ZAŁĄCZNIK 2A

Kraków, 2012-03-20

Autoreferat

1. Imię i Nazwisko: Szczepan Józefowski

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe

1993 – Tytuł **magistra biologii molekularnej**, uzyskany na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, po obronie pracy pod tytułem :

„Stan czynnościowy granulocytów krwi obwodowej szczura po ośrodkowej chemosympatektomii"

1997 – Tytuł **doktora nauk biologicznych**, uzyskany w Instytucie Farmakologii Polskiej Akademii Nauk w Krakowie, po obronie pracy pod tytułem:

„Badania porównawcze receptorów dla neuroprzekaźników w narządach limfatycznych kręgowców"

3. Dotychczasowe zatrudnienie w jednostkach naukowych

X **1993** – VI **1997** Studia doktoranckie w **Instytucie Farmakologii PAN** w Krakowie.

VII **1997** – VIII **1998** *Research Fellow, Department of Experimental Pathology, **University***

of Tromsø, Tromsø, Norwegia.

X **1998** – IX **2000** Asystent, Zakład Fizjologii i Biologii Rozwoju Roślin, **Uniwersytet Jagielloński.**

X **2000** – V **2002** Etat naukowo-techniczny, Zakład Immunologii, **Uniwersytet Jagielloński**, Collegium Medicum.

VI **2002** – VI **2005** *Research Fellow, Department of Environmental Health,* ***Harvard School of Public Health***, Boston, MA, USA.

IX **2005 –** IX**2006** *Senior Research Officer, Department of Biological Sciences,* ***University of Essex***, Colchester, Anglia.

VI **2007** – IX **2010** Adiunkt, Zakład Biologii Komórki, **Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN**, Warszawa.

X **2010** – XII **2011** Asystent, Zakład Immunologii, **Uniwersytet Jagielloński**, *Collegium Medicum.*

I **2012** – **obecnie** Adiunkt, Zakład Immunologii, **Uniwersytet Jagielloński**, *Collegium Medicum.*

4. Osiągnięcia stanowiące podstawę postępowania habilitacyjnego

Podstawą ubiegania się o tytuł doktora habilitowanego jest cykl sześciu publikacji (**suma IF = 18,209,** całkowita liczba cytowań wg *Web od Science*: **99**), opatrzony tytułem:

„Rola receptorów zmiataczy klasy A, SR-A i MARCO,

w układzie odpornościowym”

4a. Prace będące podstawą ubiegania się o tytuł doktora habilitowanego:

[1] **Józefowski S**, Kobzik L. Scavenger receptor A mediates H_2O_2 production and suppression of IL-12 release in murine macrophages. ***Journal of Leukocyte Biology*** 2004; 76: 1066-1074.

IF_{2004} = 4,224, liczba cytowań: **33**. Szacuję swój udział w pracy na 90%. Byłem głównym autorem koncepcji, sam wykonałem wszystkie doświadczenia, zanalizowałem wyniki, napisałem pierwszą wersję artykułu i wraz z profesorem Lesterem Kobzikiem opracowałem jego ostateczną postać. Byłem autorem korespondującym w tym artykule.

[2] **Józefowski S**, Arredouani M, Sulahian T, Kobzik L. Disparate regulation and function of the class A scavenger receptors SRAI/II and MARCO. ***Journal of Immunology*** 2005; 175: 8032-8041.

IF_{2005} = 6,387, liczba cytowań: **40**. Szacuję swój udział w pracy na 85%. Byłem głównym autorem koncepcji, wykonałem ok. 95% doświadczeń, sam zanalizowałem wyniki, napisałem pierwszą wersję artykułu i wraz z profesorem Lesterem Kobzikiem i doktorem Mohamedem Arredouani opracowałem jego ostateczną postać. Doktor Timothy Sulahian miał udział w części doświadczeń, polegający na wykonaniu transfekcji komórek CHO.

[3] **Józefowski S**, Sulahian T, Arredouani M, Kobzik L. Role of scavenger receptor MARCO in macrophage responses to CpG oligodeoxynucleotides. ***Journal of Leukocyte Biology*** 2006, 80: 870-879.

IF_{2006} = 4,572, liczba cytowań: **26**. Szacuję swój udział w pracy na 85%. Byłem głównym autorem koncepcji, wykonałem ok. 95% doświadczeń, sam zanalizowałem wyniki, napisałem pierwszą wersję artykułu i wraz z profesorem Lesterem Kobzikiem i doktorem Mohamedem Arredouani opracowałem jego ostateczną postać. Doktor

Timothy Sulahian uczestniczył w części doświadczeń, mianowicie wykonał transfekcję komórek CHO.

[4] **Józefowski S**, Yang Z, Marcinkiewicz J, Kobzik L. Scavenger receptors and β-glucan receptors participate in the recognition of yeasts by murine macrophages. ***Inflammation Research*** 2012; 61: 113-126.

IF_{2010} = 2,004, liczba cytowań: **0**. Szacuję swój udział w pracy na 90%. Byłem głównym autorem koncepcji, sam wykonałem doświadczenia, zanalizowałem wyniki i napisałem pierwszą wersję artykułu. Profesorowie Lester Kobzik i Janusz Marcinkiewicz pomogli mi w opracowaniu końcowej wersji artykułu. Zhiping Yang wykonała doświadczenia *in vivo*, których wyniki z powodu braku powtarzalności nie zostały włączone do artykułu. Byłem autorem korespondującym w tym artykule.

[5] **Józefowski S**. Rola receptorów zmiataczy klasy A, SR-A i MARCO, w układzie odpornościowym. Część 1. Budowa receptorów, repertuar wiązanych ligandów i zdolność do transdukcji sygnału. ***Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*** 2012; 66: 104-119.

IF_{2010} = 0,511, liczba cytowań: **0**. Mój udział: 100%

[6] **Józefowski S**. Rola receptorów zmiataczy klasy A, SR-A i MARCO, w układzie odpornościowym. Część 2. Udział w rozpoznaniu i fagocytozie patogenów oraz w stymulacji odpowiedzi immunologicznej. ***Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*** 2012; 66: 120-131.

IF_{2010} = 0,511, liczba cytowań: **0**. Mój udział: 100%

4b. Cel naukowy ww. prac i podsumowanie osiągniętych wyników

W rozpoznaniu patogenów przez komórki odporności wrodzonej pośredniczą tzw. receptory rozpoznające wzorce, do których zaliczane są receptory zmiatacze. Receptory zmiatacze klasy A: receptor zmiatacz A (SR-A/CD204) i MARCO są głównymi receptorami pośredniczącymi w niewymagającej opsonin fagocytozie bakterii i innych cząstek przez makrofagi i komórki dendrytyczne. Do ligandów SR-A należą także utlenione lipoproteiny, białka amyloidu-β i białka zmodyfikowane przez końcowe produkty zaawansowanej glikacji, co wiąże ten receptor z patogenezą arteriosklerozy, choroby Alzheimera i patologii towarzyszących cukrzycy. Mimo ważnej roli jaką odgrywają receptory zmiatacze klasy A w tak wielu procesach, brak selektywnych ligandów uniemożliwiał jednoznaczne stwierdzenie czy receptory te zdolne są do regulacji aktywności komórek. W swoich badaniach nad zdolnością receptorów zmiataczy klasy A do transdukcji sygnału postanowiłem zastosować selektywną ligację tych receptorów z użyciem swoistych przeciwciał. To, że obserwowane efekty przeciwciał wynikały ze swoistego pobudzenia receptorów zmiataczy potwierdził ich brak w makrofagach pozyskanych od zwierząt pozbawionych tych receptorów (knockout). Udział receptorów dla fragmentu Fc przeciwciał w obserwowanych efektach przeciwciał wykluczyło ponadto przetrwanie tych efektów w makrofagach pozbawionych receptorów FcγRI i FcγRIII. W rezultacie tych doświadczeń ustaliłem, że pomimo dużego podobieństwa budowy i repertuaru wiązanych ligandów, SR-A i MARCO wywierają przeciwstawny – odpowiednio, hamujący i stymulujący wpływ na produkcję w makrofagach interleukiny 12 (IL-12). W konsekwencji, produkcja IL-12 stymulowana przez wspólne ligandy receptorów Toll-podobnych (TLR), SR-A i MARCO, takie jak lipopolisacharyd (LPS), kwas lipotejchowy, DNA i RNA bakteryjne lub wirusowe, może być zdeterminowana względnym poziomem ekspresji tych receptorów. Interleukina 12 jest główną cytokiną regulującą

polaryzację Th1/Th2 odporności nabytej. Co ciekawe, ekspresja MARCO i SR-A regulowana była w przeciwstawny sposób przez różnorodne czynniki promujące polaryzację Th1 (ligandy TLR, GM-CSF) *versus* Th2 (IL-4, M-CSF, oligodeoksynukleotydy bez sekwencji CpG). Zmiany ekspresji receptorów miały konsekwencje funkcjonalne; makrofagi preinkubowane z IL-4 i z agonistą TLR fagocytowały te same cząstki (mikrokulki polistyrenowe) za pośrednictwem różnych receptorów – odpowiednio, SR-A i MARCO. Łącznie powyższe wyniki sugerują, że zmiana względnego poziomu ekspresji SR-A i MARCO może być jednym z mechanizmów trwałej polaryzacji odpowiedzi immunologicznej. Ligacja SR-A z użyciem przeciwciał stymulowała także w makrofagach produkcję reaktywnych form tlenu (wybuch tlenowy), którą hamowała toksyna krztuśca – selektywny inhibitor heterotrimerycznych białek Gi/o. Wyniki te zostały opublikowane w dwóch artykułach, wymienionych w pozycjach [1] i [2], a także były prezentowane przeze mnie na międzynarodowej konferencjach w Waszyngtonie (również w formie ustnej) i w San Diego:

***Józefowski S**, Kobzik L. Type I/II class A scavenger receptors stimulate H_2O_2 production in murine lung macrophages. FASEB Journal 2004; 18 (5S): A1158. Experimental Biology 2004 Meeting, Washington, DC.*

***Józefowski S**, Sulahian T, Kobzik L. Differences in regulation and function of macrophage scavenger receptors SR-AI/II and MARCO. Experimental Biology 2005 Meeting, San Diego, CA.*

W innej pracy tego cyklu, wymienionej w pozycji [3], wykazałem, że SR-A i MARCO należą do redundantnego systemu receptorów pośredniczących w wychwycie przez makrofagi oligodeoksynukleotydów zawierających motywy CpG (CpG-ODN). Moje wyniki wskazują jednak, że rola receptorów zmiataczy klasy A w regulacji odpowiedzi na CpG-ODN nie ogranicza się do dostarczania CpG-ODN do zlokalizowanego w endosomach receptora TLR9, ale że receptory te wraz z TLR9 regulują stymulowaną przez CpG-ODN produkcję

interleukiny 12 i tlenku azotu. Postulowałem, że zróżnicowane powinowactwo do hamujących receptorów, takich jak SR-A, i aktywujących receptorów, reprezentowanych przez MARCO, może odpowiadać za duże różnice aktywności biologicznej różnych typów CpG-ODN.

Celem następnej z prac włączonych do cyklu (pozycja [4]) była identyfikacja receptorów pośredniczących w fagocytozie komórek grzybów przez makrofagi. Wykazałem, że receptory zmiatacze i receptory β-glukanów są dwoma głównymi typami receptorów uczestniczących w fagocytozie komórek grzybów (*Saccharomycetes cerevisiae* i *Candida albicans*) przez mysie makrofagi i że ich względny udział w tym procesie zależy od poziomu aktywacji makrofagów. Podczas gdy w spoczynkowych makrofagach główną rolę pełnią receptory β-glukanów, w tym dektyna 1, to w makrofagach aktywowanych przez agonistę receptora TLR w fagocytozie pośredniczą głównie receptory zmiatacze, w tym MARCO. Co ciekawe, drożdżaki *Candida albicans* wydają się wiązać do innego miejsca wiążącego w zewnątrzkomórkowej części MARCO niż uprzednio opisane ligandy tego receptora. Ponieważ dektyna 1 stymuluje produkcję IL-23, cytokiny koniecznej do podtrzymania ekspansji limfocytów Th17, a hamuje wytwarzanie IL-12, można się spodziewać, że interakcja spoczynkowych makrofagów z komórkami grzybów sprzyja indukcji reakcji odpornościowych typu Th17. W odróżnieniu, makrofagi preinkubowane z ligandami TLR, wykazujące zwiększoną ekspresję MARCO, który dostarcza niezbędnej kostymulacji do produkcji IL-12, i obniżoną ekspresję hamującej produkcję IL-12 dektyny 1 mogą wytwarzać duże ilości IL-12 pod wpływem interakcji z komórkami grzybów i, w konsekwencji, promować odpowiedzi immunologiczne typu Th1. Wyniki uzyskane z wykorzystaniem blokujących ligandów i komórek pozyskanych od zwierząt genetycznie pozbawionych receptorów sugerują także, że oprócz dektyny 1, również receptory zmiatacze klasy A mogą częściowo pośredniczyć w stymulowanej przez zymosan (preparat drożdży, *S. cerevisiae*)

produkcji reaktywnych form tlenu. Wykazałem też, że, w przeciwieństwie do tego co uprzednio sądzono, dektyna 1 nie jest jedynym rozpoznającym β-glukany receptorem makrofagów.

Szczegółowe omówienie moich osiągnięć naukowych dotyczących roli receptorów zmiataczy klasy A w układzie odpornościowym, w kontekście prac innych autorów, zawarłem w dwuczęściowym artykule przeglądowym, który włączony jest do cyklu prac będących podstawą ubiegania się o stopień doktora habilitowanego [5,6]. W artykule tym dyskutuję też przyczyny rozbieżności pomiędzy wnioskami dotyczącymi funkcji receptorów opartymi na efektach ich swoistej ligacji a tymi wysnutymi z porównania odpowiedzi komórek pozyskanych od myszy szczepu dzikiego i tych genetycznie pozbawionych receptorów oraz przedstawiam własne hipotezy dotyczące roli receptorów zmiataczy klasy A w regulacji polaryzacji nabytej odpowiedzi immunologicznej.

5. Pozostałe osiągnięcia naukowo-badawcze

Po ukończeniu studiów magisterskich, w latach 1993-1997 kontynuowałem edukację na studiach doktoranckich w Instytucie Farmakologii PAN w Krakowie. Moje badania w tym okresie dotyczyły neuroimmunomodulacji występującej u kręgowców zmiennocieplnych. Jako pierwszy wykryłem obecność oraz scharakteryzowałem biochemicznie i farmakologicznie receptory opioidowe, β-adrenergiczne i cholinergiczne na powierzchni leukocytów ryb i płazów. Wraz ze współpracownikami wykazaliśmy, że receptory te mogą modulować aktywność fagocytów oraz przebieg reakcji odpornościowych: odczynu zapalnego w jamie otrzewnowej oraz odrzucania przeszczepów skórnych. Pracę doktorską pt. „Badania porównawcze receptorów dla neuroprzekaźników w narządach limfatycznych kręgowców" obroniłem w czerwcu 1997 roku w Instytucie Farmakologii PAN w Krakowie.

Promotorem pracy była prof. dr hab. Barbara Płytycz z Instytutu Zoologii Uniwersytetu Jagiellońskiego. Wyniki zawarte w mojej pracy doktorskiej zostały opublikowane w pięciu pracach doświadczalnych:

***Józefowski S**, Gruca P, Józkowicz A, Plytycz B. Direct detection and modulatory effects of adrenergic and cholinergic receptors on goldfish leukocytes. J. Marine Biotechnol. 1995; 3: 171-173.* Swój udział w pracy szacuję na 80%.

***Józefowski S**, Józkowicz A, Antkiewicz-Michaluk L, Plytycz B, Seljelid R. Neurotransmitter and opioid modulation of the amphibian transplantation immunity. In: Modulators of Immune Responses (eds. J.S. Stolen, T.C. Fletcher, C.J. Bayne, C.J. Secombes, J.T. Zelikoff, L.E. Twerdok, D.P. Anderson), 1996; vol. 2: 281-290.* Swój udział w pracy szacuję na 40%.

Chadzińska M, ***Józefowski S**, Bigaj J, Plytycz B. Morphine modulation of Thioglycollate-elicited peritoneal inflammation in the goldfish,* Carassius auratus *L. Arch. Immunol. Ther. Exp. 1997; 45: 321-327.* **IF = 0**; liczba cytowań: **20**. Swój udział w pracy szacuję na 30%.

***Józefowski S**, Plytycz B. Characterization of opiate binding sites on the goldfish* (Carassius auratus L.) *pronephric leukocytes. Pol. J. Pharmacol. 1997; 49: 229-237.* **IF = 0.329**; liczba cytowań: **15**. Swój udział w pracy szacuję na 90%.

***Józefowski S**, Plytycz B. Characterization of β-adrenergic receptors in fish and amphibian lymphoid organs. Dev. Comp. Immunol. 1998; 22: 587-603.* **IF = 1.814**; liczba cytowań: **12**. Swój udział w pracy szacuję na 90%.

Wyniki te były także prezentowane na 7 konferencjach krajowych i 2 zagranicznych:

***Józefowski S**, Józkowicz A, Plytycz B. Wykrywanie receptorów cholinergicznych i adrenergicznych na leukocytach karasia srebrzystego. Polish Journal of Immunology/Immunologia Polska, 1994; 19 (supl.2): 113.*

***Józefowski S**, Józkowicz A, Kubera M, Basta-Kaim A, Plytycz B, Skowron-Cendrzak A. Obecność receptorów muskarynowych i beta-adrenergicznych na immunocytach karasia srebrzystego,* Carassius auratus. *III Ogólnopolskie Sympozium "Molekularne i Fizjologiczne Aspekty Regulacji Ustrojowej", (red. H. Lach), Wydawnictwo Naukowe WSP, Kraków 1994: 107-110.*

*Józkowicz A, **Józefowski S**, Gruca P, Plytycz B. Direct detection and modulatory effects of muscarinic and β-adrenergic receptors on goldfish leukocytes. 3rd International Marine Biotechnology Conference, Tromsø, Norway, August 7-12, 1994: 56.*

***Józefowski S**, Plytycz B. Receptory adrenergiczne i cholinergiczne muskarynowe modulują wybuch tlenowy w leukocytach karasia srebrzystego. IV Ogólnopolskie Sympozjum "Molekularne i Fizjologiczne Aspekty Regulacji Ustrojowej", (red. H. Lach), Wydawnictwo Naukowe WSP, Kraków 1995: 132-134.*

*Józkowicz A., **Józefowski S**, Plytycz B. Zmiany ekspresji receptorów adrenergicznych i muskarynowych w splenocytach ropuchy w trakcie odrzucania przeszczepów. IV Ogólnopolskie Sympozjum "Molekularne i Fizjologiczne Aspekty Regulacji Ustrojowej", (red. H. Lach), Wydawnictwo Naukowe WSP, Kraków 1995: 135-137.*

***Józefowski S**, Plytycz B. Charakterystyka farmakologiczna receptorów adrenergicznych na leukocytach karasia srebrzystego i ich udział w regulowaniu stymulowanej mitogenami proliferacji in vitro. Polish Journal of Immunology/Immunologia Polska 1995; 20: 233.*

***Józefowski S**, Jozkowicz A, Michaluk-Antkowiak L, Mika J, Plytycz B, Przewlocka B, Przewlocki R, Seljelid R. Neurotransmitter and opioid modulation of fish and amphibian immune responses. Modulators of immune responses. Phylogeny of regulators of immune responses and immunotoxicants, Breckenridge, Colorado, USA, July 8-13 1995: 159.*

***Józefowski S**, Romanska I, Antkiewicz-Michaluk L, Plytycz B. Badania wpływu stanu zapalnego otrzewnej na układ adrenergiczny ryb i płazów. V Międzynarodowe Sympozjum*

„Molekularne i Fizjologiczne Aspekty Adaptacji Ustrojowej”, (red. H. Lach), Wydawnictwo Naukowe WSP, Kraków 1996: 137-138

***Józefowski S**, Plytycz B. Receptory dla neuroprzekaźników w narządach limfatycznych karasia. XI Ogólnopolskie Seminarium „Mechanizmy służące utrzymaniu życia i regulacji fizjologicznych”, (red. H. Lach), Wydawnictwo Naukowe WSP, Kraków 13 września 1997: 32-33.*

W lipcu 1997 roku rozpocząłem roczny staż podoktorski w Zakładzie Patologii Doświadczalnej Instytutu Biologii Medycznej Uniwersytetu Tromsø w Norwegii. W tym okresie zajmowałem się rolą makrofagów w biologii nowotworów oraz zdolnością makrofagów do rozpoznania zmian konformacyjnych w białkach. Zaobserwowałem, że podobnie jak włókna amyloidu, agregaty różnorodnych zdenaturowanych, nieamyloidogennych białek stymulują w makrofagach produkcję anionu ponadtlenkowego i tlenku azotu, a w procesie tym pośredniczą integryny. Przedstawiłem hipotezę, że uszkodzenie tkanek występujące w amyloidozach, takich jak choroba Alzheimera, może wynikać z nadmiernej stymulacji mechanizmów, które w warunkach fizjologicznych umożliwiają makrofagom rozpoznanie i usunięcie zdenaturowanych białek. Wyniki tej pracy, w niewielkim stopniu uzupełnione w późniejszych doświadczeniach, zostały ostatnio opublikowane:

***Józefowski S**, Marcinkiewicz M. Aggregates of denatures proteins stimulate nitric oxide and superoxide production in macrophages. Inflamm. Res. 2010; 59: 277-289.* **IF = 2,004**; liczba cytowań: **0**. Swój udział w pracy szacuję na 95%.

Byłem też współautorem pracy przeglądowej, w której przedstawiliśmy nową koncepcję roli komórek układu odpornościowego w chorobach nowotworowych:

*Seljelid R, **Józefowski S**, Svenbjornsson B. Tumor stroma. Anticancer Res. 1999; 19: 4809-4822.* **IF = 1,375**; liczba cytowań: **40**. Swój udział w pracy szacuję na 35%.

Po powrocie do Polski znalazłem zatrudnienie jako asystent w Zakładzie Fizjologii i Biologii Rozwoju Roślin Instytutu Biologii Molekularnej Uniwersytetu Jagiellońskiego, gdzie pracowałem w okresie od października 1998 roku do września 2000 roku. W tym czasie zajmowałem się głównie działalnością dydaktyczną – prowadziłem zajęcia laboratoryjne z fizjologii roślin dla studentów biologii. Opublikowałem też dwuczęściowy artykuł przeglądowy dotyczący reakcji odpornościowych występujących u roślin:

***Józefowski S**. Detekcja i transdukcja sygnału w reakcjach odpornościowych roślin. I. Rozpoznanie i wczesne etapy transdukcji sygnału. Post. Biol. Kom. 2000; 27: 609-621.* Mój udział: 100%.

***Józefowski S**. Detekcja i transdukcja sygnału w reakcjach odpornościowych roślin. II. Aktywacja transkrypcji genów. Post. Biol. Kom. 2000; 27: 623-631.* Mój udział: 100%.

W październiku 2000 roku rozpocząłem pracę w Katedrze Immunologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego, na stanowisku naukowo-technicznym, gdzie formalnie pozostawałem zatrudniony do maja 2004 roku. Tematyka moich badań obejmowała rolę metabolitów kwasu arachidonowego (eikozanoidów): prostaglandyn, leukotrienów i lipoksyn, w regulacji funkcji komórek dendrytycznych. Komórki dendrytyczne są głównymi komórkami prezentującymi antygeny, odpowiedzialnymi za indukcję odpowiedzi immunologicznej przy pierwszym kontakcie z danym antygenem. Typ indukowanej odpowiedzi immunologicznej w dużym stopniu zdeterminowany jest przez produkowane przez te komórki cytokiny. Wykazałem, że produkcja cytokin w komórkach dendrytycznych może być regulowana przez egzogenne (działające parakrynnie), ale nie endogenne

(działające autokrynnie) prostagladnyny, działające za pośrednictwem receptorów DP, EP2 i IP, ale nie EP1, EP3 ani FP. Ponadto, wraz z współpracownikami jako pierwsi zaobserwowaliśmy produkcję leukotrienu B4 i leukotrienów cysteinowych z endogennych substratów w komórkach dendrytycznych pod wpływem fizjologicznych bodźców. Wykazaliśmy, że produkowany w tych warunkach leukotrien B4, ale nie leukotrieny cysteinowe, moduluje produkcję interleukiny 10 i interleukiny 12, ale nie interleukiny 6, za pośrednictwem receptora BLT1. Prace z tego okresu opublikowane zostały w postaci dwóch artykułów doświadczalnych i jednego przeglądowego:

***Józefowski S**, Bobek M, Marcinkiewicz J. Exogenous but not endogenous prostanoids regulate cytokine secretion from murine bone marrow dendritic cells: EP2, DP, and IP but not EP1, EP3, and FP prostanoid receptors are involved. Int. Immunopharmacol. 2003; 3: 865-878.* **IF = 2,203**; liczba cytowań: **31**. Swój udział w pracy szacuję na 85%.

***Józefowski S**, Biedron R, Bobek M, Marcinkiewicz J. Leukotrienes modulate cytokine release from dendritic cells. Immunology 2005; 116: 418-428.* **IF = 3,507**; liczba cytowań: **23**. Swój udział w pracy szacuję na 70%.

***Józefowski S**, Marcinkiewicz J. Biosynteza oraz właściwości immunomodulacyjne lipoksyn – metabolitów kwasu arachidonowego. Post. Biol. Kom. 2001; 28: 335-350.* Swój udział w pracy szacuję na 95%.

Wyniki te prezentowane też były na 2 konferencjach:

***Józefowski S**, Biedroń R, Olszanecki R, Bobek M, Marcinkiewicz J. Exogenous but not endogenous PGE_2 regulates cytokine secretion from murine bone marrow derived dendritic cells via cAMP elevating prostanoid receptors. John Humphrey's School, Zakopane 2002, Poland.*

Biedroń R, ***Józefowski S****, Bobek M, Marcinkiewicz J. Leukotrienes modulate profile of cytokines released by dendritic cells. Central European Journal of Immunology 2005; 30: 17. XII Zjazd Polskiego Towarzystwa Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej, Lublin 2005.*

W latach 2002-2005 (przez pierwsze dwa lata w ramach urlopu naukowego na UJ) pracowałem w *Department of Environmental Health* na Uniwersytecie Harvarda w Bostonie. Realizowałem tam projekt badawczy dotyczący biologii receptorów zmiataczy klasy A. To głównie prace z tego okresu stanowią podstawę do ubiegania się o tytuł doktora habilitowanego. Ponadto, w okresie tym uczestniczyłem w badaniach mechanizmu odpowiedzialnego za międzypłciowe różnice odporności. Wyniki naszych badań wskazują, że za zwiększoną odporność samic na infekcje bakteryjne płuc odpowiada większa aktywność indukowanej przez estrogen syntezy tlenku azotu typu endotelialnego w makrofagach pęcherzyków płucnych. Wyniki te nie zostały jeszcze opublikowane w formie artykułu, ale były prezentowane na 2 konferencjach:

Kobzik L, Yang ZP, Huang Y-C, Koziel H, ***Józefowski S****, Imrich, A. Increased female resistance to pneumonia via lung macrophage NOS3. Journal of Leukocyte Biology 2005; Supplement: 19. 38th Annual Meeting of the Society-for-Leukocyte-Biology, Oxford 2005, England.*

Kobzik L, Yang Z, Huang Y-C, Koziel H, ***Józefowski S****, Imrich A. P007. Increased female resistance to pneumonia via lung macrophage NOS3. Nitric Oxide 2006; 14 (4): 19. 4th International Conference on Biology, Chemistry and Therapeutic Applications of Nitric Oxide, Monterey 2006, CA.*

Następnie przez rok, od września 2005 roku, pracowałem na stanowisku *Senior Research Officer* w Zakładzie Nauk Biologicznych Uniwersytetu Essex w Anglii. Badałem

tam udział receptorów kooperujących z TLR4: CD14 i MARCO w generowaniu odpowiedzi ludzkich monocytów i makrofagów na LPS (endotoksynę) i możliwość kolokalizacji tych receptorów w specyficznych domenach błon komórkowych, tzw. tratwach lipidowych (ang. *lipid rafts*). Lipopolisacharyd jest najbardziej aktywnym biologicznie składnikiem bakterii Gram-ujemnych, odpowiedzialnym za wstrząs septyczny towarzyszący ogólnoustrojowemu zakażeniu wywołanemu przez te bakterie. Praca zawierająca wyniki tych badań jest przygotowywana do publikacji.

Po powrocie do Polski, przez przeszło trzy lata, od czerwca 2007 roku do września 2010 roku pracowałem na stanowisku adiunkta w Zakładzie Biologii Komórki Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN w Warszawie. Tematyka moich badań w tym okresie obejmowała rolę tratw lipidowych błony komórkowej, endocytozy i sfingolipidów w aktywacji makrofagów przez LPS. Wraz ze współpracownikami wykazaliśmy, że sfingolipidy (metabolity sfingomieliny) pełnią fizjologiczną rolę negatywnych regulatorów, zapobiegających nadmiernej pro-zapalnej aktywacji makrofagów przez LPS. Zaobserwowaliśmy, że LPS aktywuje w makrofagach kwaśną i obojętną sfingomielinazę, a produkowane przez te enzymy ceramid i 1-fosforan ceramidu hamują stymulowaną przez LPS produkcji czynnika martwicy nowotworów α (TNF-α). Ceramid, ale nie 1-fosforan ceramidu, hamował ponadto produkcję chemokiny MIP-2, ale nie uczestniczył w regulacji produkcji chemokiny RANTES i tlenku azotu. Wyniki tych badań opublikowaliśmy w pracy:

***Józefowski S**, Czerkies M, Łukasik A, Bielawska A, Bielawski J, Kwiatkowska K, Sobota A. Ceramide and ceramide 1-phosphate are negative regulators of TNF-α production induced by lipopolysaccharide. J. Immunol. 2010; 185: 6960-6973.* **IF = 5,745**; liczba cytowań: **4**. Swój udział w pracy szacuję na 70%.

Część tych wyników była też prezentowana na konferencji w Warszawie:

***Józefowski S**, Sobota A. Ceramide negatively regulates lipopolysaccharide-stimulated tumor necrosis factor (TNF)-α production. Conference of the Polish Academy of Sciences & Warsaw University of Life Sciences-SGGW "Vaccines: Advances in Plant and Microbial Biotechnology, Infectious Immunity and Cancer Therapy, Warsaw 2008: 213.*

Wyniki moich badań nad rolą szlaków endocytarnych zależnych i niezależnych od klatryny i dynamity w regulacji ekspresji powierzchniowej receptorów dla LPS (TLR4 i CD14) i w regulacji odpowiedzi makrofagów na LPS sugerują, że te dwa typy endocytozy odgrywają przeciwstawną rolę w tych procesach. Zależna od klatryny i dynamity internalizacja LPS umożliwia inicjację zależnej od białka adapterowego TRIF transdukcji sygnału przez zlokalizowany w endosomach TLR4 i nie obniża ekspresji receptorów LPS (TLR4, CD14) na powierzchni komórki. W przeciwieństwie, niezależna od dynamity, a zależna od cholesterolu i kinaz tyrozynowych endocytoza prowadzi do obniżenia poziomu TLR4 i CD14 na powierzchni komórki i, w konsekwencji, do zmniejszenia stymulowanej przez LPS produkcji mediatorów prozapalnych przez makrofagi. Wyniki tych badań zostały opublikowane w monografii:

***Józefowski S**, Sobota A. Toll-like receptor 4 (TLR4) surface expression and responsiveness to lipopolysaccharide (LPS) are regulated differentially by dynamin-dependent and dynamin-independent endocytic pathways. /Molecular Biology in Diagnostics of Infectious Diseases and Biotechnology/.* *Monografia SGGW,* *Warszawa (2009) p. 92-95.* Swój udział w tej pracy szacuję na 95%.

W okresie mojego zatrudnienia w Instytucie Biologii Doświadczalnej zajmowałem się także odpornością na infekcje wywołane przez prątki gruźlicy (*Mycobacterium tuberculosis*), w tym wpływem na makrofagi lipoarabinomannanu – głównego czynnika wirulencji obecnego w ścianach komórkowych tych bakterii. Wyniki naszych badań wskazują na rolę

receptorów zmiataczy w zahamowaniu stymulowanej przez LPS produkcji tlenku azotu i nasileniu produkcji TNF-α przez lipoarabinomannan w makrofagach. Zidentyfikowałem receptor zmiatacz klasy B – CD36 jako specyficzny receptor zaangażowany w stymulację produkcji TNF-α przez lipoarabinomannan, podczas gdy za zahamowanie produkcji tlenku azotu wydaje się odpowiadać jakiś inny, wymagający jeszcze identyfikacji typ receptora zmiatacza. Wyniki z tego zakresu zostały opublikowane w pracy badawczej:

***Józefowski S**, Sobota A, Pawłowski A, Kwiatkowska K.* Mycobacterium tuberculosis *lipoarabinomannan enhances LPS-induced TNF-α production and inhibits NO secretion by engaging scavenger receptors. Microb. Pathog. 2011; 50: 350-359.* **IF = 2,000**; liczba cytowań: **1**. Swój udział w pracy szacuję na 80%.

W pracy przeglądowej z tej dziedziny omówiliśmy rolę wytwarzanego przez *M. tuberculosis* lipoarabinomannanu jako głównego czynnika wirulencji tych bakterii. Wysunąłem hipotezę, że lipoarabinomannan może działać immunosupresyjnie dlatego, że naśladuje strukturę reszt oligosacharydowych w glikoproteinach gospodarza (mimikra molekularna) i dzięki temu aktywuje receptory hamujące, wyspecjalizowanych w usuwaniu uszkodzonych glikoprotein, takie jak receptor mannozowy.

***Józefowski S**, Sobota A, Kwiatkowska K. How* Mycobacterium tuberculosis *subverts host immune responses. Bioessays. 2008; 30: 943-954.* **IF = 5,316**; liczba cytowań: **16**. Swój udział w pracy szacuję na 65%.

Opracowałem ponadto metodę oznaczania receptorów o bardzo niskim poziomie ekspresji, która została opublikowana w pracy metodycznej:

***Józefowski S**, Czerkies M, Sobota A, Kwiatkowska K. Determination of cell surface expression of Toll-like receptor 4 by cellular enzyme-linked immunosorbent assay and radiolabeling. Anal. Biochem. 2011; 413: 185-191.* **IF = 3,236**; liczba cytowań: **0**. Swój udział w pracy szacuję na 60%.

Wraz ze współpracownikami z Pracowni Receptorów Błony Komórkowej zostałem wyróżniony nagrodą Wydziału II Nauk Biologicznych i Rolniczych PAN za cyklu prac opublikowanych w latach 2008-2010 na temat roli sfingolipidów i fosfatydyloinozytoli jako przekaźników sygnału receptorów komórek układu odpornościowego. Nagrody te przyznawane są corocznie za szczególnie ważne odkrycia badawcze opublikowane w prestiżowych czasopismach naukowych.

Od października 2010 roku ponownie pracuję w Katedrze Immunologii CM UJ, najpierw na stanowisku asystenta, a od stycznia tego roku adiunkta. Badam rolę receptorów zmiataczy w niewymagającej opsonin fagocytozie bakterii oraz mechanizm inicjowanej przez te receptory transdukcji sygnału. Drugą dziedziną moich badań jest mechanizm nasilonej immunogeności białek, będącej następstwem utlenienia przez produkowany przez neutrofile kwas podchlorowy. Badania te finansowane są z przyznanych mi przez Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum środków na badania statutowe (numer K/ZDS/002326) oraz z grantu MNiSW (numer N N401 042139), w którym jestem wykonawcą. Część tych wyników prezentowana była na konferencji Polskiego Towarzystwa Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej w Gdańsku:

Biedroń R, ***Józefowski S***, *Zapotoczny S, Prokopowicz Z, Chain BM, Nowakowska M, Marcinkiewicz J. Ovalbumin modified by hypochlorous acid (HOCl) exhibits increased immunogenicity which may be caused by its enhanced, scavenger receptors-mediated uptake by antigen presenting cells. XIV Zjazd Polskiego Towarzystwa Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej, Gdańsk 2011.*

W obu okresach zatrudnienia w Katedrze Immunologii UJ CM prowadziłem także zajęcia dydaktyczne dla studentów Wydziału Lekarskiego, Wydziału Farmacji i Oddziału

Analityki Medycznej w ramach kursu immunologii, a także zajęcia w języku angielskim w Szkole Medycznej dla Obcokrajowców.

W ostatnich latach recenzowałem artykuły dla „*Journal of Biochemistry*", „*International Archives of Allergy and Immunology*" i dla „*Molecules*".

Mój dorobek naukowy obejmuje rozprawę doktorską, 23 prace oryginalne opublikowane w czasopismach naukowych zagranicznych i krajowych, spośród których w 20 jestem pierwszym autorem, a w 2 drugim autorem, oraz 18 opublikowanych doniesień zjazdowych. Suma IF wszystkich publikacji równa się 45,409, a całkowita liczba cytowań według bazy *Web of Science*: 261. Indeks Hirscha dla całości dorobku naukowego uwzględnionego w bazie *Web of Science* wynosi: 10.

Szczepan Józefowski

dr Szczepan Józefowski