



WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY
MEDICAL UNIVERSITY OF WARSAW

Zakład Farmacji Stosowanej

Warszawa, 26.07.2019

**Recenzja osiągnięcia habilitacyjnego „Wpływ potranskrypcyjnej regulacji ekspresji genów na patogenezę i rokowanie pacjentów ze szpiczakiem plazmocytowym”
i ocena całokształtu dorobku naukowego
Dr n. farm. Ireny Misiewicz-Krzemińskiej**

w związku z postępowaniem habilitacyjnym dr n. farm. Ireny Misiewicz-Krzemińskiej prowadzonym przez Radę Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Pani Irena Misiewicz-Krzemińska stopień naukowy doktora nauk farmaceutycznych uzyskała w roku 2006 decyzją Wysokiej Rady Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Z Wydziałem Farmaceutycznym Pani dr Irena Misiewicz-Krzemińska wiąże się dalej, bowiem we wniosku o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego skierowanym do Centralnej Komisji do Spraw Stopni i Tytułów wskazuje Wydział Farmaceutyczny UM w Łodzi jako jednostkę do przeprowadzenia postępowania. Praca naukowa wyznaczająca dorobek doktorski (rozprawa „*Chemoprewentywne właściwości związków z grupy izotiocyanianów*”, promotor Prof. dr hab. Teresa Kasprzycka-Guttman) spaja się z jednostką naukową w Warszawie – z Narodowym Instytutem Leków, z którym Pani Misiewicz-Krzemińska związała się już w czasie studenckim. Pani Irena Misiewicz-Krzemińska jest absolwentką Międzywydziałowego Studium Biotechnologii Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. Tytuł zawodowy magistra biotechnologii uzyskała w roku 2002, praca magisterska wykonana w Narodowym Instytucie Leków w Warszawie pt.: „*Cytotoksyczny wpływ doksorubicyny i WP903 na odporne i wrażliwe linie komórek nowotworowych*”, promotor dr Janusz Skierski. W mojej opinii kontakt habilitantki już od czasów studenckich z jednostką naukową – instytutem badawczym, ukończenie Międzywydziałowego Studium Biotechnologii SGGW promowały naukowe ambicje Pani dr Misiewicz-Krzemińskiej i nie jest zaskoczeniem, że w chwili obecnej Pani dr Misiewicz-Krzemińska przebywa za granicą i dorobek naukowy będący podstawą osiągnięcia habilitacyjnego wypływa bezpośrednio z pracy poza granicami Polski. Od roku 2009 aktywność naukowa Pani dr Misiewicz-Krzemińskiej wiązać należy z pracą w jednostkach naukowych w Hiszpanii, w Salamance. W Salamance Pani dr Misiewicz-Krzemińska była

związana z Cancer Research Center, Hospital Universitario de Salamanca oraz z Institute for Biomedical Research of Salamanca, w którym pracuje do chwili obecnej. Publikacje naukowe stanowiące podstawę osiągnięcia naukowego powstały w ośrodkach hiszpańskich. Wskazane przez Panią dr Irenę Misiewicz-Krzemińską osiągnięcie habilitacyjne pt.: „*Wpływ potranskrypcyjnej regulacji ekspresji genów na patogenezę i rokowanie pacjentów ze szpiczakiem plazmocytowym*” powstało w oparciu o siedem prac (A1-A7) opublikowanych w pismach o zasięgach międzynarodowych i bardzo wysokich współczynnikach oddziaływania (Impact Factor, IF). Cykl publikacji habilitacyjnych obejmuje następujące prace:

A1. Norma C. Gutiérrez, Maria Eugenia Sarasquete, **Irena Misiewicz-Krzeminska**, Manuel Delgado, Javier De Las Rivas, Fany V. Ticona, Encarna Fermiñán, Patricia Martín-Jiménez, Carmen Chillón C, Alberto Risueño, Jesus Maria Hernández, Ramon García-Sanz, Marcos González, Jesus F. San Miguel. Deregulation of microRNA expression in the different genetic subtypes of multiple myeloma and correlation with gene expression profiling. *Leukemia* 24(3):629-37, 2010. IF2010=8.966, MNiSW=32.

A2. María E Sarasquete; Norma C Gutiérrez; **Irena Misiewicz-Krzeminska**; Bruno Paiva; María C Chillón; Miguel Alcoceba; Ramón García Sanz; Jesús M Hernández; Marcos González; Jesús F San Miguel. Upregulation of Dicer is more frequent in monoclonal gammopathies of undetermined significance than in multiple myeloma patients and is associated with longer survival in symptomatic myeloma patients. *Haematologica* 96, 468 – 539, 2011. IF2011=6.424, MNiSW=40.

A3. **Irena Misiewicz-Krzeminska**, María E Sarasquete, Dalia Quwaider, Patryk Krzeminski, Fany V Ticona, Teresa Paíno, Manuel Delgado, Andreia Aires, Enrique M Ocio, Ramón García-Sanz, Jesús F. San Miguel, Norma C Gutiérrez. Restoration of microRNA-214 expression reduces growth of myeloma cells through positive regulation of P53 and inhibition of DNA replication. *Haematologica* 98(4):640-8, 2013. IF2013=5.868, MNiSW=40.

A4. **Irena Misiewicz-Krzeminska**, María E Sarasquete, Carolina Vicente-Dueñas, Patryk Krzeminski, Katarzyna Wiktorska, Luis A Corchete, Dalia Quwaider, Elizabeta A Rojas, Rocio Corral, Ana A Martín, Fernando Escalante, Abelardo Báñez, Juan L García, Isidro Sánchez-García, Ramón García-Sanz, Jesús F San Miguel, Norma C Gutiérrez. Post-

transcriptional Modifications Contribute to the Upregulation of Cyclin D2 in Multiple Myeloma. *Clinical Cancer Research* 22(1):207-17, 2016. IF2016=9.619, MNiSW=45.

A5. Elizabeta A. Rojas, Luis A. Corchete, Laura San-Segundo, Juan F. MartínezBlanch, Francisco M. Codoñer, Teresa Paíno, Noemi Puig, Ramón García-Sanz, Maria Victoria Mateos, Enrique M. Ocio, **Irena Misiewicz-Krzeminska***, Norma C. Gutiérrez* (equal contribution). Amiloride, An Old Diuretic Drug, Is a Potential Therapeutic Agent for Multiple Myeloma. *Clinical Cancer Research* 23(21):6602-6615, 2017. IF2017=10.199, MNiSW=45.

A6. **Irena Misiewicz-Krzeminska**, Luis A Corchete, Elizabeta A Rojas, Joaquin Martínez-López, Ramon García-Sanz, Albert Oriol, Joan Bladé, Juan J Lahuerta, Jesus F San Miguel, Maria Victoria Mateos, Norma C Gutiérrez. A novel nano-immunoassay method for quantification of proteins from CD138-purified myeloma cells: biological and clinical utility. *Haematologica* 103(5):880-889, 2018. IF2017=9.090, MNiSW=40.

A7. **Irena Misiewicz-Krzeminska**, Patryk Krzeminski, Luis A. Corchete, Dalia Quwaider, Elizabeta A Rojas, Ana Belen Herrero, Norma C. Gutierrez Factors that regulate microRNA expression and function in multiple myeloma. *Non-Coding RNA* 5(1), 9, 2019.

Osiągnięcie habilitacyjne stanowi sześć prac oryginalnych i jedną pracę przeglądową. W czterech pracach dr Misiewicz-Krzemińska jest pierwszą autorką co koresponduje również z zdecydowanie znaczącym wkładem własnym Pani dr Misiewicz-Krzemińskiej w powstanie prac (udział od 50% do 70%). Wartość naukowa publikacji jest imponująca. Prace zostały opublikowane w pismach o wysokiej randze międzynarodowej i wysokich współczynnikach oddziaływania (od 5,868 do 10,199!). Autorka osiągnięcie habilitacyjne definiuje w oparciu o publikacje, które ukazały się w pismach spontanicznie rozpoznawalnych na całym świecie – *Leukemia*, *Haematologica*, *Clinical Cancer Research*. Łączny IF prac wchodzących w podstawę osiągnięcia habilitacyjnego wynosi 50,166. Należy gratulować Habilitantce bardzo dobrych prac opublikowanych w tak doskonałych pismach. Jest oczywistym, że pozycje pism wyznaczają nie tylko obecny IF habilitantki, ale przede wszystkim wpływają na dalszą, przyszłą karierę naukową - wpływając na cytowalność, rozpoznawalność Habilitantki w nauce zupełnie światowej. Prace habilitacyjne Pani dr Ireny Misiewicz-Krzemińskiej powstały w latach 2010-2019, stanowią cykl spójnych tematycznie publikacji dotyczących mechanizmów regulacji ekspresji wybranych genów w zakresie patogenezy szpiczaka

plazmocytopowego. Autorka w pracach charakteryzuje molekularne podstawy rozwoju szpiczaka ze szczególnym uwzględnieniem regulacji zachodzących w cytoplazmie po transkrypcji. Jak wiadomo szpiczak plazmocytopowy należy do zmian nowotworowych hematologicznych rozwijających się w wyniku złożonych dysfunkcji DNA/RNA/Białko. Patomechanizmy transformacji nowotworowych wiąże się ze zmianami mutacyjnymi w DNA, rearanżacjami chromosomalnymi, bierze się również pod uwagę rolę zmian epigenetycznych, znaczenie nowotworowych komórek macierzystych. W zakresie szpiczaka dość istotnym jest charakteryzowanie przebiegu transformacji nowotworowej na etapie potranskrypcyjnych regulacji ekspresji genów ze szczególnym uwzględnieniem oceny poziomu / ekspresji mikroRNA. W badaniach habilitacyjnych Pani dr Irena Misiewicz-Krzemińska zwraca w sposób znaczący uwagę na rolę regulatorowych cząstek RNA w kontroli ekspresji genów w szpiczaku plazmocytopowym profilując mikroRNA, jak również analizując znaczenie wybranych enzymów obróbki potranskrypcyjnej np. Dicer i Drosha. Przesłanki koncepcyjne, stan wiedzy dotyczący roli mikroRNA w patogenezie szpiczaka plazmocytopowego habilitantka zawarła w pracy przeglądowej wchodzącej w cykl prac habilitacyjnych – praca A7, Misiewicz-Krzeminska I et al. Factors that regulate microRNA expression and function in multiple myeloma. *Non-Coding RNA* 5(1), 9, 2019. Roli mikroRNA w rozwoju szpiczaka autorka poświęciła znaczącą część pracy habilitacyjnej. Habilitantka wykazała, że w komórkach szpiczaka ekspresja zdecydowanej puli mikroRNA ulega obniżeniu i profil zależny jest od zmian cytogenetycznych w komórkach. Habilitantka zwraca uwagę na znaczenie mikroRNA-214 oraz mikroRNA-375. Habilitantka w pracy opublikowanej w *Haematologica* (A3) wnosi ciekawe obserwacje wskazujące, że eksperymentalne (nukleofekcja) przywrócenie ekspresji miR-214 prowadzi do zahamowania proliferacji i indukcji apoptozy w badanych komórkach szpiczaka. Wyniki uzyskane przez Habilitantkę dostarczają cennych informacji poznawczych, jak również zwracają uwagę na możliwość wykorzystania mikroRNA jako czynników terapeutycznych np. w strategiach terapii genowej u chorych na szpiczaka. Ciekawe również spostrzeżenia zawarła Habilitantka w pracy opublikowanej w *Clinical Cancer Research* (A4). Autorka wykazała, że ekspresja cykliny D2 (CCND2), znaczącego białka w zakresie przebiegu cyklu komórkowego, w komórkach szpiczaka jest na istotnym poziomie regulowana potranskrypcyjnie. Habilitantka, wykonując szereg niezwykle cennych i złożonych metodologicznie doświadczeń *in vitro*, wykazała, że obniżenie ekspresji wybranych mikroRNA przyczynia się do nadekspresji CCND2 implikując bezpośrednio do przebiegu szpiczaka. Aspekt wykorzystania profilowania potranskrypcyjnego do celów terapii chorych na szpiczaka plazmocytopowego Habilitantka w

przekonujący sposób poruszyła również w pracy opublikowanej w roku 2017 w *Clinical Cancer Research* (A5). Praca opiera się na badaniach przedklinicznych inhibitora spliceosomu i definiuje tym samym przydatność profilowania potranskrypcyjnego do celów terapii chorych na szpiczaka. W mojej ocenie publikacja A5 jest najcenniejszą z cyklu habilitacyjnego Pani dr Misiewicz-Krzemińskiej. Habilitantka w pracy zwraca szczególną uwagę na koncepcję, która jest niezwykle cenna i użyteczna w farmakoterapii, na podejście definiowane jako „repozycjonowanie leków”, sprowadzane do stosowania leków o ustalonych charakterystykach farmakokinetycznych i farmakodynamicznych w innych niż pierwotnie ustalone wskazaniach. Habilitantka pracę A5 ukierunkowała na badania poświęcone charakterystyce leku, pierwotnie, moczopędnego stosowanego w leczeniu np. pacjentów z nadciśnieniem tętniczym – amilorydu – w zakresie oceny potencjalnych właściwości przeciwnowotworowych leku w stosunku do szpiczaka plazmocytozy ze szczególnym uwzględnieniem oceny aktywności amilorydu na poziomie oddziaływania potranskrypcyjnego co jest przedmiotem wiodącym prac Habilitantki. W pracy przeprowadzono szereg badań *in vitro*, *ex vivo*, *jak i in vivo* z udziałem zwierząt laboratoryjnych. Habilitantka wykonała badania z uwzględnieniem różnych sygnatur TP53. Wykazano, że amiloryd indukuje apoptozę w komórkach szpiczaka w mechanizmach zależnych i niezależnych od kaspaz. Amiloryd wykazywał również cytotoksyczność w zakresie plazmocytozy pobranych od pacjentów. W badaniach z udziałem myszy laboratoryjnych obarczonych podskórnymi *plazmacytomami* obserwowano wydłużony czas przeżycia w grupach, które otrzymywały amiloryd. Poszukując mechanizmów potranskrypcyjnych odpowiedzialnych za przeciwnowotworową aktywność amilorydu Habilitantka w pracy A5 wykonała również badania w oparciu o bardzo aktualną metodykę - wykonano profilowanie ekspresji genów korzystając z unikalnego rozwiązania – RNA-Seq. Badania sekwencjonowania wykazały, że amiloryd zmienia poziom ekspresji izoform transkryptów i liczbę zdarzeń alternatywnego składania. Habilitantka bardzo trafnie zauważa, że dzięki zastosowanej metodzie RNA-Seq wykryto istotne różnice w ekspresji izoform dla wybranych genów (geny układu spliceosomu), których całkowita ekspresja nie uległa zmianie. Habilitantka wykazała, że amiloryd powoduje degradację czynników splicingowych. Autorka wykonanymi badaniami konkluduje, że aktywność przeciwnowotworowa amilorydu w zakresie szpiczaka związana jest z deregulacją spliceosomu i wpływem na funkcjonowanie szlaku TP53. Charakteryzując badania habilitacyjne Pani dr Ireny Misiewicz-Krzemińskiej warto podkreślić doskonałą znajomość ultranowoczesnych metod badawczych z zakresu biologii / genetyki molekularnej komórki i istotne zaangażowanie w doskonalenie warsztatu badawczego. Wyrazem wyszczególnionej

aktywności jest np. publikacja A6 osiągnięcia habilitacyjnego. Autorka w sposób wyczerpujący opisuje opracowaną metodę ilościowego oznaczania białek / mRNA w komórkach szpiczaka. W kontekście powszechnie występujących w laboratoriach trudności w badaniu biomolekuł na poziomie proteomu propozycja nowych rozwiązań jest szczególnie cenna. Autorka wdraża nową technikę oznaczania białek opartą na nano-kapilarnym teście immunologicznym. Istotnym jest, że proponowane rozwiązanie zostało weryfikowane z użyciem materiału biologicznego od pacjentów onkologicznych i jest przewidziane do wykorzystania w warunkach klinicznych oraz nie mniej istotne jest, że rozwiązanie dostarcza informacji o poziomie białek, a opiera się na wykorzystaniu próbek przeznaczonych do analizy DNA i RNA.

Badania naukowe Pani Irena Misiewicz-Krzemińska, obecnie Habilitantka, rozpoczęła już w okresie studiowania biotechnologii w Międzyuczelnianym Studium Biotechnologii SGGW. Wykonując pracę magisterską, później doktorską, prowadząc żmudne i pracochłonne badania zdefiniowane następnie jako osiągnięcie habilitacyjne Pani Irena Misiewicz-Krzemińska zdobyła niezwykle cenne wykształcenie i kwalifikacje zawodowe. Obecnie Pani Dr Misiewicz-Krzemińska jest niezwykle sprawnym naukowcem z obiecującym, otwartym potencjałem koncepcyjnym i bardzo dobrym przygotowaniem warsztatowym. Pani Doktor Misiewicz-Krzemińska obecnie posiada w dorobku naukowym 35 prac badawczych o łącznym IF = 111,498, uzyskany patent na pochodne sulforafanu, udział w wielu projektach badawczych, wiele wystąpień konferencyjnych, odbyte szkolenia krajowe i przede wszystkim międzynarodowe. Doświadczenie dydaktyczne Habilitantki jest niewielkie, sprowadza się do nielicznych wykładów i opieki naukowej głównie nad studentami w trakcie realizacji pracy magisterskiej. Cennym uzupełnieniem oceny dorobku naukowego jest również, że prace Habilitantki były cytowane ponad 600 razy czego wyrazem jest wysoki indeks Hirscha badaczki (H=13).

Podsumowując stwierdzam, że osiągnięcie habilitacyjne Pani dr n. farm Ireny Misiewicz-Krzemińskiej „*Wpływ potranskrypcyjnej regulacji ekspresji genów na patogenezę i rokowanie pacjentów ze szpiczakiem plazmocytowym*”, jak i całokształt dorobku naukowego, są w pełni wystarczające do prowadzenia postępowania habilitacyjnego i uzasadniają nadanie Dr Irenie Misiewicz-Krzemińskiej stopnia naukowego doktora habilitowanego. Niniejszym, z przekonaniem wnioskuję do Wysokiej Rady Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie Dr Ireny Misiewicz-Krzemińskiej do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.

KIEROWNIK
Zakładu Farmacji Stosowanej
Maciej Malcecki
prof. dr hab. n farm. Maciej Malcecki