, w tym badania zmienności

genetycznej i fenotypowej, udziału mikroRNA czy białek, jak cyklina D2, p53 i DEPTOR, w jego rozwoju. Prace te zostały opublikowane m.in. w *Haematologica* o IF<sub>2013</sub>=5,86; *PlosOne* o IF<sub>2014</sub>=3,2; *International Journal of Molecular Sciences* o IF<sub>2016</sub>=3,2; *Clinical Cancer Research* o IF<sub>2016</sub>=9.62, *Journal of Hematology and Oncology* o IF<sub>2017</sub>=7,3. Habilitant jest też współautorem pracy, w której z powodzeniem wykorzystano technikę nano-immunoelektroforezy kapilarnej do wykrywania wariantu AR-V7 receptora andogenu w osoczu pacjentów z nowotworem prostaty (publikacja w *Clinical and Translational Oncology* o IF<sub>2017</sub>=3). Odmierna tematyka badań jest przedmiotem publikacji z 2021 r. w *Pharmaceuticals* (IF=4,28), w której dokonano reewaluacji działania 7,8-DHF na receptor TrkB komórek nerwowych. Sumaryczny IF dla tych prac wynosi 37,86.

Parametry bibliometryczne całego dorobku publikacyjnego Habilitanta, to łączny IF= 77,38; liczba punktów MNiSW=687; liczba cytowań (bez autocytowań) – 261 i indeks Hirscha=11, według bazy Web of Science w momencie przygotowania dokumentacji. Parametry te świadczą o wysokim poziomie aktywności naukowej. Dorobek publikacyjny uzupełniają doniesienia konferencyjne (15 w formie plakatu i 2 wystąpienia ustne). Widać, że pan dr Krzemiński regularnie prezentuje wyniki badań. Wszystkie Jego prace po uzyskaniu stopnia doktora są wieloautorskie, co przekłada się na ich wieloaspektowy charakter, a co za tym idzie – publikację w prestiżowych, wysoko punktowanych czasopismach. Szkoda, że w żadnej z nich (oprócz 3 prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego na stopień doktora habilitowanego) pan dr Krzemiński nie jest autorem wiodącym.

Działalność naukowa Habilitanta była realizowana w ramach współpracy z badaczami z Polski, ale głównie z ośrodków w Hiszpanii, gdzie odbywał długoterminowy staż podoktorski (11 lat). Brał udział w realizacji 8 grantów. Obecnie jest wykonawcą w 2 projektach oraz kierownikiem wspomagającym w 1 grantie mającym na celu ewaluację potencjalnych inhibitorów onkogenu c-Myc, co jest realizowane we współpracy z sektorem gospodarczym. Większość tych projektów była lub jest finansowana przez hiszpańskie podmioty, jak np. Fundację Naukową Hiszpańskiego Stowarzyszenia Walki z Rakiem lub Instytut Zdrowia im. Karola III. Ostatnio pan dr Krzemiński nawiązał współpracę z zespołem pani dr Lopez-Gomollon z Uniwersytetu w Cambridge w Wielkiej Brytanii mającą na celu opracowanie sondy do pomiaru metylacji DNA.

Pan dr Krzemiński współpracował z sektorem gospodarczym: z IDP Pharma z Barcelony przy badaniach nad inhibitorami c-Myc i z Celon Pharma z Kazunia w Polsce nad aktywatorami receptorów Trk. Jest współautorem międzynarodowego patentu.

Habilitant recenzował do tej pory 6 manuskryptów prac naukowych w takich czasopismach jak *International Journal of Cancer*, *OncoTargets and Therapy*, *Cancer Management and Research*, *European Journal of Haematology*, *Cell Biochemistry and Function*, co świadczy o tym, że jest już rozpoznawany jako kompetentny badacz w międzynarodowym środowisku naukowym.

Uważam, że pan dr Krzemiński aktywnie działa na polu nauki, co czyni Go współautorem wartościowego dorobku. Jego bogate doświadczenie, wiedza, znajomość nowoczesnych metod i możliwości

ich zastosowania dobrze rokują na to, że wkrótce stanie się On liderem w projektach oraz publikacjach naukowych.

### **Działalność dydaktyczna i organizacyjna**

Pan dr Krzemiński posiada doświadczenie dydaktyczne, głównie z pracy w polskich jednostkach. Przed wyjazdem na staż zagraniczny prowadził wykłady z Biochemii (kierunek fizjoterapia Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego), a od 2020 r. prowadzi w SGGW zajęcia z Biologii komórek nowotworowych i macierzystych (wykłady i ćwiczenia zostały opracowane przez Habilitanta), wykłady z Metalobolomiki oraz ćwiczenia z Kancerogenezy, Cytofizjologii i Podstaw projektowania nanobiosystemów. Opracował też fakultatywne zajęcia z podstaw epigenetyki oraz biologii komórek nowotworowych odpowiednio w j. angielskim lub hiszpańskim. W Salamance poprowadził 3 godziny wykładu z zakresu epigenetyki dla studentów studium podyplomowego w Centrum Badań nad Rakiem.

Habilitant wspiera swoją wiedzą i umiejętnościami młodych adeptów nauki. Był lub nadal jest opiekunem prac dyplomowych 3 studentów z SGGW (obrony są przewidziane w 2022 r.). Był opiekunem naukowym dwojga doktorantów w Centrum Badań nad Rakiem w Salamance, które zakończyły się obronami w 2020 i 2021 r. oraz sprawował opiekę naukową nad doktorantką z Polski przebywającą na stażu naukowym w Hiszpanii. Obecnie sprawuje funkcję promotora pomocniczego doktorantki w SGGW.

Przed wyjazdem na staż naukowy pan dr Krzemiński udzielał się na Festiwalach Nauki, m.in. przez wygłoszenie wykładu, organizację warsztatów na temat migracji komórek nowotworowych. Przez 2 lata współredagował popularnonaukowy biuletyn BRAINS wydawany przez Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego w Warszawie. Z kolei podczas pobytu w Hiszpanii brał udział w organizacji laboratorium hematologicznego w Centrum Badań nad Rakiem w 2009 r. oraz w organizacji Kongresu Hiszpańskiego Towarzystwa Hematologii i Hemoterapii w 2012 r. Jest członkiem 3 stowarzyszeń naukowych (Europejskie Stowarzyszenie Hematologiczne, Polskie Towarzystwo Biochemiczne i Polskie Towarzystwo Genetyczne).

Powyższe dane świadczą o tym, że Habilitant posiada doświadczenie w edukacji młodzieży oraz angażuje się w działalność organizacyjną w stopniu adekwatnym do tego etapu kariery zawodowej.

### **Wniosek końcowy**

Biorąc pod uwagę całokształt dorobku pana dr. Patryka Krzemińskiego, uważam, że spełnia On wymogi stawiane do stopnia naukowego doktora habilitowanego określone w art. 219 Ustawy z dn. 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r., poz. 1668 z późn. zm.). W związku z tym wnioskuję o nadanie Mu stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki biologiczne.

Anne Kermen-Ambroziak