

Autoreferat

1. Imię i Nazwisko.

Monika Majewska-Szczepanik

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/ artystyczne – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

26.06.2003 - dyplom magistra analityki medycznej, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum Wydział Farmaceutyczny Oddział Analityki Medycznej, Kraków. Tytuł pracy doktorskiej: *„Ocena stężenia oreksyny A i oreksyny B u dzieci i młodzieży”*.

18.04.2008 – dyplom doktora nauk biologicznych z wyróżnieniem, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum Wydział Lekarski, Kraków. Tytuł rozprawy doktorskiej: *„Rola receptorów TLR w przełamaniu tolerancji immunologicznej indukowanej przez naskórną aplikację antygeny”*.

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/ artystycznych.

01.10.2003 – 31.03.2007 r.: studia doktoranckie, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum Wydział Lekarski

01.04.2007 r. – 31.12.2010 r.: pracownik naukowo-techniczny, na stanowisku starszego referenta, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum Wydział Nauk o Zdrowiu Instytut Pielęgniarstwa i Położnictwa Zakład Biologii Rozwoju Człowieka

01.01.2011 r. – 30.06.2011 r.: pracownik naukowo-techniczny, na stanowisku specjalisty naukowo-technicznego, Uniwersytet Jagielloński Collegium

Medicum Wydział Nauk o Zdrowiu Instytut Pielęgniarstwa i Położnictwa Zakład Biologii Rozwoju Człowieka

01.07.2011 r.: pracownik naukowo-dydaktyczny, na stanowisku adiunkta, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum Wydział Nauk o Zdrowiu Instytut Pielęgniarstwa i Położnictwa Zakład Biologii Rozwoju Człowieka

- w wyniku zmian w strukturze Zakładu Biologii Rozwoju Człowieka: od dnia 01.01.2012 zatrudnienie na stanowisku adiunkta, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum Wydział Nauk o Zdrowiu Instytut Pielęgniarstwa i Położnictwa Katedra Biologii Medycznej Zakład Biologii Rozwoju Człowieka

Dodatkowe informacje o dłuższych przerwach w pracy:

- od 14.08.2017 r. do 11.09.2017 r.: zwolnienie lekarskie
- od 12.09.2017 r.: urlop macierzyński

4. Wskazanie osiągnięcia* wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016 r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311):

a) tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego,

Naskórna aplikacja antygenu białkowego wraz z ligandami receptorów odpowiedzi wrodzonej jako metoda regulacji odpowiedzi immunologicznej.

b) (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa),

W ramach osiągnięcia naukowego przedstawiam trzy oryginalne publikacje opublikowane po uzyskaniu stopnia doktora nauk biologicznych, których jestem pierwszym autorem. Łączna liczba punktów dla publikacji stanowiących moje osiągnięcie naukowe wynosi:

- Impact Factor: 17,682

- pkt. MNiSW: 95.

1. **Majewska-Szczepanik, M.**, Yamamoto, N., Askenase, P.W., Szczepanik, M.: Epicutaneous immunization with phosphorylcholine conjugated to bovine serum albumin (PC-BSA) and TLR9 ligand CpG alleviates pneumococcal pneumonia in mice. *Pharmacol. Rep.* 66(4):570-575, 2014.

IF: 1,928

pkt. MNiSW: 25

Mój udział w powstawaniu tej pracy polegał na opracowaniu planu badań doświadczalnych, wykonaniu doświadczeń polegających na ocenie wagi ciała myszy oraz poziomu cytokin w uzyskanym materiale badawczym, których wyniki przedstawiono odpowiednio na Ryc. 1B, Ryc. 2 oraz Ryc. 3, opracowaniu, analizie statystycznej i interpretacji uzyskanych wyników, przygotowaniu graficznej wersji wszystkich rycin zamieszczonych w artykule oraz przygotowaniu manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 65%.

2. **Majewska-Szczepanik, M.**, Strzępa, A., Marcińska, K., Wen, L., Szczepanik, M.: Epicutaneous immunization with TNP-Ig and zymosan induces TCR $\alpha\beta$ ⁺ CD4⁺ contrasuppressor cells that reverse skin-induced suppression via IL-17A. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 164(2):122-136, 2014.

IF: 2,673

pkt. MNiSW: 20

Mój udział w powstawaniu tej pracy polegał na opracowaniu planu badań doświadczalnych, wykonaniu doświadczeń, których wyniki przedstawiono na Ryc. 2a i 2c oraz Ryc. 4-7, na opracowaniu, analizie statystycznej i interpretacji uzyskanych wyników przedstawionych na Ryc. 2a i 2c oraz Ryc. 4-7, przygotowaniu graficznej wersji wszystkich rycin zamieszczonych w artykule oraz przygotowaniu manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 70%.

3. **Majewska-Szczepanik, M.**, Askenase, P.W., Lobo, F.M., Marcińska, K., Wen, L., Szczepanik, M.: Epicutaneous immunization with ovalbumin and CpG induces TH1/TH17 cytokines, which regulate IgE and IgG2a production. J. Allergy Clin. Immunol. 138(1):262-273, 2016.

IF: 13,081

pkt MNiSW: 50

Mój udział w powstawaniu tej pracy polegał na opracowaniu planu badań doświadczalnych, wykonaniu doświadczeń przedstawionych w pracy, analizie statystycznej i interpretacji uzyskanych wyników, przygotowaniu graficznej wersji wszystkich rycin zamieszczonych w artykule oraz przygotowaniu manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 75%.

Oświadczenia współautorów określające indywidualny wkład każdego z nich w powstanie w/w publikacji przedstawiono w załączniku nr 6 pt. „Oświadczenia współautorów”.

c) omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

Skóra odgrywa kluczową rolę w termoregulacji, utrzymaniu prawidłowej gospodarki wodno-elektrolitowej jak również jest głównym źródłem witaminy D dla organizmu. Ponadto skóra tworzy skuteczną zaporę dla drobnoustrojów, jak również chroni ustrój przed działaniem ksenobiotyków i szkodliwych czynników fizycznych. Skóra stanowi również ważny narząd zaangażowany w mechanizmach immunologicznych i właśnie to zagadnienie jest głównym tematem moich badań naukowych.

Skóra jest miejscem, w którym bardzo łatwo można indukować odpowiedź immunologiczną, której klasycznym przykładem jest reakcja nadwrażliwości kontaktowej (CS) na małocząsteczkowe substancje zwane haptenami [Tsuji RF et al. J. Exp. Med. 2002, 196: 1277-1290]. Badania ostatnich lat dowiodły, że ekspozycja skóry na antygeny białkowe przy zachowaniu odpowiednich warunków immunizacji może prowadzić do indukcji różnych populacji komórek supresorowych, które modyfikują przebieg

odpowiedzi immunologicznej. Badania nad naskórną (EC) indukowaną supresją zostały zainspirowane obserwacjami wskazującymi, że podanie antygeny białkowego na skórę w postaci opatrunku z gazy (patch method) indukuje odpowiedź Th2 zależną, której towarzyszy uwalnianie IL-4 oraz IL-13 [Wang LF et al. J. Immunol. 1996, 156: 4077-4082; Herrick CA et al. J. Clin. Invest. 2000, 105: 765-775], które potencjalnie mogą hamować odpowiedź immunologiczną mediowaną przez limfocyty CD4⁺Th1. Badania przeprowadzone w mysim modelu reakcji CS wykazały, że EC aplikacja antygeny białkowego TNP-Ig (mysie immunoglobuliny znakowane haptenu TNP) przed wywołaniem reakcji CS poprzez uczulenie roztworem haptenu TNP-CI hamuje reakcję zapalną w skórze przebiegającą z udziałem limfocytów CD4⁺Th1. Za obserwowane zjawisko supresji były odpowiedzialne limfocyty supresorowe o fenotypie TCRαβ⁺CD4⁺CD8⁺ uwalniające TGF-β [Szczepanik M et al. Immunology 2005, 115: 42-54].

Równoległe do badań nad skutecznością EC immunizacji antygenem białkowym w hamowaniu reakcji CS, u podstaw której leży reakcja zapalna z udziałem limfocytów T, prowadzono badania zmierzające do sprawdzenia, czy wspomniana metoda EC immunizacji okaże się również skuteczna w leczeniu schorzeń autoimmunizacyjnych. W tym celu posłużono się zwierzęcym modelem stwardnienia rozsianego u myszy (EAE – eksperymentalne autoimmunizacyjne zapalenie rdzenia kręgowego i mózgu). W niniejszych badaniach zaobserwowano, że EC aplikacja białka zasadowego mieliny (MBP) przed wywołaniem choroby znacznie opóźnia jej rozwój oraz łagodzi jej przebieg. Obserwowane złagodzenie przebiegu EAE było wynikiem działania limfocytów supresorowych TCRαβ⁺CD4⁺CD8⁺, które hamowały reakcję zapalną w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN) za pośrednictwem uwalnianego TGF-β [Szczepanik M et al. J. Neuroimmunol. 2005, 164: 105-114; Tutaj M et al. J. Autoimmun. 2007, 28: 208-215]. Na uwagę zasługuje fakt, że EC podanie MBP u myszy wykazujących pierwsze symptomy EAE znacznie łagodziło u nich przebieg choroby, co wskazuje na terapeutyczne zastosowanie niniejszej metody.

Obserwacje poczynione w modelach reakcji CS oraz EAE u myszy pozwalają przypuszczać, że manewr EC immunizacji odpowiednim antygenem może

stać się uniwersalną metodą indukcji stanu tolerancji immunologicznej (supresji), który pozwoli na kontrolowanie niepożądanego odpowiedzi immunologicznej. Niniejsze przypuszczenie stało się punktem wyjścia do rozpoczęcia badań klinicznych w grupie pacjentów chorujących na stwardnienie rozsiane (SM) [Juryńczyk M et al. *Ann. Neurol.* 2010, 68: 593-601; Walczak A et al. *JAMA Neurol.* 2013, 70: 1105-1109].

Pozytywne wyniki badań eksperymentalnych oraz klinicznych wskazujące na możliwość indukowania stanu tolerancji immunologicznej poprzez aplikację antygeny na skórę skierowały moje zainteresowania na dalsze tory badań. W kolejnych badaniach podjęłam próbę sprawdzenia, czy aplikacja antygeny białkowego indukującego stan tolerancji immunologicznej przy modyfikacji warunków immunizacji pozwoli na wywołanie prawidłowej odpowiedzi immunologicznej. W odróżnieniu od układu badanego, gdzie do immunizacji stosowano czysty antygen białkowy, drobnoustroje poza immunogennymi determinantami wyposażone są dodatkowo w tzw. wzorce molekularne związane z patogenami (PAMPs) rozpoznawane przez receptory PRR odporności wrodzonej, które najprawdopodobniej mogą odgrywać kluczową rolę nie tylko w indukcji odpowiedzi immunologicznej, ale również w przełamaniu stanu supresji. Badania przeprowadzone na zwierzętach w modelu reakcji CS wykazały, że EC aplikacja antygeny białkowego TNP-Ig wraz z lipopolisacharydem (LPS) - ligandem receptora TLR4, prowadzi do przełamania stanu supresji indukowanej przez podanie samego antygeny. EC indukowany stan przełamania supresji nazwano kontrasupresją. Za obserwowane zjawisko kontrasupresji odpowiedzialne są limfocyty należące do populacji $TCR\alpha\beta^+CD4^+$ i proces ten jest zależny od receptora TLR4 i białka adaptorowego MyD88 oraz wymaga obecności IFN- γ oraz IL-12 [Ptak W et al. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2006, 139: 188-200; Ptak W et al. *J. Immunol.* 2009, 182: 837-850; Majewska M et al. *Pharmacol. Rep.* 2009, 61: 539-549].

Cykl prac przedstawiony jako osiągnięcie naukowe jest kontynuacją badań oceniających pozytywną regulację (kонтasupresję) procesów immunologicznych poprzez EC aplikację antygeny białkowego w obecności ligandów receptorów odporności wrodzonej w trzech różnych modelach zwierzęcych, a mianowicie w pneumokokowym zapaleniu płuc u myszy, w

mym modelu CD4⁺Th1-zależnej reakcji CS oraz mysim modelu atopowego zapalenia skóry (AD). Uzyskane wyniki badań stały się podstawą do opublikowania trzech prac oryginalnych o łącznym impact factor 17.682.

Celem pierwszej publikacji z cyklu prac stanowiących moje osiągnięcie naukowe było sprawdzenie, czy EC aplikacja antygenu białkowego w obecności ligandu receptora TLR złagodzi przebieg zapalenia płuc u myszy indukowanego dotchawiczym podaniem bakterii *Streptococcus pneumoniae*. W metodzie EC aplikacji zastosowano antygen PC-BSA, czyli albuminę bydlęcą (BSA) skoniugowaną z fosforylocholiną (PC), która jest jednym z głównych antygenów występujących w ścianie komórkowej bakterii *Streptococcus pneumoniae* oraz ligand receptora TLR9, którym jest CpG (niemetylowane oligonukleotydy cytozyno-guaninowe) silnie aktywujący odpowiedź immunologiczną typu humoralnego i komórkowego. Wybór CpG był podyktowany własnymi obserwacjami w modelu reakcji CS [Ptak W et al. Int. Arch. Allergy Immunol. 2006, 139: 188-200] oraz wynikami innych badaczy, które wykazały, że profilaktyczne podanie syntetycznego CpG różnymi drogami (iniekcja, inhalacja, podanie doustne i dopochwowe) indukuje u myszy krótkotrwałą protekcję przed zakażeniami wirusowymi, bakteryjnymi i pasożytniczymi [Krieg AM Nucleic Acid Ther. 2012, 22: 77–89]. Dodatkowo badania kliniczne wykazały, że podanie CpG zwiększa immunogenność szczepionki zawierającej antygen powierzchniowy wirusa zapalenia wątroby typu B (HBsAg) [Cooper CL et al. J. Clin. Immunol. 2004, 24: 693-701] oraz szczepionki przeciwko grypie [Cooper CL et al. Vaccine 2004, 22: 3136–3143]. Obiecujące wyniki zastosowania CpG uzyskano również w badaniach, których celem było opracowanie szczepionki przeciwnowotworowej u pacjentów z czerniakiem oraz rakiem prostaty [Fourcade J et al. J Immunother. 2008, 31: 781–791; Kurbach J et al. Clin. Cancer Res. 2011, 17: 861–870]. Warto jednak zaznaczyć, że iniekcja CpG powoduje również wiele lokalnych i systemowych efektów niepożądanych [Krieg AM Nucleic Acid Ther. 2012, 22: 77–89]. W związku z tym w opublikowanych badaniach postanowiono przetestować metodę EC indukowanej immunopotencjacji odpowiedzi immunologicznej w mysim modelu zapalenia płuc. Przeprowadzone badania wykazały, że myszy EC traktowane PC-BSA w

obecności CpG przejawiały znamienne mniejszy spadek masy ciała względem grupy kontrolnej, której na skórę podawano zbuforowany roztwór soli fizjologicznej (PBS) przed inokulacją *Streptococcus pneumoniae*. Obserwowane zmiany w masie ciała myszy w poszczególnych grupach korelowały z objawami behawioralnymi zwierząt, takimi jak drżenie, zmierzwiona sierść i osowiałość. Na uwagę zasługuje fakt, że myszy, którym EC aplikowano PC-BSA wraz z CpG wykazywały znamienne obniżenie liczby bakterii wyhodowanych z tkanki płucnej w porównaniu do grupy kontrolnej traktowanej PBS przed inokulacją *Streptococcus pneumoniae*. Kolejnym etapem badań było określenie roli cytokin w EC indukowanej immunopotencjacji, która powodowała ograniczenie namnażania bakterii w płucach u myszy traktowanych PC-BSA+CpG przed inokulacją *Streptococcus pneumoniae*. Ocena stężenia cytokin w supernatantach hodowlanych wykazała, że komórki wyizolowane z pachowych i pachwinowych węzłów chłonnych (ALNC) oraz ze śledziony (SPLC) od myszy EC traktowanych PC-BSA w obecności CpG produkują znamienne większe ilości cytokin prozapalnych IFN- γ i IL-17A względem dołączonych grup kontrolnych traktowanych PBS lub PC-BSA lub CpG. Dodatkowo w supernatantach hodowlanych ALNC wykazano znamienne wyższe stężenie cytokiny prozapalnej TNF- α oraz przeciwzapalnej IL-10 u myszy EC traktowanych PC-BSA+CpG względem kontroli traktowanej PBS oraz grupy zwierząt traktowanych samym antygenem PC-BSA. Obserwowanych zmian w poziomach TNF- α i IL-10 w supernatantach z ALNC nie odnotowano w supernatantach z hodowli SPLC. Analiza dodatkowych cytokin nie wykazała zmian w stężeniu IL-12p70 pomiędzy badanymi grupami natomiast stężenie TGF- β we wszystkich grupach było poniżej progu oznaczalności. Podsumowując, przedstawione wyniki wskazują, że EC immunizacja mieszaniną antygenem PC-BSA i CpG przed indukcją pneumokokowego zapalenia płuc u myszy ma działanie protekcyjne, u podstaw którego leży wzmożone uwalnianie cytokin prozapalnych, takich jak IFN- γ , IL-17A oraz TNF- α przez komórki obwodowych węzłów chłonnych drenujących skórę oraz śledziony.

Celem drugiej publikacji z cyklu prac stanowiących moje osiągnięcie naukowe było określenie mechanizmu kontrasupresji indukowanej EC aplikacją antygeny białkowego TNP-Ig (immunoglobuliny mysie znakowane haptenu TNP) z dodatkiem zymosanu w modelu reakcji CS mediowanej przez limfocyty CD4⁺Th1. Zymosan stanowi główny składnik ściany komórkowej *Saccharomyces cerevisiae*, którego głównymi składnikami są mannany, chityna i beta-glukany. Rozpoznanie zymosanu przez różne receptory PRR powoduje wzrost uwalniania cytokin, chemokin oraz reaktywnych form tlenu promując rozwój reakcji zapalnej.

Uzyskane wyniki badań wykazały, że EC aplikacja TNP-Ig wraz z zymosanem przed wywołaniem reakcji CS na haptenu TNP-Cl przełamuje stan supresji indukowany EC podaniem samego antygeny TNP-Ig przed uczuleniem haptenu TNP-Cl. U myszy, którym na skórę podano TNP-Ig wraz z zymosanem przed uczuleniem TNP-Cl odnotowano nasiloną odpowiedź CS przejawiającą się zwiększonym obrzękiem małżowiny usznej, będącej miejscem wywołania fazy efektorowej reakcji CS, wzmożoną przepuszczalnością naczyń krwionośnych uszu, wzrostem masy bioptatów usznych, wzmożoną aktywnością mieloperoksydazy oraz podwyższonym stężeniem IL-17A w homogenatach uszu względem kontroli, u której indukowano stan supresji poprzez EC aplikację samego antygeny TNP-Ig przed indukcją reakcji CS. Dodatkowo wykazano, że komórki efektorowe wyizolowane z ALNC drenujących skórę u myszy EC traktowanych antygenem TNP-Ig wraz z zymosanem przed uczuleniem TNP-Cl wykazują znamienne większą proliferację w porównaniu do ALNC wyizolowanych od myszy, u których indukowano stan supresji poprzez EC aplikację antygeny TNP-Ig przed indukcją reakcji CS. W celu określenia mechanizmu obserwowanej kontrasupresji wykonano serię badań z zastosowaniem techniki adoptywnego transferu komórek wyizolowanych z narządów chłonnych do naiwnych biorców. Przeprowadzone badania wykazały, że sama metoda EC podania antygeny TNP-Ig z zymosanem nie indukuje komórek efektorowych reakcji CS ale prowadzi do pojawienia się komórek kontrasupresyjnych, które chronią komórki efektorowe reakcji CS przed działaniem komórek supresorowych indukowanych EC podaniem samego antygeny TNP-Ig. W pracy



zaprezentowano również cykl eksperymentów określających fenotyp oraz swoistość antygenową komórki kontrasupresyjnej, która należy do limfocytów T wykazujących ekspresję receptora antygenowego TCR $\alpha\beta$ i koreceptora CD4 oraz charakteryzuje się swoistością antygenową względem antygeny, który został zastosowany podczas EC aplikacji wraz z zymosanem. Dodatkowe badania umożliwiły bardziej szczegółowo scharakteryzować mechanizm działania opisywanej komórki kontrasupresyjnej. Badania *in vitro* wykazały, że komórki ALNC indukowane poprzez EC aplikację mieszaniny antygeny TNP-Ig i zymosanu produkują znacznie więcej IL-17A oraz IFN- γ aniżeli komórki ALNC grup kontrolnych traktowanych odpowiednio PBS, samym antygenem TNP-Ig lub samym zymosanem. Silnie zaznaczający się wzrost syntezy IL-17A przez komórki kontrasupresyjne izolowane od myszy EC traktowanych TNP-Ig i zymosanem oraz wcześniejszy wynik wykazujący wzrost stężenia IL-17A w biopatach usznych myszy EC traktowanych TNP-Ig i zymosanem przed uczuleniem TNP-CI wskazuje na istotne znaczenie IL-17A w obserwowanym zjawisku kontrasupresji. W celu potwierdzenia tej hipotezy postanowiono przetestować możliwość indukcji komórek kontrasupresyjnych u myszy IL-17A^{-/-}B6, które nie wytwarzają IL-17A. Posługując się metodą adoptywnego transferu komórek wykazano, że komórki kontrasupresyjne indukowane EC podaniem TNP-Ig i zymosanu u myszy IL-17A^{-/-}B6 nie posiadają zdolności do przełamania supresji, co ostatecznie potwierdziło kluczową rolę IL-17A w badanym mechanizmie przełamania supresji. Warto zaznaczyć, że w niniejszej pracy wykazano również, że EC aplikacja mieszaniny TNP-Ig i lipopolisacharydu (LPS, ligand receptora TLR4) indukowała stan przełamania supresji u myszy IL-17A^{-/-}B6 w przeciwieństwie do aplikowanej mieszaniny zawierającej TNP-Ig oraz zymosan wskazując na odmienne mechanizmy indukowanej kontrasupresji uzależnione od charakteru zastosowanego PAMP. W kolejnym etapie badań postanowiono określić, który z receptorów PRR odpowiedzi wrodzonej bierze udział w mechanizmie kontrasupresji indukowanej EC podaniem mieszaniny TNP-Ig i zymosanu. Zymosan jest rozpoznawany przez wiele różnych receptorów odporności wrodzonej, z których najważniejsze to TLR2 współdziałający z TLR1 lub TLR6 oraz Dektyna-1 (Dectin-1), receptor β -glukanów. W pierwszej kolejności

postanowiono określić udział receptorów TLR2 i białka MyD88, czyli białka adaptorowego biorącego udział w przekaźnictwie sygnału pobudzającego komórkę w wyniku aktywacji receptorów TLR2. Badania z wykorzystaniem myszy genetycznie zmodyfikowanych, pozbawionych receptorów TLR2 (TLR2^{-/-}B6) oraz białka MyD88 (MyD88^{-/-}B6), wykazały, że aktywność komórek kontrasupresyjnych indukowanych EC podaniem mieszaniny TNP-Ig i zymosanu u tych myszy jest niezmienną dowodząc, że działanie badanych komórek kontrasupresyjnych nie wymaga obecności receptorów TLR2 i białka adaptorowego MyD88. Dodatkowo odnotowano wzrost uwalniania IL-17A u myszy TLR2^{-/-}B6 EC traktowanych TNP-Ig wraz z zymosanem potwierdzając tym samym, że receptor TLR2 nie bierze udziału w badanej kontrasupresji mediowanej przez IL-17A. W końcowej części pracy przetestowano udział receptorów Dektyny-1 w badanym mechanizmie kontrasupresji stosując w metodzie EC immunizacji mieszaninę antygeny TNP-Ig i kurdlanu (curdlan) będącego β-glukanem, który jest ligandem receptorów Dektyny-1. Wykazano, że EC podanie antygeny TNP-Ig wraz z kurdlanem przełamuje stan supresji indukowanej aplikacją samego antygeny TNP-Ig a stopień przełamania supresji odpowiada kontrasupresji uzyskanej po EC aplikacji mieszaniny antygeny TNP-Ig i zymosanu. Podsumowując w niniejszej pracy scharakteryzowano stan kontrasupresji mediowanej przez limfocyty TCRαβ⁺CD4⁺ indukowane EC podaniem antygeny TNP-Ig w obecności zymosanu, których mechanizm działania jest zależny od IL-17A ale nie wymaga obecności receptora TLR2 i białka adaptorowego MyD88. Warto zaznaczyć, że przedstawiony w pracy proces przełamania supresji za pomocą zymosanu jest odmienny od opisanego wcześniej mechanizmu kontrasupresji wywołanej przez EC podanie antygeny TNP-Ig wraz z LPS (ligandem receptora TLR4), który jest zależny od receptora TLR4 i białka adaptorowego MyD88 oraz wymaga obecności IFN-γ oraz IL-12 [Ptak W et al. J. Immunol. 2009, 182: 837-850].

Trzecia publikacja przedstawiona w cyklu prac stanowiących moje osiągnięcie naukowe przedstawia EC immunizację jako metodę terapii schorzeń alergicznych. Schorzenia alergiczne są wynikiem odpowiedzi immunologicznej na obojętne antygeny środowiska i w chwili obecnej dotyczą

około 25% populacji. Obecnie uważa się, że limfocyty Th2 uwalniające IL-4, IL-5 oraz IL-13 odgrywają kluczową rolę w syntezie przeciwciał IgE i rozwoju alergii. Terapia schorzeń alergicznych opiera się na leczeniu przyczynowym i objawowym. Unikanie kontaktu z alergenem, antygenowo swoista immunoterapia (SIT) czy leczenie immunomodulacyjne lekami biologicznymi, jak np. humanizowanym przeciwciałem anti-IgE, to leczenie przyczynowe. Farmakoterapia, w której stosowane są przykładowo kortykosterydy, leki antyhistaminowe, leki działające na receptor leukotrienowy łagodzą tylko objawy alergii. Niestety ten typ terapii nie leczy choroby per se, ponieważ efekty farmakoterapii nie utrzymują się po zaprzestaniu podawania leków. W związku z tym trwają intensywne badania zmierzające do stworzenia nowych, skutecznych metod terapii schorzeń alergicznych pozwalających na swoiste hamowanie choroby. Antygenowo swoista immunoterapia (SIT) ma na celu łagodzenie symptomów choroby nie tylko w czasie jej stosowania lecz również w okresie po jej zaprzestaniu. Terapia SIT ma na celu promowanie odpowiedzi Th1-zależnej, której towarzyszy produkcja IFN- γ przy jednoczesnym hamowaniu odpowiedzi z udziałem limfocytów Th2, zwiększeniu produkcji IL-10 i TGF- β oraz aktywacji limfocytów T regulatorowych (Treg). Ten typ immunoterapii ma również na celu syntezę swoistych dla alergenu przeciwciał IgG przy jednoczesnym hamowaniu produkcji przeciwciał IgE [Senti G et al. Allergy 2011, 66: 798-809]. Początek immunoterapii swoistej dla alergenu przypada na lata 20-te XX w., która obejmowała pacjentów z katarą sienną [Phillips EW JAMA 1926, 86: 182-184]. Zaobserwowano, że podskórne iniekcje ekstraktu traw znacznie łagodziły objawy choroby. Obecnie stosowana metoda podskórnej immunoterapii swoistej dla alergenu (SCIT) opiera się na tych obserwacjach i polega na kilkudziesięciu podskórnych iniekcjach wzrastających dawek alergenu w ciągu kilku lat [Frew AJ J. Allergy Clin. Immunol. 2010, 125: S306-313]. Ten typ immunoterapii wymagający wielokrotnego podania antygeny na przestrzeni paru lat poza uciążliwością dla pacjentów jest również obarczony ryzykiem wystąpienia reakcji ogólnoustrojowej – anafilaksji. W związku z tym SCIT cieszy się zainteresowaniem ograniczonej liczby pacjentów. Kolejną stosowaną metodą immunoterapii schorzeń alergicznych jest swoista dla alergenu immunoterapia podjęzykowa (SLIT) polegająca na

podawaniu alergenu podjęzykowo [Cox LS et al. J. Allergy Clin. Immunol. 2006, 117: 1021-1035; Pajno GB J. Allergy Clin. Immunol. 2007, 119: 796-801]. SLIT w porównaniu do SCIT jest metodą mniej inwazyjną i można ją stosować samodzielnie w domu pacjenta. Jednak metoda ta podobnie do SCIT wymaga podania wielu dawek alergenu i również może prowadzić do lokalnych i ogólnoustrojowych reakcji alergicznych. W związku z rozwojem immunoterapii, idącym w kierunku ograniczenia inwazyjności leczenia oraz możliwości samodzielnego stosowania preparatów, badania zmierzają w kierunku opracowania nowych, nieinwazyjnych metod immunoterapii polegających na naskórnym (EC) podaniu alergenu. Ten sposób immunizacji jest atrakcyjny, ponieważ pozwala na bezigłowe podanie alergenu na powierzchnię naskórka wyposażonego w komórki Langerhansa. Dodatkową zaletą wspomnianej drogi immunizacji jest brak naczyń krwionośnych w miejscu aplikacji antygeny, co zmniejsza ryzyko wystąpienia reakcji uogólnionej. Obecność komórek Langerhansa oraz brak naczyń krwionośnych w miejscu aplikacji antygeny sprawiają, że EC immunizacja jest bardzo efektywna i wydaje się być bardziej bezpieczna od podskórnej immunizacji. Atrakcyjność EC immunizacji sprawiła, że podjęto próby terapii schorzeń alergicznych przy użyciu swoistej dla alergenu immunoterapii naskórnej (EPIT). Próby kliniczne wykazały, że aplikacja wyciągów z pyłków traw w opatrunku przyłożonym na uprzednio przygotowaną skórę prowadzi do złagodzenia objawów kataru siennego w porównaniu do grupy placebo, zarówno u dzieci jak i u dorosłych [Agostinis F et al. Allergy 2010, 65: 410-411; Senti G et al. J. Allergy Clin. Immunol. 2012, 129: 128-135]. Wspomnianej terapii towarzyszyły jedynie lokalne zmiany skórne. W celu zwiększenia przepuszczalności naskórka dla antygeny delikatnie naruszano jego strukturę przy użyciu taśmy klejącej (tape stripping procedure). Zabieg ten poza usunięciem części warstwy rogowej działa również jak „fizyczny adiuwant”, który aktywuje keratynocyty do uwalniania IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α i IFN- γ przyczyniając się do dojrzewania komórek dendrytycznych oraz ich migracji ze skóry do węzłów chłonnych [Nickoloff BJ and Naidu Y. J. Am. Acad. Dermatol. 1994, 30: 535-546]. Obecnie uważa się, że stopień uszkodzenia naskórka przed podaniem antygeny może rzutować na charakter indukowanej odpowiedzi immunologicznej. Zaobserwowano, że subtelne,

powierzchowne uszkodzenie naskórka prowadzące do wydzielania cytokin przeciwzapalnych (TSLP, IL-25, IL-33) promuje indukcję limfocytów Th2 oraz Treg. Przypuszcza się, że istotne znaczenie w promowaniu reakcji przeciwzapalnej odgrywają komórki Langerhansa, do których dociera antygen właśnie po delikatnym uszkodzeniu naskórka [Cevikbas F and Steinhoff M J. Invest. Dermatol. 2012, 132: 1326-1329; Soumelis V et al. Nat. Immunol. 2002, 3: 673-680]. Z kolei bardziej intensywne uszkodzenie naskórka skutkuje uwalnianiem cytokin prozapalnych (IL-1 α , IL-6, TNF- α), dostarczeniem antygeny do głębiej położonych komórek dendrytycznych skóry, co preferencyjnie stymuluje rozwój odpowiedzi Th1-zależnej [Swamy M et al. Nat. Immunol. 2010, 11: 656-665]. Na uwagę zasługuje także fakt, że podanie białka lub peptydu na nienaruszoną skórę w postaci plastra zawierającego opatrunek z gazy (patch metod) również pozwala na penetrację antygeny przez naskórek. W tym przypadku obserwuje się wzmożoną penetrację antygeny przez naskórek w następstwie nawodnienia wierzchniej warstwy skóry w wyniku zwiększonego wydzielania potu pod opatrunkiem [Tan G et al. J. Pharm. Sci. 2010, 99: 730-740; Mondoulet L et al. Clin. Exp. Allergy 2010, 40: 659-667]. Wspomniane zmiany w przepuszczalności naskórka zachodzą już po upływie 4-10 godz. od nałożenia plastra na skórę.

Na przestrzeni ostatnich dziesięciu lat przeprowadzono wiele prób klinicznych, w których użyto CpG jako adiuwant w celu terapii chorób nowotworowych, alergii oraz jako składnik szczepionek. Warto zaznaczyć, że próby kliniczne w grupie pacjentów cierpiących na katar sienny wykazały, że podskórne podanie alergenu wraz z CpG łagodzi objawy kliniczne w porównaniu do grupy placebo [Creticos PS et al. N. Engl. J. Med. 2006, 355: 1445-1455]. Należy jednak zaznaczyć, że iniekcje CpG prowadzą często do wystąpienia wielu objawów niepożądanych zarówno miejscowych (bolesność, zaczerwienienie, obrzęk, świąd), jak i uogólnionych (ból głowy, ból mięśniowy, gorączka, nudności, wymioty), których nasilenie zależy od dawki CpG [Krieg AM. Nucleic Acid Ther. 2012, 22: 77-89]. W związku z tym w omawianej pracy podjęto próbę opracowania nieinwazyjnej metody terapii schorzeń alergicznych pozbawionej efektów ubocznych obserwowanych po iniekcji CpG. W tym celu przeprowadzono cykl badań oceniających wpływ EC

aplikacji antygeny w obecności CpG w postaci opatrunku z gazy na przebieg atopowego zapalenia skóry (AD) u myszy. Badania te wykazały, że EC aplikacja owalbuminy (OVA) wraz z CpG hamuje produkcję antygenowo swoistych przeciwciał IgE przy jednoczesnym zwiększeniu syntezy OVA specyficznych przeciwciał IgG2a w porównaniu do kontroli pozytywnej traktowanej samym antygenem OVA przed wywołaniem AD. Warto zaznaczyć, że u myszy EC traktowanych OVA w obecności CpG przed wywołaniem AD stwierdzono również znamienne niższą aktywność peroksydazy eozynofilowej (EPO) w skórze, która odzwierciedla działanie zapalone eozynofiliów. Obserwowanym zmianom w syntezie przeciwciał oraz aktywności EPO u myszy EC traktowanych OVA i CpG towarzyszyło zahamowanie produkcji cytokin uwalnianych przez limfocyty Th2 (IL-4, IL-5, IL-10 oraz IL-13) przy jednoczesnym wzroście syntezy IFN- γ i IL-17A względem myszy traktowanych samym antygenem OVA. Nie wykazano natomiast znamienych różnic w produkcji TGF- β pomiędzy testowanymi grupami. Cykl badań oceniających fenotyp komórek indukowanych EC podaniem mieszaniny OVA i CpG wykazał, że zahamowanie produkcji OVA-swoistych przeciwciał IgE było efektem działania limfocytów wykazujących ekspresję receptorów antygenowych TCR $\alpha\beta^+$ oraz koreceptorów CD4 $^+$ natomiast promowania syntezy OVA-swoistych przeciwciał IgG2a nie obserwowano w sytuacji, gdy spośród komórek regulatorowych indukowanych EC aplikacją OVA w obecności CpG usunięto limfocyty TCR $\alpha\beta^+$, TCR $\gamma\delta^+$, CD4 $^+$ lub CD8 $^+$. Uzyskane wyniki wskazują, że proces regulacji syntezy przeciwciał IgG2a jest bardziej skomplikowany i uzależniony od działania wielu populacji limfocytów T. Warto zaznaczyć, że komórki indukowane EC aplikacją OVA i CpG charakteryzuje swoistość antygenowa. Dodatkowe doświadczenia wykazały, że spadek produkcji OVA-swoistych przeciwciał IgE oraz wzrost OVA-swoistych przeciwciał IgG2a jest zależny od obecności białka adaptorowego MyD88 oraz IFN- γ . Ponadto badania z wykorzystaniem myszy IL-17A $^{-/-}$ B6, u których IL-17A nie jest produkowana oraz doświadczenia z zastosowaniem przeciwciał neutralizujących IL-17A potwierdziły kluczową rolę IL-17A w syntezie antygenowo swoistych przeciwciał IgG2a u myszy EC traktowanych mieszaniną OVA i CpG. W celu określenia, które komórki są odpowiedzialne za



wzmoczoną produkcję IFN- γ oraz IL-17A odgrywających kluczową rolę w zmianie profilu syntezy przeciwciał, dokonano analizy cytometrycznej komórek zasiedlających obwodowe węzły chłonne drenujące skórę. Uzyskane wyniki wykazały, że u myszy EC traktowanych mieszaniną OVA i CpG pojawia się zwiększona liczba komórek TCR $\alpha\beta$ ⁺CD4⁺IFN- γ ⁺, TCR $\gamma\delta$ ⁺IFN- γ ⁺, TCR $\alpha\beta$ ⁺CD4⁺IL-17A⁺ oraz TCR $\alpha\beta$ ⁺CD8⁺IL-17A⁺ w porównaniu do liczby wspomnianych populacji komórek u myszy traktowanych samym antygenem OVA. W celu odpowiedzi na pytanie, czy EC aplikacja CpG w mieszaninie z antygenem nie powoduje jego wzmożonego przenikania do ustroju stwarzając tym samym zagrożenie pojawienia się efektów niepożądanych o charakterze ogólnoustrojowym, wykonano doświadczenia oceniające poziom CpG w surowicy u myszy badanych, którym aplikowano na skórę OVA wraz z CpG oraz u myszy kontrolnych, którym EC poddano PBS lub antygen OVA. Uzyskane wyniki nie wykazały znamiennych różnic w poziomie CpG w surowicy w trzech punktach czasowych pomiędzy testowanymi grupami wskazując na minimalną absorpcję CpG przez skórę w trakcie EC podawania CpG z antygenem. Na szczególne podkreślenie zasługuje fakt, że metoda EC aplikacji antygeny z CpG prowadzi do znamiennego złagodzenia przebiegu już trwającej choroby, które stwierdzono na podstawie obniżenia stężenia OVA-swoistych przeciwciał IgE z jednoczesnym wzrostem stężenia antygenowo swoistych przeciwciał IgG2a oraz spadku aktywności EPO w skórze u myszy, które EC traktowano mieszaniną OVA i CpG w trakcie trwania reakcji alergicznej. Obserwowanym zmianom w syntezie przeciwciał oraz aktywności EPO towarzyszyło zwiększenie produkcji cytokin IFN- γ oraz IL-17A u myszy leczonych EC aplikacją antygeny wraz z CpG względem kontroli immunizowanej samym antygenem. Podsumowując wyniki niniejszej pracy należy podkreślić, że metoda EC podania antygeny w obecności CpG charakteryzuje się małą inwazyjnością i wykazuje terapeutyczne działanie u myszy z już trwającym AD, co świadczy o potencjalnej możliwości zastosowania tej metody w terapii. U podstaw obserwowanego efektu terapeutycznego EC aplikacji antygeny i CpG leży spadek produkcji cytokin Th2-zależnych oraz wzrost aktywności limfocytów Th1/Th17 uwalniających odpowiednio IFN- γ i IL-17A, które modyfikują odpowiedź humoralną u myszy



prowadząc do spadku produkcji antygenowo swoistych przeciwciał IgE z jednoczesnym wzrostem syntezy przeciwciał IgG2a.

Wyniki zaprezentowane w cyklu publikacji stanowiących moje osiągnięcie naukowe świadczą o tym, że EC immunizacja antygenem białkowym w obecności ligandów receptorów odpowiedzi wrodzonej prowadzi do modyfikacji odpowiedzi immunologicznej, co może sugerować, że niniejsza metoda może okazać się skuteczna w modulowaniu odpowiedzi immunologicznej na antygeny słabo immunogenne, w opracowaniu szczepionek oraz w immunoterapii schorzeń alergicznych.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych (artystycznych).

Analiza bibliometryczna

Na moje pozostałe osiągnięcia naukowo-badawcze składają się prace opublikowane w krajowych i zagranicznych czasopismach naukowych o sumarycznym Impact Factor 102,268 i łącznej punktacji MNiSW 853, które przedstawiono w załączniku nr 8 „Wykaz opublikowanych prac naukowych, które nie wchodzą w skład osiągnięcia naukowego”.

1. Oryginalne pełnotekstowe prace naukowe:

A. w piśmiennictwie posiadającym “Impact Factor”

- liczba prac: 33
- pierwszy autor publikacji – liczba prac: 10
- sumaryczny IF: 94,446
- liczba punktów MNiSW: 792

B. w czasopismach bez “Impact Factor”

- liczba prac: 1
- pierwszy autor publikacji – liczba prac: 0
- liczba punktów MNiSW: 0

2. Prace poglądowe:

A. w czasopismach z “Impact Factor”:

- liczba prac: 2

- pierwszy autor publikacji – liczba prac: 0
 - sumaryczny IF: 3,356
 - liczba punktów MNiSW: 40
- B. w czasopismach bez "Impact Factor":
- liczba prac: 3
 - pierwszy autor publikacji – liczba prac: 3
 - liczba punktów MNiSW: 21
3. Publikacje pełnotekstowe w suplementach czasopism:
- liczba prac: 1
 - pierwszy autor publikacji – liczba prac: 1
 - liczba punktów IF: 4,466.

Na podstawie Web of Science Core Collection – „Basic search” 1945-2017 z dnia 31.10.2017 r. (załącznik 9) obliczono:

- liczbę cytowań: 367
- liczbę cytowań bez autocytowań: 256
- współczynnik Hirscha: 12 (dot. wszystkich publikacji).

Opublikowane prace naukowe

Moje zainteresowania naukowo-badawcze koncentrują się w kilku obszarach tematycznych, które omówiłam poniżej.

1. UDZIAŁ LIMFOCYTÓW ODPORNOŚCI WRODZONEJ W REAKCJI NADWRAŻLIWOŚCI KONTAKTOWEJ (CS) U MYSZY

Jednym z pierwszych kierunków moich badań naukowych były prace nad udziałem limfocytów B1 w inicjacji reakcji nadwrażliwości kontaktowej (CS) u myszy. Badania te wykazały, że limfocyty B1 odgrywają kluczową rolę w procesie inicjacji reakcji CS i ulegają aktywacji w ciągu godziny od immunizacji haptenem. Wspomniane komórki uwalniają antygenowo swoiste przeciwciała IgM, które następnie łączą się z antygenem. Powstałe kompleksy antygen-przeciwciała aktywują dopełniacz, a uwolniony fragment C5a poprzez swoje działanie na

mastocyty umożliwia rekrutację limfocytów T efektorowych reakcji CS do miejsca wywołania reakcji.

- Itakura, A., Szczepanik, M., Campos, R.A., Paliwal, V., **Majewska, M.**, Matsuda, H., Takatsu, K., Askenase, P.W.: An hour after immunization peritoneal B-1 cells are activated to migrate to lymphoid organs where within 1 day they produce IgM antibodies that initiate elicitation of contact sensitivity. *J. Immunol.* 175(11):7170-7178, 2005.

Kolejny cykl prac badawczych jest poświęcony roli komórek iNKT w inicjacji reakcji CS u myszy. Uzyskane wyniki badań wykazały, że komórki iNKT po rozpoznaniu endogennych glikolipidów uwalnianych w wyniku uczulenia haptenem wydzielają IL-4, która aktywuje limfocyty B1 zaangażowane w inicjację reakcji CS. Opublikowane prace stanowią pionierski wkład do wiedzy na temat nadwrażliwości kontaktowej.

- Askenase, P.W., **Majewska-Szczepanik, M.**, Kerfoot, S., Szczepanik, M.: Participation of iNKT cells in the early and late components of Tc1-mediated DNFB contact sensitivity: cooperative role of $\gamma\delta$ -T cells. *Scand. J. Immunol.* 73(5):465-477, 2011.
- Dey, N., Szczepanik, M., Lau, K., **Majewska-Szczepanik, M.**, Askenase, P.W.: Stimulatory lipids accumulate in the mouse liver within 30 min of contact sensitization to facilitate the activation of naïve iNKT cells in a CD1d-dependent fashion. *Scand. J. Immunol.* 74(1):52-61, 2011.
- Askenase, P.W., Bryniarski, K., Paliwal, V., Redegeld, F., Groot, Kormelink, T.G., Kerfoot, S., Hutchinson, A.T., van Loveren, H., Campos, R., Itakura, A., **Majewska-Szczepanik, M.**, Yamamoto, N., Nazimek, K., Szczepanik, M., Ptak, W.: A subset of AID-dependent B-1a cells initiates hypersensitivity and pneumococcal pneumonia resistance. *Ann. N Y Acad. Sci.* 1362:200-214, 2015.

W moim dorobku naukowym znajduje się również publikacja opisująca rolę limfocytów TCR $\gamma\delta$ w reakcji CS. Przedstawione badania wykazały, że obecność

komórek TCR $\gamma\delta$ jest niezbędna dla prawidłowego przebiegu reakcji CS, co wykazano metodą adoptywnego transferu. Dodatkowo badania *in vitro* wskazują, że limfocyty TCR $\gamma\delta$ wywierają swój pozytywny wpływ na reakcję CS poprzez modulację produkcji IFN- γ , IL-12 oraz TNF- α .

- Strzępa, A., **Majewska-Szczepanik M.**, Szczepanik M.: $\gamma\delta$ T cells positively regulate contact sensitivity (CS) reaction via modulation of IFN- γ , IL-12 and TNF- α production. *Folia Biol. (Krakow)*. 61(3-4):205-210, 2013.

2. MODULACJA ODPOWIEDZI IMMUNOLOGICZNEJ PRZEZ SKÓRĘ

Moim kolejnym tematem prac badawczych jest manipulacja odpowiedzi immunologicznej przez skórę. Pierwszy etap prac badawczych był skoncentrowany na negatywnej regulacji odpowiedzi immunologicznej poprzez aplikację antygeny białkowego na skórę w postaci opatrunku z gazy. Badania te wykazały, że naskórna (EC) aplikacja antygeny białkowego prowadzi do indukcji stanu tolerancji immunologicznej (supresji), co zostało przetestowane w modelu reakcji CS CD4 $^{+}$ -, CD8 $^{+}$ - oraz NK-zależnej, a następnie potwierdzone w licznych mysich modelach schorzeń autoimmunizacyjnych, takich jak eksperymentalne autoimmunizacyjne zapalenie rdzenia kręgowego i mózgu (EAE), zapalenie jelit (colitis ulcerosa) oraz kolagenowe zapalenie stawów (CIA). Niniejsza metoda wywołania stanu tolerancji okazała się również skuteczna w hamowaniu reakcji odrzucania przeszczepu allogenicznego u myszy. Metoda wywołania supresji poprzez EC aplikację antygeny stwarza możliwość opracowania nowej metody terapii schorzeń, u podłoża których leży przewlekły proces zapalny.

- **Majewska-Szczepanik, M.**, Zemelka-Wiącek, M., Ptak, W., Wen, L., Szczepanik, M.: Epicutaneous immunization with DNP-BSA induces CD4 $^{+}$ CD25 $^{+}$ Treg cells that inhibit Tc1-mediated CS. *Immunol. Cell Biol.* 90(8):784-795, 2012.
- **Majewska-Szczepanik, M.**, Strzępa, A., Dorożyńska, I., Motyl, S., Banach, T., Szczepanik M.: Epicutaneous immunization with hapten-conjugated protein antigen alleviates contact sensitivity mediated by



three different types of effector cells. *Pharmacol. Rep.* 64(4):919-926, 2012.

- **Majewska, M.**, Zając, K., Srebro, Z., Sura, P., Książek, L., Zemelka, M., Szczepanik, M.: Epicutaneous immunization with myelin basic protein protects from the experimental autoimmune encephalomyelitis. *Pharmacol. Rep.* 59(1):74-79, 2007.
- **Majewska-Szczepanik, M.**, Góralska, M., Marcińska, K., Zemelka-Wiącek, M., Strzępa, A., Dorożyńska, I., Szczepanik, M.: Epicutaneous immunization with protein antigen TNP-Ig alleviates TNBS-induced colitis in mice. *Pharmacol. Rep.* 64(6):1497-1504, 2012.
- Zemelka-Wiącek, M., **Majewska-Szczepanik, M.**, Ptak, W., Szczepanik, M.: Epicutaneous immunization with protein antigen induces antigen-non-specific suppression of CD8 T cell mediated contact sensitivity. *Pharmacol. Rep.* 64(6):1485-1496, 2012.
- Marcińska, K., **Majewska-Szczepanik, M.**, Maresz, K.Z., Szczepanik, M.: Epicutaneous immunization with collagen induces TCR $\alpha\beta$ suppressor T cells that inhibit collagen-induced arthritis. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 166(2):121-134, 2015.
- Marcińska, K., **Majewska-Szczepanik, M.**, Lazar, A., Kowalczyk, P., Biała, D., Woźniak, D., Szczepanik, M.: Epicutaneous (EC) immunization with type II collagen (COLL II) induces CD4⁺ CD8⁺ T suppressor cells that protect from collagen-induced arthritis (CIA). *Pharmacol Rep.* 68(2):483-489, 2016.
- **Majewska, M.**, Zając, K., Kubera, M., Bryniarski, K., Ptak, M., Basta-Kaim, A., Książek, L., Ptak, W., Lasoń, W., Szczepanik, M.: Effect of ovoalbumin on survival of H-Y incompatible skin graft In C57BL/6 mice. *Pharmacol. Rep.* 58(3):439-442, 2006.

W trakcie realizowanych badań na zwierzętach laboratoryjnych zaobserwowano, że EC indukowana tolerancja wykazuje brak swoistości antygenowej, co teoretycznie stwarza ryzyko wystąpienia uogólnionej immunosupresji, a w konsekwencji poza efektem terapeutycznym może prowadzić do wzmożonej

zapadalności na infekcje i choroby nowotworowe. W związku z powyższym wydawało się istotnym rozstrzygnięcie problemu, czy możliwe jest przełamanie uprzednio wywołanego antygenowo nieswoistego stanu tolerancji indukowanego przez skórę w momencie kontaktu z drobnoustrojami patogennymi. W tym celu w 2003 roku rozpoczęto badania oceniające rolę receptorów TLR w przełamaniu tolerancji indukowanej przez EC podanie antygeny na skórę. Badania te miały charakter pionierski, a obiecujące wyniki badań w modelu reakcji CS sugerują, że metoda ta może mieć zastosowanie w immunopotencjacji, a tym samym może stać się przydatna w opracowaniu szczepionek. Uzyskane wyniki badań stały się punktem wyjścia do rozpoczęcia kolejnych projektów badawczych oceniających rolę receptorów TLR oraz innych receptorów odporności wrodzonej w modulowaniu odpowiedzi immunologicznej w innych modelach zwierzęcych. Uzyskane wyniki zaprezentowano jako cykl prac stanowiących osiągnięcie naukowe mojego postępowania habilitacyjnego.

- Ptak, W., Bryniarski, K., Ptak, M., **Majewska, M.**, Gamian, A., Lobo, F.M., Szczepanik, M.: Toll-like receptor (TLR) ligands reverse suppression of contact hypersensitivity (CS) reactions induced by epicutaneous (EC) immunization with protein antigen. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 139(3):188-200, 2006.
- **Majewska, M.**, Szczepanik, M.: The role of Toll-like receptors (TLR) in innate and adaptive immune response and their function in immune response regulation. *Postępy Hig. Med. Dośw.* 60:52-63, 2006.
- Ptak, W., **Majewska, M.**, Bryniarski, K., Ptak, M., Lobo, F.M., Zając, K., Askenase, P.W., Szczepanik, M.: Epicutaneous immunization with protein antigen in the presence of TLR4 ligand induces TCR $\alpha\beta$ ⁺ CD4⁺ T contrasuppressor cells that reverse skin-induced suppression of Th1 mediated contact sensitivity. *J. Immunol.* 182(2):837-850, 2009.
- **Majewska, M.**, Szczepanik, M.: Contact sensitivity reaction, its mechanism and regulation. *Postępy Hig Med. Dosw.* 63:47-57, 2009.
- **Majewska, M.**, Bryniarski, K., Ptak, M., Zając, K., Zemelka, M., Lobo, F.M., Ptak, W., Szczepanik, M.: Role of TLR ligands in epicutaneously induced contrasuppression. *Pharmacol. Rep.* 61(3):539-549, 2009.



- **Majewska-Szczepanik, M.**, Dorożyńska, I., Strzępa, A., Szczepanik, M.: Epicutaneous immunization with protein antigen TNP-Ig and NOD2 ligand muramyl dipeptide (MDP) reverses skin-induced suppression of contact hypersensitivity. *Pharmacol. Rep.* 66(1):137-142, 2014.
- Szczepanik, M., **Majewska-Szczepanik, M.**: Transdermal immunotherapy: Past, present and future. *Pharmacol. Rep.* 68(4):773-781, 2016.
- **Majewska-Szczepanik, M.**, Stobiecki, M., Sura, P., Szczepanik, M.: Skóra jako miejsce modulacji odpowiedzi immunologicznej. *Przegl. Lekarski.* 73(12):832-837, 2016.

3. ROLA KOMÓREK NK W REAKCJI NADWRAŻLIWOŚCI KONTAKTOWEJ (CS) U MYSZY

W roku 2008 rozpoczęto badania, których celem było poznanie mechanizmów immunologicznych leżących u podstaw reakcji CS zależnej od komórek NK. W ramach mojego pierwszego projektu oceniającego rolę komórek NK w reakcji CS wywołanej haptenem DNFB wykazano, że odpowiedź ta jest indukowana bardzo szybko, gdyż można ją przenieść na naiwnych biorców za pośrednictwem wątrobowych komórek NK izolowanych od dawców już godzinę od uczulenia haptenem. Ponadto dowiedziono, że IFN- γ oraz IL-12 są niezbędne dla prawidłowego przebiegu reakcji CS zależnej od komórek NK. Tematem kolejnego projektu badawczego było określenie mechanizmu reakcji CS z udziałem komórek NK stymulowanych ligandami receptorów TLR u myszy. Uzyskane wyniki wykazały, że transfer wątrobowych komórek NK aktywowanych ligandem receptorów TLR3 (poly (I:C)) przenosi reakcję CS na haptен DNFB u syngenicznych biorców. Cykl badań określających mechanizm zwiększonej reaktywności komórek NK aktywowanych podaniem poly (I:C) wykazał, że proces ten jest zależny od receptora TLR3, białka adaptorowego TRIF i IFN- γ , natomiast jest niezależny od białka adaptorowego MyD88, IL-12 oraz IFN- α . W badaniach zaobserwowano również znamienne wyższą ekspresję granzymu B w komórkach NK wyizolowanych od myszy traktowanych poly (I:C). Uzyskane wyniki wskazują, że stymulacja komórek NK ligandem receptorów TLR3 zmienia aktywność tych komórek promując proces zapalny z ich udziałem w reakcji CS. Wyniki realizacji

niniejszego projektu badawczego były prezentowane na krajowej konferencji naukowej i obecnie są w trakcie opracowywania w celu ich publikacji w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym.

- **Majewska-Szczepanik, M.**, Paust, S., von Andrian, U.H., Askenase, P.W., Szczepanik, M.: Natural killer cell-mediated contact sensitivity develops rapidly and depends on IFN- α , IFN- γ and IL-12. *Immunology*. 140(1):98-110, 2013.
- **Majewska-Szczepanik, M.**, Askenase, P.W., Szczepanik, M.: Contact sensitivity (CS) response mediated by NK cells activated by TLR3 ligand poly(I:C) is IFN-g dependent but does not require IFN- α and IL-12, XV Zjazd Polskiego Towarzystwa Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej, Wrocław 2014

4. WPŁYW MELATONINY, HEMOOKSYGENAZY-1 ORAZ LEKÓW PRZECIWDOPRESYJNYCH NA REAKCJĘ NADWRAŻLIWOŚCI KONTAKTOWEJ (CS) U MYSZY

Odrębnym kierunkiem moich badań było określenie wpływu melatoniny, hemooksygenazy-1 oraz leków przeciwdepresyjnych na reakcję CS u myszy. Opublikowane wyniki wskazują na supresyjne działanie melatoniny oraz jej prekursora, L-tryptofanu, na reakcję CS poprzez odpowiednio hamowanie syntezy IFN- γ i IL-12 oraz wzrost produkcji IL-10. W kolejnej pracy wykazano immunosupresyjne działanie hemooksygenazy-1 na reakcję CS u myszy poprzez stymulację limfocytów supresorowych wykazujących ekspresję receptora TCR $\alpha\beta$. Kolejno opublikowany cykl prac wykazał, że leki przeciwdepresyjne, posiadają działanie immunosupresyjne, co wykazano w reakcji CS wywołanej dwoma różnymi haptenami, czyli TNP-CI promującym rozwój Th1-zależnej reakcji CS oraz DNFB wywołującym odpowiedź immunologiczną mediowaną przez limfocyty Tc1.

- **Majewska, M.**, Zając, K., Zemelka, M., Szczepanik, M.: Influence of melatonin and its precursor L-tryptophan on Th1 dependent contact hypersensitivity. *J. Physiol. Pharmacol.* 58 Suppl 6:125-132, 2007.

- **Majewska, M.**, Zając, K., Dulak, J., Szczepanik, M.: Heme oxygenase (HO-1) is involved in the negative regulation of contact sensitivity reaction. *Pharmacol Rep.* 60(6):933-940, 2008.
- Kubera, M., Curzytek, K., **Majewska-Szczepanik, M.**, Szczepanik, M., Marcińska, K., Ptak, W., Leśkiewicz, M., Maes, M., Basta-Kaim, A., Budziszewska, B., Detka, J., Duda, W., Lasoń, W.: Inhibitory effect of antidepressant drugs on contact hypersensitivity reaction. *Pharmacol. Rep.* 64(3):714-722, 2012.
- Curzytek, K., Kubera, M., **Majewska-Szczepanik, M.**, Szczepanik, M., Marcińska, K., Ptak, W., Duda, W., Leśkiewicz, M., Basta-Kaim, A., Budziszewska, B., Lasoń, W., Maes, M.: Inhibition of 2,4-dinitrofluorobenzene-induced contact hypersensitivity reaction by antidepressant drugs. *Pharmacol. Rep.* 65(5):1237-1246, 2013.
- Curzytek, K., Kubera, M., **Majewska-Szczepanik, M.**, Szczepanik, M., Ptak, W., Duda, W., Leśkiewicz, M., Basta-Kaim, A., Budziszewska, B., Regulska, M., Korzeniak, B., Głombik, K., Maes, M., Lasoń, W.: Inhibitory effect of antidepressant drugs on contact hypersensitivity reaction is connected with their suppressive effect on NKT and CD8(+) T cells but not on TCR delta T cells. *Int. Immunopharmacol.* 28(2):1091-1096, 2015.

5. WPŁYW NATURALNEJ FLORY BAKTERYJNEJ JELIT NA ODPOWIEDŹ IMMUNOLOGICZNĄ

Kolejnym nurtem moich badań jest wpływ naturalnej flory jelitowej na rozwój i przebieg reakcji CS u myszy. W związku z tym brałam udział w badaniach oceniających działanie enrofloksacyny, antybiotyku o szerokim spektrum działania, na reakcję CS indukowaną haptenem TNP-CI. Opublikowane wyniki doświadczeń wskazują, że enrofloksacyna powoduje zmiany w kompozycji bakterii jelitowych prowadzącej do indukcji komórek regulatorowych, takich jak TCR $\alpha\beta$ +CD4+CD25+FoxP3+ Treg, CD19+B220+CD5+IL-10+ Breg, IL-10+ Tr1 oraz IL-10+TCR $\gamma\delta$ + zdolnych do hamowania reakcji CS.

- Strzępa, A., **Majewska-Szczepanik, M.**, Lobo, F.M., Wen, L., Szczepanik, M.: Broad spectrum antibiotic enrofloxacin modulates contact sensitivity



through gut microbiota in a murine model. *J. Allergy Clin. Immunol.* 140(1):121-133, 2017.

Powyższe wyniki przedstawiające wpływ antybiotykoterapii na reakcję CS stały się impulsem do podjęcia próby określenia, czy otyłość indukowana dietą wysokotłuszczową (HFD), której towarzyszą zmiany naturalnej flory jelitowej, modyfikuje przebieg reakcji CS u myszy. W związku z tym rozpoczęto prace doświadczalne w ramach mojego kolejnego projektu badawczego pt. „Wpływ otyłości na reakcję nadwrażliwości kontaktowej (CS) u myszy. Rola odporności wrodzonej”. Uzyskane wyniki badań wykazują, że myszy z wywołaną otyłością poprzez karmienie HFD rozwijają bardziej nasiloną postać reakcji CS, której towarzyszy wzrost uwalniania cytokin prozapalnych IL-17A i IFN- γ przez komórki obwodowych narządów chłonnych. Analiza poziomu cytokin w tkance tłuszczowej podskórnej ujawniła podwyższony poziom IL-6 z równoczesnym obniżeniem stężenia IL-10 w supernatantach hodowlanych uzyskanych z tkanki wyizolowanej od myszy karmionych HFD względem myszy karmionych dietą standardową. Obserwowanym zmianom w poziomie cytokin towarzyszyły zmiany w jelitach przejawiające się znacznym ścieńczeniem ściany jelita oraz dysbiozą jelit polegającą na wzroście szczepów o działaniu prozapalnym *Enterococcus spp.* oraz spadku szczepów o właściwościach przeciwzapalnych *Bacteroidetes-Prevotella-Porphyromonas* oraz *Lactobacillus group*. Poznanie wpływu otyłości na reakcję CS może dostarczyć informacji o jej prawdopodobnym wpływie na inne schorzenia, u podstaw których leży reakcja zapalna z udziałem limfocytów T. Uzyskane wyniki badań były prezentowane na krajowych konferencjach naukowych oraz są w trakcie opracowywania w celu ich przygotowania do publikacji.

- **Majewska-Szczepanik, M.**, Góralska, M., Marcińska, K., Wang, Y.P., Wen, L., Szczepanik, M.: Diet induced obesity (DIO) aggravates contact hypersensitivity in C57BL/6 mice. XV Zjazd Polskiego Towarzystwa Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej, Wrocław 2014;
- Kowalczyk P., Szczepanik, M., Marcińska, K., Biała, D., Woźniak, D., **Majewska-Szczepanik, M.**: Influence of diet-induced obesity (DIO) on



contact hypersensitivity (CHS) reaction in mice. XV Zjazd Polskiego Towarzystwa Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej, Warszawa 2017]

Wpływ flory bakteryjnej jelit zmodyfikowanej doustnym podaniem antybiotyku badano również w dwóch innych modelach, a mianowicie w kolagenowym zapaleniu stawów (CIA) u myszy oraz w reakcji alergicznej. Badania w modelu CIA wykazały, że traktowanie myszy enrofloksacyną zaostrza przebieg choroby. Nasilonej reakcji zapalnej w stawach u myszy traktowanych antybiotykiem towarzyszył wzrost produkcji IFN- γ i IL-17A przy jednoczesnym spadku syntezy IL-4 przez komórki węzłów chłonnych pachowych i pachwinowych. Uzyskane wyniki badań mogą sugerować, że modyfikacja naturalnej flory jelitowej poprzez podanie antybiotyku może wpływać na przebieg reakcji zapalnej u myszy z wywołanym CIA. Następnie w badaniach z wykorzystaniem modelu reakcji alergicznej mediowanej przez limfocyty Th2 wykazano znamienne wzrost produkcji OVA specyficznych przeciwciał IgE u myszy traktowanych enrofloksacyną we wczesnym okresie życia, podczas gdy takiego efektu nie obserwowano u osobników dorosłych traktowanych tym samym antybiotykiem. Ponadto wykazano, że traktowanie antybiotykiem we wczesnym okresie życia prowadzi do nasilenia produkcji cytokin uwalnianych przez limfocyty Th2, czyli IL-4, IL-10 oraz IL-13. Uzyskane wyniki wskazują, że zmiany flory bakteryjnej jelit spowodowane doustnym podawaniem antybiotyku we wczesnym okresie życia mają istotny wpływ na rozwój alergii w późniejszym okresie życia.

- Dorożyńska, I., **Majewska-Szczepanik, M.**, Marcińska, K., Szczepanik, M.: Partial depletion of natural gut flora by antibiotic aggravates collagen induced arthritis (CIA) in mice. *Pharmacol. Rep.* 66(2):250-255, 2014.
- Strzępa, A., **Majewska-Szczepanik, M.**, Kowalczyk, P., Woźniak, D., Motyl, S., Szczepanik, M.: Oral treatment with enrofloxacin early in life promotes Th2-mediated immune response in mice. *Pharmacol. Rep.* 68(1):44-50, 2016.

6. ROLA kinazy IRAK-M W MYSIM MODELU CUKRZYCY TYPU I U MYSZY NOD

Wieloletnie badania nad rolą receptorów TLR w reakcjach odpornościowych oraz współpraca z zespołem badawczym Prof. Li Wen z Yale University School of Medicine zaowocowały publikacją przedstawiającą rolę kinazy IRAK-M będącej inhibitorem białka MyD88 istotnego w procesie przekazywania sygnału aktywującego pochodzącego od receptorów TLR, w rozwoju cukrzycy typu I u myszy NOD. W pracy wykazano, że myszy pozbawione IRAK-M rozwijają cukrzycę typu I wcześniej niż myszy kontrolne NOD, którą dodatkowo cechuje szybkie tempo progresji, nasilony stan zapalny w trzustce oraz podwyższony poziom autoprzeciwciał w surowicy. Badania wyjaśniające mechanizm tego procesu dowiodły, że komórki APC wyizolowane od myszy IRAK-M^{-/-}NOD wykazują wzmożone właściwości prozapalne, co skutkuje aktywacją autoreaktywnych limfocytów T w warunkach *in vivo* oraz *in vitro*.

- Tan, Q., **Majewska-Szczepanik, M.**, Zhang, X., Szczepanik, M., Zhou, Z., Wong, S.F., Wen, L.: IRAK-M deficiency promotes the development of type 1 diabetes in NOD mice. *Diabetes*. 63(8):2761-2775, 2014.

Kierowanie międzynarodowymi i krajowymi projektami badawczymi oraz udział w takich projektach

Kierownictwo w projektach badawczych:

1. Mechanizmy reakcji nadwrażliwości kontaktowej (CS) z udziałem komórek NK u myszy oraz jej negatywna regulacja. 2009-2012, Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego.
2. Mechanizmy reakcji nadwrażliwości kontaktowej (CS) z udziałem komórek NK stymulowanych ligandami receptorów TLR u myszy. Implikacje kliniczne. 2012-2016, Narodowe Centrum Nauki.
3. Wpływ otyłości na reakcję nadwrażliwości kontaktowej (CHS) u myszy. Rola odporności wrodzonej. 2013-2016, Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

Uczestnictwo w projektach badawczych:

1. Udział receptorów TLR (Toll like receptors) w przełamaniu tolerancji indukowanej przez aplikację antygeny białkowego na skórę. Immunopotencjacja odpowiedzi przeciwnowotworowej za pośrednictwem ligandów receptorów TLR. 2005-2007, Komitet Badań Naukowych, wykonawca.
2. Mechanizmy negatywnej regulacji odpowiedzi immunologicznej w modelu zwierzęcym reumatoidalnego zapalenia stawów (CIA) – implikacje kliniczne. 2005-2008, Komitet Badań Naukowych, wykonawca.
3. Wpływ różnych populacji limfocytów T na aktywność biologiczną mysich makrofagów otrzewnowych. 2005-2008, Komitet Badań Naukowych, wykonawca.
4. Rola ligandów receptorów TLR w negatywnej regulacji Th2 zależnego procesu zapalnego w atopowym zapaleniu skóry (AD) oraz astmie u myszy. 2007-2010, Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego, wykonawca.
5. Mechanizmy naskórną indukowanej supresji reakcji nadwrażliwości kontaktowej Tc1 CD8+ zależnej u myszy. 2010-2013, Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego, wykonawca.
6. Rola IL-17A w pozytywnej regulacji odpowiedzi komórkowej w modelu nadwrażliwości kontaktowej. 2011-2014, Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego, wykonawca.
7. Wpływ naturalnej flory jelitowej na regulację reakcji nadwrażliwości kontaktowej (CS) u myszy. 2011-2015, Narodowe Centrum Nauki, wykonawca.
8. Naskórna aplikacja antygeny białkowego jako nowa metoda terapii kolagenowego zapalenia stawów (CIA) u myszy humanizowanych HLA-DR4-Tg. Implikacje kliniczne. 2012-2016, Narodowe Centrum Nauki, wykonawca.

9. Rola receptorów Toll-podobnych (TLR) w reakcji nadwrażliwości kontaktowej (CHS) Th-1 zależnej. 2013-2017, Narodowe Centrum Nauki, wykonawca.

Międzynarodowe i krajowe nagrody za działalność naukową albo artystyczną

Będąc słuchaczem studiów doktoranckich na Wydziale Lekarskim UJ CM otrzymałam stypendium naukowe za wyróżniające wyniki w nauce w roku 2006/2007. Rozprawę doktorską obroniłam z wyróżnieniem w roku 2008, która dodatkowo została wyróżniona Nagrodą Prezesa Rady Ministrów w 2010 r. W roku 2014 decyzją Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego otrzymałam stypendium dla wybitnego młodego naukowca.

Osiągnięcia dydaktyczne i w zakresie popularyzacji nauki lub sztuki

Czynny udział w realizacji zajęć dydaktycznych w Zakładzie Biologii Rozwoju Człowieka rozpocząłam w roku 2005, natomiast do zespołu osób realizujących zajęcia dydaktyczne w Katedrze Biologii Medycznej UJ CM dołączyłam w roku akademickim 2012/2013.

Dotychczas prowadziłam następujące zajęcia dydaktyczne dla studentów studiów stacjonarnych:

1. Wydział Lekarski UJ CM:
 - na kierunku lekarskim: kurs Genetyka medyczna (2004/2005), kurs Biologia medyczna z embriologią (2011/2012)
 - na kierunku lekarsko-dentystycznym: kurs Genetyka medyczna (2004-2006), kurs Biologia z embriologią i podstawy genetyki (2006/2007).
2. Wydział Nauk o Zdrowiu UJ CM:
 - na kierunku pielęgniarstwo: kurs Mikrobiologia z podstawami parazytologii (2005-2009), kurs Mikrobiologia i parazytologia (od 2011/2012 do teraz), kurs Immunologia kliniczna (2008/2009, 2010/2011, od 2013/2014 do teraz), kurs Genetyka (2011/2012)

- na kierunku położnictwo: kurs Mikrobiologia i parazytologia (od 2011/2012 do teraz), kurs Biochemia i biofizyka (2013-2015), kurs Embriologia i genetyka (od 2014/2015 do teraz), kurs Immunologia kliniczna (od 2013/2014 do teraz),
- na kierunku fizjoterapii: kurs Biologia medyczna (od 2007 do teraz), kurs Genetyka (od 2011 do teraz), kurs Podstawy biologii medycznej (2012/2013, 2014/2015, 2016/2017)
- na kierunku ratownictwo medyczne: kurs Biologia i mikrobiologia (od 2008/2009 do teraz).

Dotychczas prowadziłam następujące zajęcia dydaktyczne dla studentów studiów niestacjonarnych:

1. Wydział Nauk o Zdrowiu:

- na kierunku pielęgniarstwo: kurs Immunologia kliniczna (2011/2012, od 2013/2014 do teraz)
- na kierunku położnictwo: wykłady monograficzne (2012/2013).

Opieka naukowa nad studentami i lekarzami w toku specjalizacji

W roku akademickim 2015/2016 byłam promotorem dwóch prac dyplomowych na kierunku zwierzęta laboratoryjne – hodowla, utrzymanie i użytkowanie w Szkole Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie Wydział Nauk o Zwierzętach Katedra Genetyki i Ogólnej Hodowli Zwierząt.

Staże w zagranicznych i krajowych ośrodkach naukowych lub akademickich

1. Yale University, School of Medicine, Department of Internal Medicine, Section of Allergy and Clinical Immunology, 15.06.2004- 30.09.2004, stypendium doktoranckie
2. Yale University, School of Medicine, Department of Internal Medicine, Section of Allergy and Clinical Immunology, 15.06.2005-30.09.2005 stypendium doktoranckie

3. Yale University, School of Medicine, Department of Internal Medicine, Section of Allergy and Clinical Immunology, 15.06.2006-30.09.2006, stypendium doktoranckie
4. Yale University, School of Medicine, Department of Internal Medicine, Section of Allergy and Clinical Immunology, 01.05.2007-29.09.2007, stypendium doktoranckie
5. Yale University, School of Medicine, Department of Internal Medicine, Section of Endocrinology, 01.04.2009-30.09.2009, stypendium podoktorskie
6. Yale University, School of Medicine, Department of Internal Medicine, Section of Endocrinology, 01.04.2010-30.09.2010, stypendium podoktorskie
7. Yale University, School of Medicine, Department of Internal Medicine, Section of Endocrinology, 01.06.2011-30.09.2011, stypendium podoktorskie
8. Yale University, School of Medicine, Department of Internal Medicine, Section of Endocrinology, 01.05.2012-31.08.2012, stypendium podoktorskie
9. Yale University, School of Medicine, Department of Internal Medicine, Section of Endocrinology, 26.07.2013-27.09.2013, stypendium podoktorskie
10. Yale University, School of Medicine, Department of Internal Medicine, Section of Endocrinology, 22.11.2013-21.12.2013, stypendium podoktorskie
11. Yale University, School of Medicine, Department of Internal Medicine, Section of Allergy and Clinical Immunology, 15.07.2014-17.09.2014, stypendium podoktorskie
12. Yale University, School of Medicine, Department of Internal Medicine, Section of Allergy and Clinical Immunology, 10.12.2014-08.01.2015, stypendium podoktorskie



13. Yale University, School of Medicine, Department of Internal Medicine, Section of Allergy and Clinical Immunology, 18.06.2015-19.08.2015, stypendium podoktorskie

14. Yale University, School of Medicine, Department of Internal Medicine, Section of Endocrinology, 20.06.2016-25.08.2016, stypendium podoktorskie

Aktywny udział w międzynarodowych i krajowych konferencjach naukowych

Osiągnięte wyniki naukowe prezentowano podczas konferencji międzynarodowych (19) oraz krajowych (20) w tym aktywny mój udział polegał na prezentacji wyników w formie posterów podczas:

1. XII Zjazd Polskiego Towarzystwa Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej w Lublinie (2005 r.)
2. XIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej w Krakowie (2008 r.)

* w przypadku, gdy osiągnięciem tym jest praca/ prace wspólne, należy przedstawić oświadczenia wszystkich jej współautorów, określające indywidualny wkład każdego z nich w jej powstanie

21.11.2017 r.

M. Majewska-Szczepanik