

dr n. med. Agata Ziomber
Katedra Patofizjologii
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum
agata.ziomber@uj.edu.pl

A U T O R E F E R A T

informujący o zainteresowaniach i osiągnięciach w działalności naukowej, dydaktycznej oraz organizacyjnej

1. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej:

1999 – dyplom ukończenia studiów medycznych na kierunku lekarskim Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie (wówczas Akademia Medyczna w Krakowie) i uzyskanie tytułu lekarza medycyny

2007 – dyplom doktora nauk medycznych na Wydziale Lekarskim UJ Collegium Medicum w Krakowie; rozprawa doktorska pt. „Magnetycznie sterowana stymulacja nerwu błędnego a przyjmowanie pokarmu i masa ciała” obroniona z wyróżnieniem

2009 – dyplom lekarza specjalisty w dziedzinie chorób wewnętrznych

2014 – dyplom lekarza specjalisty w dziedzinie endokrynologii

2. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych:

2000 - 2002 – staż lekarski – Szpital Specjalistyczny im. L. Rydygiera w Krakowie

2002 – 2006 – 4-letnie Dzielne Studia Doktoranckie na Wydziale Lekarskim UJ Collegium Medicum w Krakowie - Katedra Patofizjologii

2003 – 2009 – staż specjalizacyjny z chorób wewnętrznych w Szpitalu Specjalistycznym im. J. Dietla w Krakowie – Klinika Chorób Wewnętrznych i Medycyny Wsi, UJ Collegium Medicum w Krakowie

2006 – 2009 – asystent w Katedrze Patofizjologii UJ Collegium Medicum w Krakowie

2007 – 2008 – postdoctoral fellowship w Katedrze i Zakładzie Nefrologii i Nadciśnienia, Nikolaus-Fiebiger Centre for Molecular Medicine, Friedrich-Alexander University Erlangen-Nurnberg, Niemcy

2009 – obecnie – adiunkt w Katedrze Patofizjologii UJ Collegium Medicum w Krakowie

2011 – 2014 – staż specjalizacyjny z endokrynologii w Uniwersyteckim Szpitalu Dziecięcym w Krakowie

3. 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. nr 65, poz. 595 ze zm.):

a) tytuł osiągnięcia naukowego:

Na osiągnięcie naukowe dotyczące zagadnienia: „Doświadczalna obwodowa i centralna elektroneuromodulacja w wybranych jednostkach chorobowych ze szczególnym uwzględnieniem otyłości” składa się monotematyczny cykl czterech publikacji w czasopismach naukowych o łącznym Impact Factor wynoszącym **9,044/ (94 pkt. MNISW)**.

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

1. Krzysztof Zaraska, **Agata Ziomber**, Katarzyna Ciesielczyk, Andrzej Bugajski, Olga Wiśniewska, Beata Skowron, Kajetan Juszcak, Wiesław Zaraska, Piotr Jan Thor. Aktywność elektryczna nerwu błędnego u szczurów w zależności od stopnia sytości. 2011. Folia Med. Crac.: 51, 1-4, 5-17. (**MNISW = 4**)
2. **Agata Ziomber**, Piotr Thor, Anna Krygowska-Wajs, Tomasz Załęcki, Marek Moskała, Irena Romańska, Jerzy Michaluk, Lucyna Antkiewicz-Michaluk. Chronic impairment of the vagus nerve function leads to inhibition of dopamine but not serotonin neurons in rat brain structures. 2012. Pharmacol. Rep.: 64, 6, 1359-1367. (**IF =1,965; MNISW = 25**)
3. **Agata Ziomber**, Eugeniusz Rokita, Jolanta Kaszuba-Zwoinska, Irena Romańska, Jerzy Michaluk, Lucyna Antkiewicz-Michaluk. Repeated Transcranial Direct Current Stimulation Induces Behavioral, Metabolic and Neurochemical Effects in Rats on High-Calorie Diet. 2018. Front. Behav. Neurosci.: 11, 262, 1-17. (**IF = 3,104; MNISW = 35**)
4. **Agata Ziomber**, Artur Dawid Surowka, Lucyna Antkiewicz-Michaluk, Irena Romanska, Pawel Wrobel and Magdalena Szczerbowska-Boruchowska. Combined brain Fe, Cu, Zn and neurometabolite analysis – a new methodology for unraveling the efficacy of transcranial direct current stimulation (tDCS) in appetite control. 2018. Metallomics. 1;10(3):397-405. (**IF = 3,975; MNISW = 30**)

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

Na moje osiągnięcie naukowe składają się publikacje powstałe w oparciu o wieloletnie doświadczenie nabyte w Katedrze Patofizjologii UJ Collegium Medicum w zakresie neuromodulacji nerwów obwodowych oraz centralnych ośrodków mózgowych. Są one kontynuacją prowadzonych przeze mnie, od początku kariery naukowej, badań nad rolą układu nerwowego, w tym nerwu błędnego, w regulacji homeostazy energetycznej. W badaniach tych byłam osobą bezpośrednio odpowiedzialną za część fizjologiczną tj. zaplanowanie i przeprowadzenie eksperymentów, w tym wykonanie procedur mikrochirurgicznych, ocena zachowania związanego z jedzeniem, przygotowanie tkanek do dalszych badań, współuczestniczyłam w analizie, interpretacji i przedstawieniu uzyskanych wyników, jak również w napisaniu pracy oraz udzielaniu odpowiedzi na uwagi recenzentów. Powyższe eksperymenty obejmowały modulację aktywności nerwu błędnego oraz stymulację przezczaszkową (transcranial direct current stimulation; tDCS). Celem prowadzonych przeze mnie badań była po pierwsze wartość poznawcza – określenie właściwości elektrycznych nerwu błędnego i możliwych mechanizmów odpowiedzialnych za gromadzenie energii oraz procesów regulujących pobieranie pokarmu. W badaniach tych oceniałam efekty działania

neuromodulacji na różnych poziomach: 1. fizjologicznym - ocena tempa przyrostu masy ciała, ilości przyjętego pokarmu, stopnia otluszczenia ciała, ewentualnych objawów ubocznych; 2. biochemicznym – pomiar osoczowego stężenia leptyny, greliny, cholesterolu itp.; 3. neurochemicznym - ocena metabolizmu mózgowego monoamin tj. adrenalina, dopamina, serotonina i ich pochodne; oraz 4. molekularnym – ocena zawartości pierwiastków, metali i niemetalu, w rejonach mózgu odpowiedzialnych za homeostazę energetyczną. Kolejnym celem prowadzonych przeze mnie badań był aspekt praktyczny – możliwość zastosowania tych nowatorskich i małoinwazyjnych metod leczniczych w terapii otyłości i/lub zaburzeń odżywiania u ludzi. Narastająca fala otyłości i brak skutecznego leczenia tej światowej epidemii skłaniają do poszukiwań nieinwazyjnych i bardziej efektywnych metod jej leczenia. Należy podkreślić, że nasza Katedra była do niedawna jedynym w Polsce i nielicznym na świecie ośrodkiem naukowym zajmującym się problematyką zastosowania neurostymulacji w leczeniu otyłości. Zwieńczeniem wieloletnich badań doświadczalnych i klinicznych, w tym tych prezentowanych w moim osiągnięciu naukowym, było uznanie przez amerykańską Agencję Żywności i Leków (FDA) w 2015 roku stymulacji nerwu błędnego (terapia vBLOC) za jedną z metod leczenia otyłości u ludzi. Choć tDCS jest jeszcze metodologią eksperymentalną, nie przyjętą formalnie do powszechnego klinicznego zastosowania, można domniemywać, że badania zakrojone na coraz większą skalę, w tym te ujęte w osiągnięciu naukowym, przyczynią się do możliwości zastosowania tej nieinwazyjnej metody w terapii otyłości i/lub zaburzeń odżywiania u ludzi.

1. Wstęp: Neuromodulacja

Pojęcie „neuromodulacja” oznacza zmianę w aktywności nerwowej poprzez celowane dostarczenie bodźca za pomocą stymulacji elektrycznej lub czynnika chemicznego, do specyficznych miejsc neurologicznych ciała. Urządzenia do elektroneuromodulacji stymulują nerwy obwodowe, rdzeń kręgowy lub ośrodki mózgowy za pomocą sygnałów elektrycznych przekazywanych z zewnętrznych źródeł prądu bezpośrednio lub pośrednio na nerw obwodowy lub do ośrodków „głębokich” mózgu. Przykładem bezpośredniej elektrostymulacji jest modulacja aktywności nerwu błędnego (VNS, vagal nerve stimulation; terapia vBLOC) oraz stymulacja głęboka mózgu (DBS, deep brain stimulation). Natomiast pośrednia (nieinwazyjna) elektrostymulacja polega na wysyłaniu bodźców elektrycznych do głębszych rejonów ciała za pomocą elektrod powierzchniowych zazwyczaj umieszczanych na skórze nad docelowym miejscem stymulacji (np. TENS, Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation; tDCS, transcranial Direct Current Stimulation). Celem elektroneuromodulacji jest zmiana aktywności elektrycznej wybranych nieprawidłowo funkcjonujących dróg nerwowych i/lub ośrodków mózgowych. Terapie elektrostymulacyjne są obecnie wykorzystywane do uśmierzania bólu, przywrócenia prawidłowej funkcji przewodu pokarmowego oraz pęcherza moczowego, jak również w leczeniu lekoopornej padaczki, czy drżeń w chorobie Parkinsona lub innego pochodzenia.

2. Metodologia

Dwie pierwsze prace [1,2] przedłożone jako podstawa mojego postępowania habilitacyjnego są kontynuacją prowadzonych przeze mnie badań w ramach Studiów Doktoranckich nad wpływem elektromagnetycznej stymulacji nerwu błędnego w kontroli przyjmowania pokarmu. Ich celem było „odkodowanie” informacji „sygnalnych” przekazywanych drogą odruchów wago-wagalnych z żołądka do mózgu oraz ocena efektów centralnych (na poziomie ośrodkowego układu nerwowego, OUN) zastosowanych parametrów/form modulacji aktywności nerwu błędnego.

Nerw błędny (X nerw czaszkowy) jest głównym nerwem części parasympatycznej autonomicznego układu nerwowego (AUN). 90% włókien nerwu X to afferentne niezmielinizowane włókna C przewodzące informacje z narządów szyi, klatki piersiowej i jamy brzusznej do mózgu. Uważa się, że to głównie nerw błędny jest odpowiedzialny za przekazywanie informacji dośrodkowej/ afferentnej związanej z przyjmowaniem pokarmu i pośredniczy w regulacji apetytu wchodząc w skład wyszukanej sieci neuro-hormonalnej zwanej osią mózgowo-jelitową. Wykazano, że zarówno układ dopaminergiczny, jak i serotoninergetyczny są zaangażowane w kontrolę równowagi energetycznej, choć ich dokładne działanie na zachowanie związane z jedzeniem nie jest wyjaśnione. Większość danych wskazuje na aktywację obu tych układów w procesie hamowania łaknienia.

Stosowanie neurostymulacji wymaga nie tylko znajomości anatomii i topografii, ale także właściwości elektrycznych modulowanych nerwów. Ograniczona wiedza w tej dziedzinie powoduje, że często poruszamy się w wąskim przedziale stosowanych parametrów stymulacji w celu uniknięcia nieprzewidzianych objawów ubocznych. Celem pierwszej pracy [1], powstałej w kooperacji z Instytutem Technologii Elektronowej w Krakowie, prezentowanej jako moje osiągnięcie naukowe, była analiza i próba interpretacji aktywności elektrycznej nerwu błędnego u gryzoni głodnych i najedzonych. W celu rejestracji aktywności nerwowej odizolowało lewy nerw błędny w odcinku szyjnym, po czym założono na niego srebrne elektrody o średnicy 75 μm : elektrodę mankietową zapisującą oraz elektrodę prostą odnośną w osłonie rurki poliuretanowej. Proksymalny koniec elektrody zalano woskiem w celu mechanicznej stabilizacji nerwu i elektrod, po czym umieszczono badane zwierzę w klatce Faradaya i podłączono do rejestratora (analogowy przedwzmacniacz A-M Systems 3000). Sygnał był następnie wprowadzany do połączonego z komputerem systemu rejestrującego (ADInstruments Power Lab), gdzie był filtrowany filtrem dolnoprzepustowym 2 kHz i próbkowany z częstotliwością 4 kHz. Po wykonaniu zapisu jego dalsza analiza prowadzona była w oparciu o program GNU Octave. Badania wykazały, że możliwa jest charakterystyka aktywności nerwu błędnego przy zastosowaniu odpowiedniej aparatury i wnikliwej analizie właściwości elektrycznych nerwu. Średnia liczba zliczeń impulsów w nerwie błędnym na sekundę wyniosła 0,9 ($\mu = 0,57$) w grupie szczurów najedzonych oraz 0,26 ($\mu = 0,04$) w grupie szczurów głodnych. Oznacza to, że spożycie pokarmu spowodowało zwiększenie aktywności nerwowej 3–4-krotnie. Naistotniejszym parametrem decydującym o ilości zliczeń impulsów w nerwie błędnym (czyli o przynależności do konkretnej grupy ze względu na stopień sytości) okazała się wartość μ . Praca, choć opublikowana w czasopiśmie bez IF, zawiera nowatorską i unikalną na skalę światową metodologię, a uzyskane wyniki znacząco przyczyniły się do poszerzenia wiedzy dotyczącej aktywności elektrycznej nerwu błędnego oraz potwierdziły, że możliwa jest modulacja aktywności nerwu w celu uzyskania konkretnego efektu terapeutycznego.

Kolejnym celem mojej pracy naukowej w Katedrze Patofizjologii UJ Collegium Medicum było stworzenie jeszcze doskonalszej wersji microchipa (tzw. fizjologicznego) napędzanego baterią do stymulacji nerwów obwodowych. To wyzwanie stało się możliwe dzięki wcześniejszym badaniom “odkodowania” właściwości elektrycznych nerwu błędnego w zależności od stopnia rozciągnięcia żołądka. Oprócz zapewnienia neurostymulatorowi dłuższej żywotności, udało się zainstalować detektor sygnalizujący zakończenie jego działania. Konstrukcja nowego mikroprocesora poprzedzona była żmudnymi próbami, a osiągnięte wyniki badań zostały przedstawione w kolejnej pracy [2], w której oceniono również efekty stymulacji wagalnej na poziomie ośrodkowego układu nerwowego. W badaniu

porównano efekty 3. różnych typów modulacji aktywności nerwu błędnego na mózgowy metabolizm dopaminy (DA), serotoniny (5-HT) oraz ich metabolitów (DOPAC, 3-MT, HVA). Zastosowano elektryczną stymulację lewego nerwu błędnego parametrami imitującymi fizjologiczną/ podstawową impulsację wagalną (microchip fizjologiczny, MCPH: 0,5 msek; 2 mA; 1 Hz), elektryczną stymulację nerwu X parametrami o niskiej częstotliwości (MCL: 10 msek; 200 mV; 0,05 Hz) oraz przerwanie przepływu impulsacji w lewym nerwie błędnym poprzez chirurgiczną wago-tomię. Metodyka implantacji microchipa polegała na wykonaniu laparotomii z odsłonięciem podprzeponowego odcinka lewego nerwu błędnego. Następnie przez rozstęp mięśniowy przemieszczono do jamy brzusznej elektrody mikroprocesora, które owinięto wokół pnia lewego nerwu X: katodę dystalnie a anodę proksymalnie, ok. 5 mm od siebie. Dzięki takiej lokalizacji elektrod prąd płynął z microchipa w kierunku domózgowym. Mikroprocesor został umieszczony na powierzchni jamy brzusznej w specjalnie wypreparowanej kieszeni podskórnej, a rany zaszyte warstwowo. Stymulacja nerwu błędnego parametrami "fizjologicznymi" nie wpłynęła na mózgową aktywność układu dopaminergicznego i serotonergicznego (ocenianego metodą HPLC). Natomiast efekty stymulacji wagalnej za pomocą MCL oraz chirurgicznej wago-tomii na metabolizm monoamin w badanych rejonach mózgu były porównywalne (zmniejszenie aktywności układu dopaminergicznego), co ujawniło hamujące działanie niskoczęstotliwych parametrów VNS skutkując "czynnościową wago-tomią". Eksperyment ten zweryfikował nasze poglądy dotyczące neurostymulacji, wskazując, że w zależności od zastosowanych parametrów VNS może mieć charakter pobudzający lub hamujący. Choć w pracy skupiono się na ocenie metabolizmu monoamin w rejonach mózgu związanych z patogenezą choroby Parkinsona, należy zaznaczyć, że badane obszary (kora frontalna, FCx; jądro półleżące, NAc; prążkowie, STR; obszar brzuszny nakrywki; VTA) również biorą udział w regulacji apetytu związanej z układem nagrody i kary oraz hedonistyczną reakcją na pokarm. Przedstawione powyżej badania spotkały się z dużą aprobatą – wyróżniono je za najlepszą prezentację posterową na IV Zjeździe Sekcji Schorzeń Pozapiramidowych Polskiego Towarzystwa Neurologicznego, Bronisławów - 2009; zaproszono mnie do współpracy z przedsiębiorstwem w ramach projektu współfinansowanego przez Unię Europejską: "Zielone światło innowacji", 2014.

Kontynuacją mojej aktywności naukowej w Katedrze Patofizjologii UJ Collegium Medicum są badania nad wpływem bezpośredniej przezczaszkowej elektrostymulacji ośrodków mózgowych na zachowanie związane z jedzeniem u otyłych zwierząt doświadczalnych. Nowatorska metodologia neurostymulacji oraz moje doświadczenie w tej tematyce badawczej zostały wyróżnione przez recenzentów projektów Narodowego Centrum Nauki poprzez przyznanie w 2013 roku finansowania na realizację badania pt. "Przezczaszkowa bezpośrednia stymulacja mózgu (tDCS) a homeostaza energetyczna u otyłych szczurów" – grant OPUS 5. O unikatowości problematyki świadczy zaledwie kilkanaście rekordów w PubMed dotyczących zastosowania tDCS w otyłości, a przewaga badań doświadczalnych nad klinicznymi w tym obszarze wynika m.in. z możliwości oceny efektów tDCS na poziomie mózgowym. Jako kierownik projektu wraz z zespołem naukowców z PAN, AGH i Zakładu Biofizyki UJ CM wykazałam skuteczność tDCS w hamowaniu apetytu i przyrostu masy ciała u otyłych osobników na diecie wysokokalorycznej. Wyniki tych nowatorskich badań, prowadzonych na poziomie behawioralnym, metabolicznym, neurochemicznym i molekularnym, zostały opublikowane w kolejnych dwóch pracach [3,4] prezentowanych jako moje osiągnięcie naukowe. Założeniem ww. badań była teza, że elektryczna przezczaszkowa

modulacja aktywności ośrodków mózgowych odpowiedzialnych za regulację apetytu zahamuje łaknienie i w związku z tym zmniejszy masę ciała. Jedną z teorii otyłości wskazuje na zaburzenie równowagi elektrycznej/ metabolicznej między półkulami mózgu jako przyczynę hiperfagii, dlatego celem badań było elektryczne pobudzenie (stymulacja anodowa – depolaryzacja błony komórki nerwowej) prawej półkuli lub zahamowanie (stymulacja katodowa – hiperpolaryzacja błony komórki nerwowej) lewej półkuli mózgu. Ze względu na niewielkie rozmiary czaszki, chęć precyzyjnej i trwałej lokalizacji elektrod oraz zastosowanie stymulacji u przytomnych szczurów zdecydowano się na implantację elektrod bezpośrednio na kościach czaszki (epikranialną). W trakcie realizacji projektu udało się ustalić efektywne (zahamowanie przyjmowania pokarmu i tempa przyrostu masy ciała), a zarazem bezpieczne (efekt potwierdzony w badaniach histopatologicznych skrawków mózgu) parametry przewlekłej stymulacji tDCS zmieniające zachowanie związane z jedzeniem oraz podjęto próby wyjaśnienia centralnych i obwodowych mechanizmów mogących tłumaczyć uzyskane wyniki. Prowadzone badania wykazały [3], że niezależnie od polaryzacji stymulacji (anodowa vs katodowa), tDCS wpłynęła głównie na ośrodki mózgowie związane z nagrodą i hedonistyczną reakcją na pokarm (FCx, NAc, STR), natomiast w mniejszym stopniu na podwzgórzową regulację homeostatyczną. Ponadto, tDCS miała silniejszy wpływ na aktywność mózgowego układu serotonergicznego niż dopaminergicznego (ocena metabolizmu mózgowego monoamin metodą HPLC – 5-HT, 5-HIAA, DOPA, DOPAC, 3-MT, HVA) w procesie regulacji równowagi energetycznej. Dużą wartością poznawczą było wykonanie ww. badań w różnych odstępach czasowych (po 1h i 5h od ostatniej stymulacji) oraz osobno dla prawej i lewej półkuli mózgu. Stwierdzono znaczący wzrost (25-40%) metabolizmu mózgowego serotoniny we wszystkich badanych strukturach z wyjątkiem podwzgórza 5h od ostatniej stymulacji. Również po 5h od ostatniej anodowej tDCS zanotowano zmniejszenie gęstości receptorów dopaminergicznych D2 w STR. Wyniki te ugruntowały rolę układu serotonergicznego jako inhibitora łaknienia. W badaniach metabolicznych, oprócz spadku całkowitej i tłuszczowej masy ciała (ocena wagi okołonajądrowej tkanki tłuszczowej; fat-pads), wykazano zmniejszenie osoczowego poziomu leptyny (wskaźnika otluszczenia ciała) oraz poprawę gospodarki lipidowej u osobników poddanych aktywnej tDCS. Znaleziono również szereg interesujących korelacji, które potwierdziły korzystny wpływ tDCS na poziomie metabolicznym.

Na szczególną uwagę zasługują oryginalne wyniki prezentowane w kolejnej pracy [4] zaliczonej w poczet mojego osiągnięcia naukowego. Badania dotyczyły wpływu anodowej tDCS (atDCS) prawej kory przedczołowej na zawartość niektórych metali oraz metabolizm monoamin w rejonach mózgu odpowiedzialnych za regulację apetytu. Prawidłowy metabolizm biometali odgrywa zasadniczą rolę w homeostazie tkanki mózgowej. Ostatnio wykazano udział pierwiastków śladowych tj. Zn, Cu i Fe w patogenezie niektórych chorób cywilizacyjnych i neurodegeneracyjnych. Celem prowadzonych badań było nie tylko określenie zawartości tych metali w mózgu otyłych szczurów poddanych atDCS, ale również wykazanie, że metalomika (w tym przypadku ocena pierwiastkowego składu tkanki mózgowej za pomocą rentgenowskiej mikrospektroskopii fluorescencyjnej) może służyć do weryfikacji biochemicznych i fizjologicznych skutków tDCS. Zawartość Zn, Cu i Fe oceniono m.in. w ośrodku głodu i sytości (VMH), jądrze łukowatym (podwzgórze) oraz w części mózgu (mezo limbicznej) wchodzącej w skład systemu nagrody i kary (STR, NAc, VTA) za pomocą fluorescencji rentgenowskiej z dyspersją energii. Równolegle w ww. regionach mózgu zbadano metabolizm dopaminy, serotoniny i ich metabolitów metodą

HPLC. Badania te po raz kolejny wykazały hamujący wpływ zastosowanych parametrów tDCS na apetyt oraz tempo przyrostu masy ciała. Ponadto stwierdzono zwiększenie poziomu serotoniny oraz zmniejszenie aktywności układu dopaminergicznego w STR 24h od ostatniej tDCS potwierdzając udział tych monoamin w regulacji zachowania związanego z jedzeniem. Dodatkowo wykazano wzrost zawartości Fe, Zn i Cu w NAc oraz spadek Zn i Cu w ośrodku sytości jak również wzrost Fe w VTA u otyłych osobników poddanych aktywnej atDCS. Wykonane badania sugerują, że kliniczne efekty tDCS są powiązane ze zmianami na poziomie ośrodkowego układu nerwowego nie tylko w postaci zmian metabolizmu monoamin odpowiedzialnych za homeostazę energetyczną, ale również w postaci zmian zawartości metali śladowych tj. Fe, Zn i Cu w rejonach mózgu związanych z regulacją apetytu. Zastosowanie technik opartych na promieniowaniu X w tej pracy miało na celu poszerzenie badań nad wyjaśnieniem mechanizmów działania tDCS w regulacji przyjmowania pokarmu, jak również ocenę potencjalnego udziału pierwiastków chemicznych w procesach biochemicznych towarzyszących tDCS.

Dążąc do praktycznego wykorzystania uzyskanych wyników doświadczalnych, przeprowadziłam również pilotażowe badanie nad wpływem tDCS na apetyt i masę ciała u pacjentów z otyłością. Wyniki badania klinicznego (dane nie opublikowane) zachęcają do kontynuacji tego projektu. Wierzę, że w niedalekiej przyszłości tDCS, podobnie jak elektrostymulacja nerwu błędnego, będzie jedną z alternatywnych metod leczenia otyłości. Moja dalsza działalność naukowa nakierowana jest na ocenę wpływu różnych form elektroneuromodulacji na homeostazę energetyczną w wybranych schorzeniach ze szczególnym uwzględnieniem chorób cywilizacyjnych. W związku z tym prowadzę intensywną współpracę naukową z Wydziałem Fizyki i Informatyki Stosowanej, AGH w Krakowie, Instytutem Farmakologii PAN w Krakowie, Sincrotrone Trieste S.C.p.A., Trieste, Włochy oraz International Atomic Energy Agency (IAEA), Vienna, Austria.

4. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

4.1. Publikacje tematycznie związane z osiągnięciem naukowym

Oprócz 4. prac wskazanych jako moje osiągnięcie naukowe, jestem współautorem 11. prac oryginalnych oraz 2. artykułów poglądowych tematycznie związanych z cyklem prac składających się na osiągnięcie naukowe – prace te posiadają łączny **IF 17,668 (181 pkt. MNISW)**.

Od początku pracy w Katedrze Patofizjologii UJ Collegium Medicum moje zainteresowania naukowe skupiały się na zastosowaniu różnych technik neuromodulacji obwodowych i centralnych mechanizmów regulujących łaknienie. Wśród stosowanych przeze mnie metod neurostymulacji znalazła się elektrostymulacja za pomocą microchipa zasilanego baterią, stymulacja przy użyciu solenoidu napędzanego zewnętrznym pulsacyjnym polem elektromagnetycznym (PEMF), bezpośrednia stymulacja magnetyczna za pomocą PEMF generowanego przez zestaw neurostymulatora, chirurgiczne przecięcie nerwu obwodowego oraz bezpośrednia przezczaszkowa stymulacja prądem stałym. Zestawy do neurostymulacji zostały zaprojektowane i/lub zmodyfikowane przez naszą Katedrę we współpracy z Instytutem Technologii Elektronowej w Krakowie oraz Zakładem Biofizyki UJ Collegium Medicum w Krakowie.

Trzy pierwsze prace (Zaraska W, et al. *Neuromodulacja czynności wegetatywnych z użyciem neurowszczepów zasilanych polem magnetycznym*. 2004. *Folia Med. Crac.*; Ziomber A, et al. *Magnetically induced vagal nerve stimulation and food intake and body mass in growing rats*. 2005. *Folia Med. Crac.*; Ziomber A, et al. *Magnetically induced vagus nerve stimulation and feeding behavior in rats*. 2009. *J. Physiol. Pharmacol.*) powstały w ramach prowadzonych przeze mnie badań naukowych w czasie Studiów Doktoranckich w Katedrze Patofizjologii UJ CM i dotyczyły wpływu elektromagnetycznej stymulacji nerwu błędnego na zachowanie związane z jedzeniem. Publikacje z 2004 i 2005 roku, zawierają główne założenia nowej metodyki dotyczące stymulacji nerwu błędnego z użyciem neurowszczepu zasilanego zewnętrznym polem magnetycznym (w tym schemat neurostymulatora generującego PEMF oraz opis właściwości elektrycznych nerwu błędnego). Stały się one głównym źródłem wiedzy dla kolejnych eksperymentów, wykazując skuteczność tej metodologii w hamowaniu przyjmowania pokarmu. Pomysł zastosowania solenoidu napędzanego PEMF wynikał z niewielkich rozmiarów zwierząt laboratoryjnych (szczury Wistar), co w znacznym stopniu ograniczało użycie wówczas dostępnych, stosunkowo dużych baterii. Pole magnetyczne, generowane przez neurostymulator (NSE 002, Instytut Technologii Elektronowej, Kraków), skierowane prostopadle do uzwojeń cewki wzbudzało w niej prąd elektryczny, przekazywany następnie przez elektrody na nerw błędny. Parametry stymulacji lewego nerwu błędnego u młodych osobników na diecie wysokotłuszczowej były dobrane doświadczalnie poprzez zmianę amplitudy oraz czasu wypełnienia impulsu, jak również na podstawie wcześniejszych obserwacji, że impulsy w nerwie błędnym mają współczynnik wypełnienia poniżej 10% oraz czas repetycji poniżej 30 Hz. Zastosowane parametry neurostymulacji zostały przedstawione w postaci 3-dniowych dawek PEMF wyrażonych w A2 x h /m2. Trzecia praca, z 2009 roku, jest zwieńczeniem moich badań prowadzonych w ramach Studiów Doktoranckich nad elektromagnetyczną stymulacją nerwu błędnego u osobników z otyłością indukowaną dietą wysokokaloryczną. W doświadczeniach zastosowano solenoid zaimplantowany do lewego nerwu błędnego napędzany zewnętrznym PEMF (10 kHz), który w porównaniu z mikrostymulatorem baterijnym był mniejszy i działał tak długo, jak długo generowane było pole magnetyczne. W ciągu 15 dni stymulacji zbadano wpływ różnych kombinacji amplitudy – 50 mV, 100 mV 150 mV i 200mV oraz częstotliwości - 0,1 Hz, 0,2 Hz, 0,5 Hz i 1 Hz sygnału na zachowanie związane z jedzeniem. Wraz z rozpoczęciem VNS zaobserwowano stopniowe zwalnianie tempa przyrostu masy ciała, które osiągnęło znamienność statystyczną w 9 dniu stymulacji i utrzymywało się do zakończenia eksperymentu. Dodatkowo stwierdzono hamujący wpływ VNS na ilość zjedzonego pokarmu oraz wzrost stężenia polipeptydu P we krwi. Badania te stały się podwaliną dla wszystkich kolejnych eksperymentów z użyciem PEMF prowadzonych w naszej Katedrze. Ta nowatorska i skuteczna metodyka zyskała zainteresowanie nie tylko naukowców (nagroda za najlepszą ustną prezentację podczas Konferencji Młodych Adeptów Fizjologii - Warszawa, 2006; zaproszenie do współpracy naukowej przez profesora Jensa Titze z Uniwersytetu Erlangen-Nurnberg, Niemcy, 2006-2008; obrona doktoratu z wyróżnieniem, 2007), ale i klinicyстів (III Katedra Chirurgii UJ Collegium Medicum w Krakowie), co zaowocowało pierwszymi przeprowadzonymi w Polsce próbami neurostymulacji u pacjentów z otyłością.

W kolejnej pracy (Bugajski A, et al. *Effect of long-term vagal stimulation on food intake and body weight during diet induced obesity in rats*. 2007. *J. Physiol. Pharmacol.*) oceniono wpływ przewlekłej stymulacji nerwu błędnego (102 dni) za pomocą mikroprocesora

napędzanej baterią (czas impulsu 10 msek, amplituda 200 mV, częstotliwość 0,05 Hz) na równowagę energetyczną u szczurów z otyłością indukowaną dietą wysokokaloryczną. Zastosowana stymulacja nerwu X o niskiej częstotliwości zmniejszyła ilość spożywanego pokarmu, tempo przyrostu masy ciała oraz stopień otluszczenia ciała mierzonego jako ilość okołonajdrowej tkanki tłuszczowej (fat-pads) potwierdzając korzystne skutki metaboliczne tej nowatorskiej metody.

Ze względu na fakt, że okołonajdrowa tkanka tłuszczowa może służyć jako wykładnik otluszczenia ciała tylko u osobników męskich, w kolejnej publikacji (*Tatoń G, et al. Adipose tissue quantification in rats with the use of computed tomography. 2018. Current Medical Imaging Reviews*) we współpracy z Zakładem Biofizyki UJ Collegium Medicum zaproponowałam inną metodę pomiaru stopnia otluszczenia ciała. U męskich i żeńskich szczurów Wistar o różnej masie ciała wykonano pomiar wewnątrzbrzuszej tkanki tłuszczowej metodą tomografii komputerowej (TK) a uzyskane wyniki porównano z ilością tłuszczu wyciętego z jamy brzusznej. Na podstawie szczegółowej analizy, przeprowadzonej przy użyciu specjalnie dla tych celów skonstruowanego oprogramowania, stwierdzono, że TK jest prostą, dokładną i obecnie dostępną metodą, która z powodzeniem może być stosowana do oceny stopnia otluszczenia ciała, gdyż pomiary dobrze korelują z ilością wyciętej tkanki tłuszczowej.

Kontynuacją moich badań nad wyjaśnieniem mechanizmów działania neurostymulacji wagalnej są kolejne dwie prace (*Szczerbowska-Boruchowska M, et al. The influence of electrical stimulation of vagus nerve on elemental composition of dopamine related brain structures in rats. 2012. Neurochem. Int.* oraz *Surówka AD, et al. Peripheral vagus nerve stimulation significantly affects lipid composition and protein secondary structure within dopamine-related brain regions in rats. 2015. Neuromol. Med.*), w których zastosowano techniki rentgenowskiej mikrospektroskopii fluorescencyjnej (SRXRF) w celu jakościowej i ilościowej analizy składu pierwiastkowego mózgu szczurów poddanych neuromodulacji lewego nerwu X. SRXRF jest coraz częściej stosowaną techniką analityczną dla potrzeb biologii i medycyny, gdyż wykorzystując promieniowanie synchrotonowe jako źródło fotonów wiązki wzbudzającej, charakteryzuje się lepszą wykrywalnością pierwiastków, poprawą przestrzennej zdolności rozdzielczej oraz skróceniem czasu analizy. W badaniach wykorzystano SRXRF jako narzędzie uzupełniające diagnostykę zmian na poziomie mózgowym (ocena potencjalnego udziału pierwiastków w procesach biochemicznych towarzyszących neurostymulacji) występujących w wyniku zastosowania stymulacji lewego nerwu błędnego w odcinku podprzeponowym za pomocą mikroprocesora zasilanego baterią u szczurów Wistar. Badania składu pierwiastkowego wykonano w obszarach kory ruchowej, prążkowiu, jądrze półleżącym, istocie czarnej, brzusznej części nakrywki oraz w jądrze grzbietowym ruchowym nerwu błędnego. Elektrostymulacja nerwu błędnego wywołała znaczące zmiany składu pierwiastkowego w prążkowiu – wzrost ilości fosforu, siarki, chloru, potasu, żelaza i cynku. Dodatkowo, wykryto spadek wapnia, cynku i rubidu w istocie czarnej prawej półkuli mózgu u zwierząt poddanych neurostymulacji. Ponadto stymulacja lewego nerwu błędnego zmieniła drugorzędową strukturę lipidów (długość kwasów tłuszczowych, poziom tłuszczów nienasyconych) i białek (ilość alfa-heliks, całkowita powierzchnia amidu I) głównie w rejonach mózgu związanych z układem dopaminergicznym. Uzyskane rezultaty pokazują unikatową użyteczność techniki SRXRF jako narzędzia mogącego służyć do weryfikacji centralnych efektów neurostymulacji.

Innym typem neuromodulacji jest przezczaszkowa bezpośrednia stymulacji mózgu (tDCS), którą zajmuję się aktualnie w ramach działalności naukowej w Katedrze Patofizjologii UJ CM. Na podstawie prowadzonych badań nad wpływem tDCS na równowagę energetyczną u otyłych szczurów na diecie wysokokalorycznej, w ramach projektu NCN – OPUS 5, powstały kolejne prace dotyczące tego zagadnienia (Ziomber A, et al. *Data quantification procedures for a bench-top elemental microimaging of brain specimens for the clinical studies on the obesity treatment by transcranial direct current brain stimulation*. 2017. *X-ray Spectrom.*; Surówka AD, et al. *Molecular and elemental effects underlying the biochemical action of transcranial direct current stimulation (tDCS) in appetite control*. 2018. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* oraz Surówka AD, et al. *Combined use of infrared and hard X-ray microprobes for spectroscopy-based neuroanatomy*. 2018. *J Instrum.*). W pierwszej z prac skupiono się na dokładnym opisie stosowanej w naszych badaniach oryginalnej metodyki mapowania pierwiastkowego tkanki mózgowej *in situ* z użyciem fluorescencji rentgenowskiej na przykładzie otyłych zwierząt poddanych anodowej tDCS. Należy podkreślić, że metodologia ta jest nowatorska i dotąd nie stosowana w tego typu badaniach, dlatego wymagała szczegółowej analizy oraz udowodnienia jej niezawodności i przydatności. W prezentowanej publikacji określono podstawowe warunki, jakie powinny być zapewnione w tego typu badaniach: sposób pobrania, przygotowania i przechowywania tkanki mózgowej, grubość próbek, sposób gromadzenia danych, ocena intensywności/ energii promieniowania fluorescencyjnego. Porównano również skład pierwiastkowy próbek świeżych i wysuszonych, wskazując jak stopień uwodnienia tkanek może zmienić wyniki. Określono także wpływ macierzy organicznej na właściwości absorpcyjne próbki oraz sposoby ilościowej oceny składu pierwiastkowego dla próbek zakwalifikowanych jako cienkie, pośrednie lub grube. W przeprowadzonym badaniu udowodniono, że odpowiednia metodologia dopasowana do rodzaju badanego materiału biologicznego jest kluczowa w uzyskaniu wiarygodnych wyników przy zastosowaniu SRXRF. Natomiast w kolejnych pracach po raz pierwszy zaproponowano połączenie dwóch technik obrazowania pierwiastkowego tj. spektroskopię podczerwieni (FTIR, *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*) oraz SRXRF jako narzędzie do oceny centralnych efektów tDCS u otyłych osobników. Zarówno anodowa tDCS prawej kory przedczołowej, jak i katodowa tDCS lewej kory przedczołowej w porównywalnym stopniu zahamowały apetyt oraz tempo przyrostu masy ciała, dowodząc po raz kolejny swej skuteczności w regulacji równowagi energetycznej. Oba typy aktywnej tDCS zmieniły również skład pierwiastkowy (Na, Cl, K, Ca) oraz drugorzędową strukturę białek i lipidów w większości badanych rejonach mózgu, wskazując, że efekty kliniczne stymulacji są powiązane ze zmianami neurobiochemicznymi obejmującymi lipidy, białka, metale i niemetale niezależnie od polaryzacji przyłożonego prądu. Ponadto wykazano, że prezentowane techniki z zastosowaniem wielowymiarowego grupowania danych za pomocą algorytmu $K_{\text{średnia}}$ mogą być uzupełniającymi narzędziami analitycznymi używanymi do odróżnienia różnych struktur mózgowych na podstawie ich składu pierwiastkowego. Przedstawiona metodologia charakteryzuje się również wysoką specyficnością w identyfikacji rejonów mózgu w zależności od ilości zawartych w nich lipidów i białek. W ramach pracy naukowej nad otyłością i współpracy z Uniwersytecką Kliniką Stomatologiczną w Krakowie powstały dwie prace pogładowe (Ziomber A. *Związek między masą ciała a stanem jamy ustnej*. 2014. *Med. Trib. (Warsz.)* oraz Ziomber A. *Operacje bariatryczne - implikacje w jamie ustnej*. 2016. *Med. Trib. (Warsz.)*) opisujące możliwe

powiązania między nadmierną masą ciała lub stanem po operacji bariatrycznej a kondycją jamy ustnej. Wykazano, że zarówno nadwaga/ otyłość, jak i różne techniki zmniejszające wchłanianie pokarmowe mogą sprzyjać stanom zapalnym jamy ustnej i wypadaniu zębów, co powiązane jest ze zmianą flory bakteryjnej przewodu pokarmowego.

4.2. Pozostałe publikacje nie związane tematycznie ze wskazanym osiągnięciem naukowym

Moje zainteresowania naukowe skupiają się również na tematyce patogenezy nadciśnienia wrażliwego na sól. W ramach moich badań w Katedrze oraz we współpracy z Uniwersytetem Erlangen-Nurnberg w Niemczech, powstały 4 prace dotyczące tej tematyki (Ziomber A, et al. *Sodium-, potassium-, chloride-, and bicarbonate-related effects on blood pressure and electrolyte homeostasis in deoxycorticosterone acetate-treated rats*. 2008. *Am. J. Physiol., Renal Physiol.*; Machnik A, et al. *Macrophages regulate salt-dependent volume and blood pressure by a vascular endothelial growth factor-C-dependent buffering mechanism*. 2009. *Nat. Med.*; Ziomber A, et al. *New insights into salt-sensitive hypertension*. 2012. *Folia Med. Crac.*; Ziomber A, et al. *The role of renal nerves in volume-independent mechanisms of DOCA-NaCl hypertension*. 2018. *Prz. Lek.*). W prezentowanych pracach zawarte są nowe teorie dotyczące patogenezy nadciśnienia wrażliwego na sól, w tym według modelu doświadczalnego z użyciem octanu deoksykortykosteronu (DOCA) i NaCl. Badania przeprowadzone w Niemczech wykazały, że nadmierne spożycie NaCl powoduje nagromadzenie w organizmie nie tylko Na⁺ osmotycznie aktywnego, czyli tego wiążącego wodę (mechanizmy zależne od objętości), ale sód może również występować w tkankach jako Na⁺ osmotycznie nieaktywny (skóra) oraz jako neutralna wymiana Na⁺/ K⁺ (mięśnie szkieletowe) (mechanizmy niezależne od objętości). Wykazano, że nadciśnienie sodo-wrażliwe charakteryzuje się wzrostem Na⁺ osmotycznie nieaktywnego w skórze, a w jego patogenezie bierze udział układ immunologiczny i limfatyczny, którego rozrost jest pobudzany przez komórki zapalne (makrofagi) stymulujące VEGF i ekspresję syntazy tlenu azotu (eNOS). Okazuje się również, że do rozwoju nadciśnienia sodo-wrażliwego potrzebne są nie tylko jony Na⁺, ale również Cl⁻, ponieważ podanie szczurom NaHCO₃ zamiast NaCl nie wywołuje wzrostu ciśnienia tętniczego. Nasze przełomowe badania opublikowane w *Nature Medicine* przyczyniły się do zgłoszenia mojej osoby przez władze Uczelni do konkursu na nagrodę Prezesa Rady Ministrów w 2010 r. za wybitne osiągnięcie naukowe. Kolejna praca łączy oba moje pola zainteresowań: neuromodulację oraz nadciśnienie wrażliwe na sól i dotyczy roli nerwów nerkowych w niezależnych od objętości mechanizmach nadciśnienia indukowanego podażą DOCA i NaCl. W badaniu zastosowano elektromagnetyczną stymulację lewego nerwu nerkowego za pomocą solenoidu zasilanego zewnętrznym PEMF połączoną z przeciwstronną nefrektomią i oceniliśmy wpływ neurostymulacji na wartości ciśnienia skurczowego (SBP), akcję serca (HR, HRV) oraz gromadzenie Na⁺, K⁺ i wody w skórze, jako miejsca odkładania się sodu osmotycznie nieaktywnego. Stymulacja nerwu nerkowego jeszcze bardziej podniosła wartości SBP, czemu towarzyszył wzrost HR i HRV, potwierdzając udział autonomicznego układu nerwowego w mechanizmie nadciśnienia tętniczego. Natomiast nie zmieniła się istotnie zawartość Na⁺, K⁺ i wody w skórze wskazując, że inne niż zależne od objętości mechanizmy przyczyniły się do wzrostu parametrów hemodynamicznych. Na podstawie przeprowadzonych badań wysnuiliśmy wniosek, że nerwy nerkowe biorą udział w patogenezie nadciśnienia tętniczego, ale nie sodo-wrażliwości.

Kolejny cykl 5 prac (*Kaszuba-Zwoinska J, et al. Pulsating electromagnetic field induces apoptosis of rat's bowel Cajal's cells. 2005. Folia Med. Crac.; Kaszuba-Zwoinska J, et al. Loss of interstitial cells of cajal after pulsating electromagnetic field (PEMF) in gastrointestinal tract of the rats. 2005. J. Physiol. Pharmacol.; Kaszuba-Zwoinska J, et al. Pulsating electromagnetic field stimulation prevents cell death of puromycin treated U937 cell line. 2010. J. Physiol. Pharmacol.; Kaszuba-Zwoinska J, et al. LPS treatment and exposure to PEMF induce cell death and change in secretory activity of HMVEC-Bd with MM6 cocultre. 2014. Adv. Biosci. Bioeng.; Kaszuba-Zwoinska J, et al. Changes in cell death of peripheral blood lymphocytes isolated from children with acute lymphoblastic leukemia upon stimulation with 7 Hz, 30 mT pulsed electromagnetic field. 2015. Cell. Mol. Biol. Lett.*) zawiera wyniki badań nad wpływem pulsacyjnego pola elektromagnetycznego (PEMF) na żywotność komórek, w tym komórek Cajala przewodu pokarmowego szczurów (*in vivo*), leukocytów jednojądrzastych krwi obwodowej oraz komórek linii komórkowych (*in vitro*). U zwierząt poddanych działaniu PEMF oceniono metodą immunohistochemiczną ekspresję antygenu c-kit w różnych odcinkach przewodu pokarmowego – pod wpływem ekspozycji na PEMF powierzchnia tych komórek zmniejszyła się w dwunastnicy i okrężnicy, a zwiększona ekspresja białka proapoptotycznego Bax w komórkach c-kit pozytywnych wskazywała na indukcję w nich procesu apoptozy. Z kolei ochronne działanie PEMF wykazano w kolejnym doświadczeniu z wykorzystaniem ludzkiej linii komórkowej U937, które miało na celu wyjaśnienie mechanizmu śmierci komórki poddanej ekspozycji PEMF (50 Hz). Puromycyna była czynnikiem indukującym śmierć komórkową, a żywotność komórek była oceniana metodą cytometrii przepływowej z wiązaniem aneksyny-V wyznakowanej APC i 7-AAD (7 amino-aktynomycyna D). Zablockowanie aktywności proliferacyjnej komórki za pomocą puromycyny i umieszczenie jej w zasięgu PEMF bardziej hamowało apoptozę komórkową niż sama ekspozycja na PEMF. W kolejnym badaniu hodowlę leukocytów jednojądrzastych, pobranych od pacjentów z białaczką limfoblastyczną (ALL), poddano trzykrotnemu działaniu PEMF (50 Hz), po czym oznaczono żywotność komórek metodą cytometryczną. Nisko częstotliwe parametry PEMF indukowały śmierć komórkową, co w kontekście ALL mogłoby mieć zastosowanie terapeutyczne.

W ramach działalności naukowej w Katedrze Patofizjologii UJ CM współuczestniczyłam również w eksperymentach dotyczących patogenezy pęcherza nadaktywnego (bladder overactivity, OAB). W wyniku naszej aktywności naukowej powstało 5 prac (*Juszczak K, et al. Urodynamic effects of the bladder C-fibre afferent activity modulation in chronic model of overactive bladder in rats. 2009. J. Physiol. Pharmacol.; Juszczak K, et al. Hyperosmolarity alters micturition : a comparison of urinary bladder motor activity in hyperosmolar and cyclophosphamide-induced models of overactive bladder. 2010. Can. J. Physiol. Pharmacol.; Juszczak K, et al. The ameliorating effect of exogenous melatonin on urinary bladder function in hyperosmolar bladder overactivity and its influence on the autonomic nervous system activity. 2011. Acta Med. (Hradec Kral.); Juszczak K, et al. Effect of partial and complete blockade of vanilloid (TRPV1-6) and ankyrin (TRPA1) transient receptor potential ion channels on urinary bladder motor activity in an experimental hyperosmolar overactive bladder rat model. 2011. J. Physiol. Pharmacol.; Juszczak K, et al. The effect of hyperosmolar stimuli and cyclophosphamide on the culture of normal rat urothelial cells in vitro. 2012. Cell. Mol. Biol. Lett.*) oraz liczne doniesienia zjazdowe obejmujące zagadnienia dotyczące możliwych mechanizmów odpowiedzialnych za rozwój tego zaburzenia. OAB to zespół objawów klinicznych składający się z parę nagłych

oraz częstomoczu dziennego i/lub nocnego z nietrzymaniem moczu lub bez, przy braku lokalnych czynników, które mogłyby tłumaczyć powstanie takich objawów. Częstość występowania OAB szacuje się na do 17% u mężczyzn i oraz do 31% u kobiet. Badania eksperymentalne w zakresie OAB są niezbędne celem poznania patomechanizmów rozwoju OAB i nowych potencjalnych kierunków leczenia tego schorzenia. Prace, których jestem współautorem, obejmują modele zwierzęce indukcji OAB, badania „*in vitro*” na liniach komórkowych urotelium, zastosowanie melatoniny w leczeniu OAB oraz ocenę znaczenia receptorów waniloidowych i ankyrynowych w patogenezie tego schorzenia. Wyniki badań wykazały, że aferentne włókna nerwowe grupy C są istotne w patogenezie OAB w modelu indukowanym cyklofosfamidem oraz, że bodziec hiperosmolarny wywołuje nadaktywność mięśnia wypieracza pęcherza moczowego podobnie jak bodziec chemiczny, jednakże w porównaniu do tego drugiego jest modelem fizjologicznym. Ponadto wykazano, że melatonina zmniejsza stopień nasilenia OAB, jak również moduluje aktywność układu autonomicznego regulującego czynność pęcherza moczowego. Z kolei blokada receptorów waniloidowych TRPV1-6 i ankyrynowych TRPA1 zapobiegała rozwojowi nadaktywności mięśnia wypieracza pęcherza moczowego, podczas, gdy bodziec hiperosmolarny prowadził do uszkodzenia nabłonka urotelialnego dróg moczowych w mechanizmie nasilonej apoptozy i nekrozy komórek urotelialnych.

Ponadto jestem współautorem 2 rozdziałów w podręczniku do patofizjologii: Podstawy patofizjologii człowieka. [Wyd. 4 zm.] / red. Piotr Thor. Kraków: Uniwersyteckie Wydawnictwo Medyczne Vesalius, dotyczących chorób układu dokrewnego oraz sercowo-naczyniowego.

Prowadzone przeze mnie badania zostały wyróżnione na następujących konferencjach naukowych:

1. Wyróżnienie/ dyplom za najlepszą ustną prezentację pt. “Magnetycznie sterowana stymulacja nerwu błędnego a przyjmowanie pokarmu i masa ciała” na IV Krajowej Konferencji Młodych Adeptów Fizjologii Układu Pokarmowego, Warszawa 2006.
2. Wyróżnienie/ dyplom za najlepszą prezentację posterową pt. “Wpływ przewlekłej obwodowej stymulacji nerwu błędnego na układ dopaminergiczny w strukturach mózgu szczura” na IV Zjeździe Sekcji Schorzeń Pozapiramidowych Polskiego Towarzystwa Neurologicznego, Bronisławów, 2009.
3. W 2010 roku zostałam zgłoszona przez UJ Collegium Medicum do konkursu o nagrodę Prezesa Rady Ministrów za wybitne osiągnięcie naukowe, po opublikowaniu artykułu w prestiżowym czasopiśmie naukowym, *Nature Medicine*, opisującym nowatorskie badania dotyczące patogenezy nadciśnienia sodo-wrażliwego prowadzone we współpracy z Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Niemcy. Ostatecznie przyznano mi nagrodę w ramach projektu *Pro bono Collegii Medici Universitatis Jagiellonicae*.
4. Wyróżnienie/ dyplom za najlepszą prezentację posterową pt. “Udział nerwów nerkowych w patogenezie nadciśnienia sodo-wrażliwego” w kategorii Badania doświadczalne i aspekty metaboliczne podczas XIII Zjazdu Polskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego, Kraków, 2012.
5. Wyróżnienie/ nagroda (możliwość opublikowania wyników w polskim czasopiśmie naukowym) za najlepszą prezentację posterową pt. "Rola trzewnej tkanki tłuszczowej w

patogenezie otyłości" na Ogólnopolskiej Konferencji Naukowej (o zasięgu międzynarodowym): Problemy badawcze i dydaktyczne w medycynie prewencyjnej, Kraków, 2015.

Mój całościowy dorobek naukowy to **32** publikacje oryginalne, prace pogładowe i rozdziały w podręcznikach, jak również 25 doniesień ze zjazdów międzynarodowych oraz 17 doniesień ze zjazdów krajowych. Sumaryczny wskaźnik impact factor **IF** wynosi **66,925**, nie licząc jednej publikacji pełnotekstowej w suplemencie czasopisma – **IF 4,466**); łączna punktacja **MNISW: 495**; **liczba cytowań 553** (w tym bez autocytowań 537); **współczynnik Hirscha 9**.

4.3. Spis realizowanych projektów naukowych po osiągnięciu stopnia naukowego doktora

1. 2006-2008 – we współpracy z prof. Jensem Titze, w ramach stażu naukowego w Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Niemcy - współwykonawca:
 - Pathogenesis of salt-sensitive hypertension - Interdisziplinäres Zentrum für klinische Forschung (IZKF) Erlangen, Bundesministerium für Bildung und Forschung-Forschung unter Weltraumbedingungen (DLR/BMBF)
 2. 2007-2008 - we współpracy z prof. Jensem Titze, w ramach stażu naukowego w Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Niemcy - kierownik:
 - The role of intracerebral Na⁺/K⁺ redistribution in the development of salt-sensitive hypertension in the DOCA salt model - Fresenius Medical Care Deutschland GmbH International Marketing-BioSciences Department
 3. 2009-2012 – we współpracy z Instytutem Technologii Elektronowej w Krakowie – współwykonawca:
 - Opracowanie układu elektronicznego do elektromodulacji nerwu błędnego ze sprzężeniem zwrotnym i jego zastosowanie do badań nad otyłością i nadciśnieniem tętniczym u zwierząt doświadczalnych - projekt rozwojowy (KBN - NN515 079337)
 4. 2009-2013 – we współpracy z Wydziałem Inżynierii Metali i Informatyki Przemysłowej AGH w Krakowie oraz Katedrą Mikrobiologii UJ Collegium Medicum w Krakowie – współwykonawca:
 - Projektowanie funkcjonalnych protez kości twarzy i czaszki oraz protez laryngologicznych z bioaktywną powłoką węglowo-srebrną – projekt rozwojowy (NCN - NN507462737)
 5. 2014 – we współpracy z przedsiębiorstwem: Techprotekt Sp. z o.o. Spółka Komandytowa, Kraków - kierownik (części doświadczalnej):
 - Opracowanie systemu do magnetycznej przezczaszkowej stymulacji mózgu regulującej homeostazę energetyczną organizmu – projekt współfinansowany przez Unię Europejską “Zielone światło innowacji”
 6. 2014-2018 – we współpracy z Instytutem Farmakologii PAN w Krakowie, Zakładem Biofizyki UJ CM oraz Wydziałem Fizyki i Informatyki Stosowanej AGH w Krakowie – kierownik:
 - Przechczaszkowa bezpośrednia stymulacja mózgu (tDCS) a metabolism energetyczny u otyłych szczurów - projekt rozwojowy (NCN- OPUS 5, 2013/09/B/NZ4/02539)
- Projekty statutowe finansowane ze źródeł UJ CM w ramach utrzymania potencjału badawczego – kierownik:
7. 2010-2013: Udział nerwów nerkowych w patogenezie nadciśnienie DOCA-NaCl

8. 2012-2014: Udział nerwu błędnego w kontroli równowagi wodno-elektrolitowej i patogenezie nadciśnienia tętniczego według modelu DOCA-NaCl.
9. 2015-2016: Wpływ pulsacyjnego pola elektromagnetycznego na parametry stanu zapalnego oraz metabolizm węglowodanowy i lipidowy u szczurów z cukrzycą indukowaną dietą.
współwykonawca:
10. 2010-2012: Znaczenie trzewnego układu autonomicznego w regulacji przyjmowania pokarmu i patogenezie otyłości. Dotacja UJ Collegium Medicum na utrzymanie potencjału badawczego.
11. 2012-2015: Korowa (transcranial direct current stimulation - tDCS) oraz obwodowa (vagal stimulation – VS) stymulacja trzewnego układu nerwowego w badaniach doświadczalnych nad mechanizmami przyjmowania pokarmu. Dotacja UJ Collegium Medicum na utrzymanie potencjału badawczego
12. 2015-2016: Homeostatyczne aspekty metaboliczne stymulacji elektromagnetycznej struktur regulujących łaknienie. Dotacja UJ Collegium Medicum na utrzymanie potencjału badawczego.

4.4. Działalność organizacyjna oraz informacja o współpracy z instytucjami, organizacjami i towarzystwami naukowymi

W budynku przy ul. Czystej 18 w Krakowie mieszczącym kilka Katedr teoretycznych UJ Collegium Medicum, w tym Katedrę Patofizjologii, jestem osobą odpowiedzialną za udzielenie pierwszej pomocy na wypadek zagrożenia i ewakuacji pracowników.

Biorę czynny udział w organizacji Festiwalu Nauki i Sztuki w UJ Collegium Medicum. Wspieram organizacyjnie i merytorycznie egzamin OSCE dla studentów VI roku kierunku lekarskiego.

Ponadto biorę udział w prelekcjach mających na celu podniesienie świadomości zdrowotnej pacjentów oraz systematycznie charytatywnie wspieram różne organizacje pozarządowe m.in. Hospicjum Domowe.

Ponadto jestem lub byłam członkiem:

- ERA-EDTA
- Polskiego Towarzystwa Internistów Polskich
- Polskiego Towarzystwa Endokrynologicznego
- Polskiego Towarzystwa Diabeteologicznego

W trakcie realizacji prowadzonych przeze mnie projektów badawczych współpracowałam (a z niektórymi nadal współpracuję) z następującymi jednostkami naukowymi i instytucjami:

1. Instytut Technologii Elektronowej, Kraków
2. III Klinika Chirurgii UJ Collegium Medicum, Kraków
3. Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Niemcy
4. Wydział Inżynierii Metali i Informatyki Przemysłowej AGH, Kraków
5. Katedra Mikrobiologii UJ Collegium Medicum, Kraków
6. Instytut Farmakologii PAN, Kraków
7. Katedra i Klinika Neurologii UJ Collegium Medicum, Kraków
8. Zakład Fizyki Medycznej Instytutu Fizyki UJ
9. Zakład Biofizyki UJ Collegium Medicum, Kraków

10. Wydział Fizyki i Informatyki Stosowanej AGH, Kraków
11. Techprotekt Sp. z o.o. Spółka Komandytowa, Kraków
12. Niepubliczny Zakład Opieki Zdrowotnej PROSMED, Pracownia Histopatologii, Kraków
13. Centrum Onkologii – Instytut Marii Skłodowskiej- Curie, Pracownia Diagnostyki Laboratoryjnej, Kraków
14. Sincrotrone Trieste S.C.p.A.Trieste, Italy
15. Laboratory of X-ray tomography, CEITEC Nano Research Infrastructure, Brno University of Technology, Czech-Republic
16. International Atomic Energy Agency (IAEA), Vienna, Austria

W 2006 roku przebywałam na stażach/ szkoleniach naukowych w Niemczech:

- Katedra i Zakład Nefrologii i Nadciśnienia, Nikolaus-Fiebiger Centre for Molecular Medicine, Friedrich-Alexander University Erlangen-Nurnberg, Niemcy: kilkakrotne ok. 1-tygodniowe pobyty w ramach współpracy - czynny udziału w projekcie badawczym.
- Instytut Biochemii, Charite Campus Benjamin Franklin, Berlin, Niemcy - ok. 1-tygodniowy pobyt ze szkoleniem w zakresie pomiarów zawartości jonów w tkankach za pomocą fotometru ogniowego.
- Federal Research Centre for Nutrition and Food, Kulmbach, Niemcy – ok. 1-tygodniowy pobyt ze szkoleniem w zakresie spopielenia i przygotowywania tkanek do oceny zawartości w nich poszczególnych jonów i wody.

Ponadto w latach 2007/2008 przebywałam na ponad rocznym stażu naukowym (post doctoral fellowship) w Katedrze i Zakładzie Nefrologii i Nadciśnienia, Nikolaus_Fiebiger Centre for Molecular Medicine, Friedrich-Alexander University Erlangen-Nurnberg, Niemcy ufundowanym przez Fresenius Medical Care Deutschland GmbH w ramach Nephrocore Exchange Program.

W 2015 roku uczestniczyłam w cyklu szkoleń dla osób planujących eksperymenty z wykorzystaniem zwierząt laboratoryjnych, wykonujących procedury oraz uśmiercających zwierzęta laboratoryjne (w związku w wejściem 27.04.2015 roku w życie nowej Ustawy o ochronie zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych i edukacyjnych) zorganizowanym przez Polskie Towarzystwo Nauk o Zwierzętach Laboratoryjnych PoLLASA.

W 2016 roku odbyłam kurs Dobrej Praktyki Klinicznej organizowany przez UJ Collegium Medicum dla osób przeprowadzających badania kliniczne z udziałem ludzi.

Recenzowałam prace dla takich czasopism naukowych jak Neural Plasticity, Advances in Clinical and Experimental Medicine oraz Folia Medica Cracoviensia.

4.5.Działalność dydaktyczna

Posiadam 16-letnie doświadczenie w prowadzeniu zajęć dydaktycznych, najpierw jako asystent, a potem jako adiunkt Katedry Patofizjologii. Prowadziłam wykłady, seminaria i ćwiczenia w UJ Collegium Medicum na Wydziale Lekarskim (kierunek lekarski, lekarsko-dentystyczny, dietetyka), Wydziale Farmacji (z Oddziałem Analityki Medycznej) oraz Wydziale Ochrony Zdrowia (położnictwo i pielęgniarstwo) zarówno na studiach

stacjonarnych, jak i niestacjonarnych. W roku akademickim 2008/ 2009 roku uzyskałam dyplom najlepszego asystenta w ankiecie przeprowadzonej wśród grup studenckich III roku kierunku lekarskiego Wydziału Lekarskiego UJ CM. W czasie zajęć wdrażam nowoczesne techniki dydaktyczne: prezentacje multimedialne, przypadki kliniczne, zagadki, quizy, coaching itp. W 2016 roku uczestniczyłam w warsztatach: „Metody aktywizujące”, „Wykorzystanie coachingu podczas zajęć dydaktycznych” oraz „Jakość studenckiej pracy zespołowej podczas zajęć dydaktycznych” organizowanych w ramach Tygodnia Jakości Kształcenia na Uniwersytecie Jagiellońskim w Krakowie. Oceny ankietowe moich zajęć dydaktycznych są zazwyczaj bardzo wysokie, powyżej średniej na Uczelni.

Ponadto od 2006 roku prowadzę zajęcia z patofizjologii w Szkole Medycznej dla Obcokrajowców UJ Collegium Medicum, ze studentami 2 roku kursu 4-letniego oraz 2 roku kursu 6-letniego zarówno na kierunku lekarskim, jak i lekarsko-dentystycznym. Od wielu lat zajmuję się również koordynacją tych zajęć, m.in. opracowałam nowy regulamin i organizację zajęć przedmiotu "Pathology" dla kursu 4-letniego, który powstał przez połączenie patofizjologii i patomorfologii w UJ CM.

Opracowałam sylabusy, kolokwia i egzaminy testowe oraz programy zajęć z patofizjologii na niektórych kierunkach.

Jestem współautorem podręcznika patofizjologii dla studentów medycyny (pod redakcją prof. Piotra Thora, wydane w 2009 roku przez Uniwersyteckie Wydawnictwo Medyczne VESALIUS). W podręczniku tym jestem współautorem rozdziału dotyczącego patofizjologii chorób układu sercowo-naczyniowego oraz endokrynnego.

Ponadto byłam promotorem 1 pracy magisterskiej oraz recenzentem 2 prac magisterskich. W 2015 roku wyniki koordynowanej przeze mnie pracy magisterskiej pt. „Rola trzewnej tkanki tłuszczowej w patogenezie otyłości” zaprezentowane na Ogólnopolskiej Konferencji Naukowej (o zasięgu międzynarodowym): Problemy badawcze i dydaktyczne w medycynie prewencyjnej, Kraków, uzyskały wyróżnienie i nagrodę. Wspomniana wyżej praca magisterska została uznana za najlepszą pracę magisterską na kierunku dietetyka w 2015 roku i zgłoszona na ogólnopolski konkurs prac magisterskich Wrocławskiego Oddziału Polskiego Towarzystwa Dietetyki.

4.6. Inne

Oprócz mojej działalności naukowo-dydaktycznej na co dzień wykonuję zawód lekarza. W 2009 roku uzyskałam tytuł specjalisty chorób wewnętrznych, a w 2014 roku – specjalisty endokrynologii dzieci i dorosłych. Swoje doświadczenie kliniczne wykorzystuję zarówno na polu dydaktyki (urozmaicając zajęcia ze studentami o ciekawe przypadki kliniczne swoich pacjentów), jak i pracy naukowej (opracowując projekty kliniczne dotyczące zastosowania technik neurostymulacji u pacjentów). W związku z wykonywanym zawodem lekarza i koniecznością ciągłego doskonalenia zawodowego regularnie uczestniczę w konferencjach i szkoleniach naukowych z zakresu chorób wewnętrznych, endokrynologii, diabetologii, chorób metabolicznych, chorób układu sercowo-naczyniowego, geriatrii oraz medycyny rodzinnej.

