

Załącznik 2

Agnieszka Nikiforuk

Zakład Badań Nowych Leków

Instytut Farmakologii Polskiej Akademii Nauk w Krakowie

Autoreferat

Kraków, 2014

Dr Agnieszka Nikiforuk
Zakład Badań Nowych Leków
Instytut Farmakologii Polskiej Akademii Nauk
ul. Smętna 12
31-343 Kraków

Autoreferat

1. Imię i Nazwisko.

Agnieszka Nikiforuk

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

- 2004 - doktor nauk biologicznych w zakresie biochemii, Wydział Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie.

Tytuł: *„Skuteczność bis(kojato)oksowanadu(IV) w normalizacji zmian występujących w cukrzycy doświadczalnej oraz jego wpływ na wzrost i przeżywalność wybranych komórek wątroby szczurzej.”*

Promotor: prof. dr hab. Anna Kordowiak

- 1999 - magister biologii w zakresie biochemii, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie.

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

- 1999-2004 studia doktoranckie na Wydziale Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie.
- 2003-2004: Uniwersytet Erlangen-Nuremberg, Erlangen, Niemcy, pracownik naukowy.
- Od 2005: Zakład Badań Nowych Leków, Instytut Farmakologii Polskiej Akademii Nauk w Krakowie:

- 2005-2007: zatrudniona w IF PAN na stanowisku „asystent”
- Od 2008: zatrudniona w IF PAN na stanowisku „adiunkt”

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

a) Tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego:

Przedstawionym do oceny osiągnięciem jest cykl publikacji składający się z 6 prac oryginalnych oraz 1 pracy przeglądowej, opublikowanych w latach 2011-2014, o łącznym IF równym 27,4 (wg MNiSW: 222 punkty) dotyczący zagadnienia:

„Modelowanie zaburzeń elastyczności poznawczej w szczurzym modelu stresu unieruchomienia: mechanizmy oraz ocena prokognitywnych strategii farmakologicznych.”

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

- 1. Nikiforuk A, Popik P.** *Long-lasting cognitive deficit induced by stress is alleviated by acute administration of antidepressants.* Psychoneuroendocrinology. 2011; 36(1):28-39. (IF: 5,809; MNiSW: 32).
- 2. Nikiforuk A.** *Selective blockade of 5-HT7 receptors facilitates attentional set-shifting in stressed and control rats.* Behav Brain Res. 2012; 226(1):118-23. (IF: 3,327; MNiSW: 30).
- 3. Nikiforuk A.** *Dopamine D1 receptor modulation of set shifting: the role of stress exposure.* Behav Pharmacol. 2012; 23(4):434-8. (IF: 2,301; MNiSW: 25).
- 4. Nikiforuk A.** *Quetiapine ameliorates stress-induced cognitive inflexibility in rats.* Neuropharmacology. 2013; 64:357-64. (IF: 4,819; MNiSW: 40).
- 5. Nikiforuk A*, Popik P.** *Amisulpride promotes cognitive flexibility in rats: the role of 5-HT7 receptors.* Behav Brain Res. 2013; 248:136-40. (IF: 3,391; MNiSW: 30).
- 6. Nikiforuk A*, Popik P.** *Neurochemical modulation of stress-induced cognitive inflexibility in a rat model of an attentional set-shifting task.* Pharmacol Rep. 2013; 65(6):1479-88. (IF: 2,165; MNiSW: 25).
- 7. Nikiforuk A, Popik P.** *Ketamine prevents stress-induced cognitive inflexibility in rats.* Psychoneuroendocrinology. 2014; 40:119-22. (IF: 5,591; MNiSW: 40).

*autor korespondencyjny

Określenie wkładu własnego w powstanie danej pracy jest uwzględnione w Załączniku 4: „Wykaz opublikowanych prac naukowych lub twórczych prac zawodowych oraz informacja o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki.” Deklaracje wkładu współautora są zawarte w załączniku 6.

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

(Pozycje literatury wchodzące w skład osiągnięcia habilitacyjnego są zaznaczone pogrubioną czcionką.)

Przedłużający się stres jest jednym z czynników, który wpływa na pogorszenie funkcjonowania kory przedczołowej. Od dawna wiadomo, że stres stanowi istotny czynnik ryzyka w rozwoju chorób psychicznych, takich jak np. depresja. Należy podkreślić, że zaburzenia kognitywne towarzyszące depresji stanowią zaniedbany klinicznie aspekt tego zaburzenia, a badania dotyczące leków przeciwdepresyjnych skupiają się w dużej mierze na łagodzeniu obniżonego nastroju. Stąd też badania współzależności pomiędzy stresem a funkcjonowaniem kory przedczołowej może stanowić istotny element w rozumieniu i terapii zaburzeń poznawczych występujących w zaburzeniach afektywnych, a także w zespołach otępiennych i w zespole stresu pourazowego (**Nikiforuk i Popik 2013b**).

1. Wpływ stresu na morfologię kory przedczołowej.

Zmiany morfologii w obrębie przyśrodkowej części kory przedczołowej u szczurów poddawanych procedurze przewlekłego stresu unieruchomienia zostały szeroko udokumentowane w pracach doświadczalnych. Badania Cook i Wellman (2004) wykazały, że 3 tygodniowy stres unieruchomienia prowadził do zmniejszenia długości i liczby rozgałęzień dendrytów wierzchołkowych komórek piramidowych w przyśrodkowej części kory przedczołowej szczura. Efekty te zostały potwierdzone w kolejnych publikacjach (Brown i wsp. 2005; Cook i Wellman 2004; Radley i wsp. 2006). Co więcej, kora przedczołowa wydaje się szczególnie podatna na działanie stresu, gdyż zmiany morfologii można zaobserwować już po 1 tygodniu łagodnego stresu (Brown i wsp. 2005).

Opisane zmiany morfologiczne znajdują swoje odzwierciedlenie na poziomie elektrofizjologicznym. Liu i Aghajanian (2008) wykazali, że wywołanej stresem atrofii dendrytów wierzchołkowych towarzyszyło osłabienie przebieżności pobudzającego. Jednak najistotniejszą kwestią jest, jak te zmiany strukturalne i elektrofizjologiczne wpływają na funkcje poznawcze zależne od kory mózgu.

2. Wpływ stresu na funkcje kory przedczołowej.

Wydaje się, że zmiany w obrębie morfologii kory przedczołowej mogą przekładać się na zaburzenia funkcjonalne. U zwierząt poddanych procedurze przewlekłego stresu unieruchomienia wykazano zaburzenia zarówno morfologii jak i funkcji kory przedczołowej. Te ostatnie dotyczyły osłabienie elastyczności poznawczej ocenianej w teście przełączania uwagi (Liston i wsp. 2006).

2.1. Ocena elastyczności poznawczej w teście przełączania uwagi.

Kora przedczołowa odpowiada za tzw. „funkcje wykonawcze”, obejmujące kontrolę różnych aspektów procesów poznawczych oraz regulację zachowania. Funkcje te warunkują przebieg złożonych procesów kognitywnych jak np. elastyczność poznawcza rozumiana, jako umiejętność adekwatnej zmiany sposobu reakcji w zależności od wymogów środowiska. Elastyczność poznawcza umożliwia prawidłową adaptację do zmieniających się warunków otoczenia. Ta sprawność przełączania uwagi pomiędzy różnymi kryteriami działania może być oceniana u ludzi za pomocą testów neurokognitywnych np. tzw. testu *intradimensional / extradimensional shift* (ID/ED; (Roberts i wsp. 1988)). Test ten posiada swój przedkliniczny odpowiednik pozwalający na ocenę elastyczności poznawczej u gryzoni laboratoryjnych. Jest nim opracowany przez Birell i Brown (2000) *attentional set-shifting task* (ASST), nazywany dalej testem przełączania uwagi.

Zmodyfikowana procedura została zaimplementowana w naszym laboratorium zarówno u szczurów (Nikiforuk i wsp. 2010) jak i myszy (Kos i wsp. 2011). Aparat do testu stanowi prostokątna klatka z przepierzeniem dzielącym ją w szereg na 2 sektory (czyli tzw. obszar wyboru). W każdym z sektorów zostaje umieszczona ceramiczna miseczka, ale tylko jedna stanowi miseczkę „pozytywną”, czyli zawierającą nagrodę. Kryterium wyboru może stanowić zapach lub rodzaj materiału, pod którym jest ukryta nagroda. Szczur musi zlokalizować nagrodę poprzez rozróżnienie zapachów, którymi oznaczone są miseczki lub rodzajów materiałów wypełniających miseczki.

We właściwej części testu zwierze poddawane jest serii zadań dyskryminacyjnych, analogicznej do tej stosowanej w klinicznym teście ID/ED.

Pierwszy etap stanowi dyskryminacja prosta, obejmująca tylko jedno kryterium dyskryminacji (np. miseczki wypełnione są dwoma różnymi rodzajami materiałów stanowiącymi bodziec odpowiednio pozytywny i negatywny).

W drugim etapie (*ang. compound discrimination*) dotychczasowo obowiązujące kryterium wiodące, czyli jak w tym przypadku materiał, oraz wzorce stanowiące bodziec pozytywny i

negatywny pozostają niezmienione. Zostaje natomiast wprowadzony drugi wymiar (tj. zapach, którym oznaczone są miseczki), stanowiący kryterium nieistotne w tym etapie testu.

Kolejno następuje odwrócenie tej dyskryminacji (wzorzec będący uprzednio negatywnym staje się pozytywnym i odwrotnie).

Następny etap stanowi tzw. wewnątrzwymiarowe przełączenie uwagi (*ang. intradimensional shift*). Materiał dalej stanowi obowiązujące kryterium dyskryminacji. Miseczki są jednak wypełnione dwoma nowymi rodzajami materiału (stanowiącymi jak uprzednio bodziec pozytywny i negatywny). Pojawiają się też dwa nowe wzorce z wymiaru nieistotnego, czyli 2 nowe zapachy.

Analogicznie jak uprzednio i to zadanie dyskryminacyjne zostaje odwrócone.

Kolejny najistotniejszy etap testu stanowi tzw. pomiędzywymiarowe przełączenie uwagi (*ang. extradimensional shift, ED*). Wykonanie tego zadania dyskryminacyjnego wymaga elastyczności poznawczej, gdyż zwierze musi „rozpoznać”, że dotychczasowo obowiązujące kryterium (tj. materiał) nie decyduje już o lokalizacji nagrody. Teraz kryterium wiodącym jest zapach, jakim oznaczone są miseczki. Pojawiają się 2 nowe rodzaje zapachów (stanowiących bodziec pozytywny i negatywny) oraz 2 nowe rodzaje materiałów będące już nieistotnymi dla kryterium wyboru.

Odpowiedź zwierząt w fazie ED, będącej wskaźnikiem elastyczności poznawczej, jest zaburzana w wyniku uszkodzenia przyśrodkowej części kory przedczołowej szczura (Birrell i Brown 2000). Uważa się, że test ASST mierzy zależne od kory przedczołowej funkcje kognitywne w sposób homologiczny do stosowanego u ludzi testu ID/ED (Keeler i Robbins 2011). Dlatego też uzyskane w nim wyniki mogą znajdować szersze przełożenie.

2.2. Wywołane stresem zaburzenia elastyczności poznawczej.

Badania Liston i wsp. (2006) wykazały, że szczury poddawane przez 21 dni sześciogodzinnej procedurze stresu unieruchomienia wykazywały zarówno zmniejszenia rozgałęzień dendrytów wierzchołkowych w warstwach II/III kory przedniego zakrętu obręczy jak i selektywne zaburzenie odpowiedzi w fazie ED testu przełączania uwagi. Co istotne, stopień nasilenia zmian morfologicznych korelował z deficytem elastyczności poznawczej. Podobną prawidłowość odnotowano u ludzi gdzie wywołane stresem psychosocjalnym zmiany aktywności w obrębie kory przedczołowej, badane techniką funkcjonalnego rezonansu magnetycznego, korelowały ze sprawnością wykonania testu przełączania uwagi (ID/ED)

(Liston i wsp. 2009). Ta zbieżność pomiędzy badaniami klinicznymi i przedklinicznymi sugeruje użyteczność zwierzęcych modeli opartych o stres unieruchomienia w badaniach dotyczących wpływu stresu na funkcje kory przedczołowej. Dlatego też model ten został użyty w naszych badaniach (**Nikiforuk i Popik 2011**). Biorąc pod uwagę szczególną podatność kory przedczołowej na efekty stresu, nasza procedura polegała na unieruchomieniu szczurów tylko przez 1 godzinę dziennie przez 7 kolejnych dni. Podczas gdy stres może wywoływać długotrwałe konsekwencje, dotychczasowo publikowane badania dotyczące wpływu stresu na funkcje poznawcze w większości przeprowadzone były w trakcie, bądź zaraz po zakończeniu procedury stresowej. Stad też w naszych eksperymentach test ASST przeprowadzany był w różnych punktach czasowych od ostatniej ekspozycji na stres, tj. w dniu 4, 7, 14, 21. Nasze badania wykazały, że ta stosunkowo łagodna procedura stresowa powodowała znamienne i specyficzne zaburzenia odpowiedzi szczurów w fazie ED, wymagającej pomiędzywymiarowego przełączenia uwagi (**Nikiforuk i Popik 2011**). Nowym elementem tych badań było wykazanie, że stres powoduje długotrwałe zaburzenia elastyczności poznawczej, tj. notowane przynajmniej przez okres 3 tygodni od momentu zakończenia procedury stresowej.

Należy zauważyć, że występowanie wywołanych stresem zaburzeń elastyczności poznawczej nie są ograniczone do modelu opartego o stres unieruchomienia. Badania przeprowadzone przez zespół Morilaka wykazały, że do zaburzeń sprawności przełączania uwagi dochodzi także u szczurów poddawanych procedurze chronicznego nieprzewidywalnego stresu (Bondi i wsp. 2008; Bondi i wsp. 2010; Lapis i wsp. 2007).

3. Mechanizmy prowadzące do zaburzenia elastyczności poznawczej w modelu stresu unieruchomienia.

W odpowiedzi na stres dochodzi do szeregu zmian neurochemicznych. Obok wzmożonej sekrecji glikokortykoidów, dochodzi także do aktywacji układów glutamatergicznego oraz monoaminergicznego.

3.1. Glikokortykoidy

W odpowiedzi na stres dochodzi do aktywacji osi podwzgórze-przysadka-nadnercza (*ang. hypothalamic-pituitary-adrenal*; HPA) co prowadzi do wydzielania glikokortykoidów. Dane uzyskane w modelach zwierzęcych wskazują, że ich nadmierne i długotrwałe działanie może niekorzystnie wpływać na strukturę kory przedczołowej. Chroniczne podania kortykosteronu, naśladując działanie stresu, powodowały reorganizację morfologiczną kory przedczołowej

(Wellman 2001). Wydaje się, że nadmierne uwalnianie glikokortykoidów w odpowiedzi na stres może przyczyniać się do zmian morfologicznych w mózgu. Wykazano, że podanie antagonisty receptorów glikokortykoidowych, związku RU38486, zapobiegało wystąpieniu indukowanej stresem retrakcji dendrytów w obrębie kory przedczołowej szczura (Liu i Aghajanian 2008). Podobnie, farmakologiczna blokada syntezy kortykosteronu zapobiegała wystąpieniu indukowanych stresem zmianom w morfologii komórek CA3 hipokampa szczura (Magarinos i McEwen 1995). Glikokortykoidy wydają się także odpowiadać za wywołane stresem zaburzenia funkcji korowych. Cerqueira i wsp. (2005) wykazali, że chroniczne podania kortykosteronu powodowały zarówno redukcję objętości II warstwy kory przedczołowej jak i zaburzenie procesów uczenia odwrotnego (*ang. reversal learning*) u szczurów. Aby stwierdzić, czy wzrost stężenia kortykosteronu w odpowiedzi na stres jest odpowiedzialny za obserwowany w naszym modelu deficyt elastyczności poznawczej, przeprowadziłam eksperyment, w którym metyrapon (inhibitor syntezy kortykosteronu) podawany był przed każdą z 7 sesji unieruchomienia **(Nikiforuk i Popik 2011)**. Wykazaliśmy, że blokada syntezy kortykosteronu zapobiega negatywnym skutkom ekspozycji na stres i sugeruje rolę kortykosteroidów w powstawaniu wywołanych stresem deficytów elastyczności poznawczej.

3.2. *Glutaminian*

Stres powoduje również wzrost poziomu glutaminianu w korze przedczołowej szczura (Moghaddam 1993). Zgodnie z wynikami uzyskanymi przez Martina i Wellman (2011), glutaminian działający poprzez receptory NMDA (*ang. N-methyl-D-aspartic acid*, kwas N-metylo-D-asparaginowy) może być odpowiedzialny za zmiany reorganizacyjne w obrębie kory przedczołowej w modelu stresu unieruchomienia. Autorzy wykazali, że podanie antagonisty receptora NMDA, związku CPP, przed każdą z sesji unieruchomienia zapobiegało atrofii dendrytów w korze przedczołowej szczura. To odkrycie nasunęło przypuszczenie, że aktywacja receptora NMDA w odpowiedzi na indukowane stresem uwalnianie glutaminianu może także odpowiadać za obserwowane w naszym modelu dysfunkcje poznawcze. Dlatego w kolejnym eksperymencie oceniałam, czy podanie bezkompetycyjnego antagonisty receptora NMDA, ketaminy, przed każdą z sesji unieruchomienia będzie w stanie zapobiec negatywnym efektom stresu ocenianym w teście ASST. Wykazaliśmy, że farmakologiczna blokada receptora NMDA zapobiega wystąpieniu deficytów elastyczności poznawczej **(Nikiforuk i Popik 2014)**.

W aktywację układu glutamatergicznego, w tym receptora NMDA, w odpowiedzi na stres mogą być zaangażowane glikokortykoidy. Badania *in vivo* i *ex vivo* wskazują na udział glikokortykoidów w indukowanym stresem uwalnianiu glutaminianu zarówno w mózgu (Moghaddam i wsp. 1994), jak i synaptosomach kory mózgowej szczura (Musazzi i wsp. 2010). Kortykosteron przedłużał zależne od receptora NMDA uwalniania jonów wapnia w hodowli szczurzych komórek hipokampa (Takahashi i wsp. 2002). Nie da się jednak wykluczyć udziału innych mechanizmów w zaobserwowanych efektach podań ketaminy. Należy zauważyć, że w ostatnich latach ketamina wzbudza zainteresowanie z uwagi na swoje przeciwdepresyjne działanie (Duman i Aghajanian 2012). Na przykład, Li i wsp. (2011) wykazali, że jednokrotne podanie ketaminy nie tylko działało przeciwdepresyjnie, ale także niwelowało zmiany morfologiczne w korze przedczołowej u szczurów poddawanych procedurze chronicznego nieprzewidywalnego stresu. Za te efekty wydaje się odpowiadać aktywacja szlaku kinaz mTOR (*ang. mammalian target of rapamycin*).

3.3. Noradrenalina

Aktywacja układu noradrenergicznego w odpowiedzi na stres może również wpływać na zależne od kory przedczołowej procesy poznawcze. Nasilona stymulacja receptorów α_1 -adrenergicznych, będąca skutkiem wzmożonego uwalniania noradrenaliny w warunkach stresu (Finlay i wsp. 1995), może aktywować szlak fosfatydiloinozytolowy i kinazy białkowej C (PKC). Rola szlaku „receptory α_1 -adrenergiczne – PKC” w niekorzystnych efektach stresu została potwierdzona w badaniach eksperymentalnych wykazujących, że zarówno farmakologiczny stresor jak i stymulacja receptorów α_1 -adrenergicznych czy też bezpośrednia aktywacja PKC powoduje zaburzenie funkcji korowych (Arnsten i wsp. 1999; Birnbaum i wsp. 1999; Birnbaum i wsp. 2004). Deficyty te były odwracane zarówno poprzez blokadę receptorów α_1 -adrenergicznych jak i PKC (Birnbaum i wsp. 1999; Birnbaum i wsp. 2004). Ponadto, badania przeprowadzone przez Hainsa i wsp. (2009) sugerowały, że nadaktywność PKC może odpowiadać za zmiany morfologiczne w korze oraz dysfunkcje poznawcze u szczurów poddawanych procedurze stresu unieruchomienia. Dlatego celem kolejnego eksperymentu było stwierdzenie czy stymulacja receptorów α_1 -adrenergicznych może przyczyniać się do zaburzeń poznawczych obserwowanych w modelu stresu unieruchomienia. Moje badania wykazały, że szczury, którym podano prazosynę, antagonistę receptorów α_1 -adrenergicznych przed każdą z sesji unieruchomienia, nie wykazywały deficytów elastyczności poznawczej (Nikiforuk 2013). Ten wynik znajduje potwierdzenie w późniejszej pracy Jett i Morilak (2013), w której stwierdzono, że szczury poddawane procedurze nieprzewidywalnego chronicznego stresu nie wykazywały deficytów w fazie ED

testu przełączania uwagi, gdy przed każdą ekspozycją na stres otrzymywały dokorowe podanie mieszaniny antagonistów receptorów α_1 -, β_1 -, β_2 -adrenergicznych.

4. Neurochemiczna modulacja procesów przełączania uwagi.

Celem kolejnych badań było określenie roli układu noradrenergicznego, dopaminergicznego oraz serotonergicznego w modulacji procesów elastyczności poznawczej zarówno u zwierząt kontrolnych jak i z zaburzeniami wywołanymi stresem. W naszych badaniach oceniliśmy skuteczność jednokrotnych podań leków przeciwdepresyjnych o różnym mechanizmie działania: dezipraminy (inhibitor wychwytu zwrotnego noradrenaliny), nomifenzyny (inhibitor wychwytu zwrotnego dopaminy) oraz escitalopramu i fluoksetyny (selektywne inhibitory wychwytu zwrotnego serotoniny; ang. *selective serotonin reuptake inhibitors*; SSRIs).

4.1. Noradrenalina

W pracach prowadzonych przez grupę Morilaka wykazano, że podniesienie poziomu noradrenaliny w przyśrodkowej części kory przedczołowej szczura nasila sprawność funkcji przełączania uwagi w teście ASST (Lapiz i Morilak 2006). Kolejne badania tego zespołu wykazały, że jednokrotne podanie antagonisty autoreceptorów α_2 -adrenergicznych, atipamezolu (prowadzące do podniesienia poziomu noradrenaliny w korze przedczołowej), bądź chroniczne podania dezipraminy odwracają deficyty elastyczności poznawczej wywołane ekspozycją na chroniczny nieprzewidywalny stres (Bondi i wsp. 2010). Wyniki te sugerują, że zdolność układu noradrenergicznego do regulacji procesów poznawczych nie jest ograniczona poprzez chroniczną ekspozycję na stres i układ ten może stanowić cel interwencji farmakologicznej.

Dane te znajdują potwierdzenie w uzyskanych przez nas wynikach, zgodnie z którymi jednokrotne podanie dezipraminy zarówno nasilało elastyczność poznawczą u zwierząt kontrolnych jak i odwracało długotrwałe deficyty wywołany stresem unieruchomienia **(Nikiforuk i Popik 2011)**.

4.2. Dopamina

Rola dopaminy w regulacji funkcji poznawczych, szczególnie tych związanych z regulacją pamięci operacyjnej, jest szeroko udokumentowana (Williams i Castner 2006). Dane literaturowe sugerują, że układ dopaminergiczny reguluje także funkcje związane ze sprawnością przełączania uwagi. Moje wcześniejsze eksperymenty wykazały, że mazindol,

będący inhibitorem wychwytu dopaminy poprawia elastyczność poznawczą (Nikiforuk i wsp. 2010). Podobne działanie odnotowano dla tolkaponu, inhibitora catechol-O-metyltransferazy, którego podanie podnosi stymulowany poziom dopaminy w korze przedczołowej (Tunbridge i wsp. 2004). Nie był natomiast znany wpływ tej strategii na wywołane stresem deficyty elastyczności poznawczej. Stąd też w naszych badaniach postanowiliśmy określić skuteczność podań inhibitor wychwytu dopaminy, nomifenzyny. Uzyskane wyniki wydały się interesujące, gdyż związek ten podany w dawce nieaktywnej u zwierząt kontrolnych, nasilał elastyczność poznawczą u zwierząt stresowanych (**Nikiforuk i Popik 2011**). Mogło to sugerować występowanie wywołanych stresem zmian w obrębie układu dopaminergicznego. Jedną z prac eksperymentalnych wykazała, że w modelu chronicznego stresu dochodzi do zwiększenia gęstości receptorów dopaminowych D1 w obrębie kory przedczołowej szczura (Mizoguchi i wsp. 2000). Przesłanki te skłoniły mnie do kontynuacji badań, których celem było stwierdzenie, czy aktywacja receptora D1 odgrywa rolę w nadwrażliwości na stymulację dopaminergiczną u zwierząt stresowanych. W swoich badaniach wykazałam, że selektywny agonista receptora D1, związek SKF 81297, nasilał elastyczność poznawczą u zwierząt stresowanych, podany w niskiej, nieaktywnej u zwierząt kontrolnych dawce (**Nikiforuk 2012a**).

Niewiele opublikowanych prac doświadczalnych uwzględniało rolę poszczególnych typów receptorów dopaminowych w regulacji sprawności przełączania uwagi. Na uwagę zasługują zaobserwowane efekty podania agonisty receptora D1 u zwierząt kontrolnych. Podczas gdy związek SKF 81297, podany w środkowym zakresie dawek usprawniał elastyczność poznawczą, zarówno niższa jak i wyższa dawka były nieaktywne (**Nikiforuk 2012a**). Taka zależność w kształcie odwróconej litery U, została wcześniej opisana dla regulacji pamięci operacyjnej (Williams i Castner 2006).

4.3. Serotonina

Układ serotonergiczny, obejmujący szereg typów i podtypów receptorów, wydaje się odgrywać istotną rolę w regulacji funkcji poznawczych (Meneses 2013). Jednak według dostępnych danych jedynie ligandy receptora 5-HT₆ (opisane w artykule przeglądowym (Nikiforuk 2014)) oraz 5-HT₇ (paragraf 5 autoreferatu) były badane pod kątem wpływu na funkcje przełączania uwagi. Dane literaturowe wskazywały także, że chroniczne podania SSRI escitalopramu zapobiegały deficytom elastyczności poznawczej w modelu chronicznego nieprzewidywalnego stresu (Bondi i wsp. 2008). Natomiast nasze badania wykazały, że również jednokrotne podanie zarówno escitalopramu jak i fluoksetyny poprawia sprawność

przełączania uwagi u zwierząt kontrolnych i stresowanych (**Nikiforuk i Popik 2011**). Według naszej wiedzy dane te po raz pierwszy wskazywały, że podniesienie poziomu serotoniny może poprawiać sprawność przełączania uwagi. Dotychczas rola serotoniny była przypisywana głównie regulacji procesów uczenia odwrotnego (*ang. reversal learning*) zależnego od kory oczodołowo-czołowej (Clarke i wsp. 2005). Późniejsze doniesienia literaturowe wydają się jednak potwierdzać nasze wyniki. Wykazano, że u szczurów z inaktywacją genu transportera serotoninowego, charakteryzujących się podniesieniem zewnątrzkomórkowego poziomu serotoniny w mózgu, obserwuje się usprawnienie sprawności przełączania uwagi (Nonkes i wsp. 2012).

4.4. *Leki przeciwdepresyjne a funkcje poznawcze.*

Ponieważ długotrwały stres jest jednym z czynników ryzyka wiodących do depresji, procedury stresowe stanowią w badaniach przedklinicznych przydatne narzędzie służące zarówno do modelowania symptomatologii depresji (Anisman i Matheson 2005), jak i poszukiwania nowych leków przeciwdepresyjnych (Willner 1997). Stosowane dotychczasowo zwierzęce modele depresji opierają się głównie o ocenę zachowań odzwierciedlających anhedonię. Należy jednak zwrócić uwagę, że oprócz obniżenia nastroju, dysfunkcje poznawcze stanowią istotną cechę zaburzeń depresyjnych (Millan i wsp. 2012). Stąd też wydaje się istotne, aby przedkliniczna ocena działania przeciwdepresyjnego uwzględniała także ewentualny wpływ na funkcje poznawcze. Kwestią sporną pozostaje jednak stwierdzenie czy po jednokrotnym podaniu związku, jak miało miejsce w naszych badaniach (**Nikiforuk i Popik 2011**), można przewidzieć jego skuteczność kliniczną, ponieważ efekty kliniczne są zwykle osiągane dopiero po długotrwałym podawaniu leku. Dlatego też nie zakładam, że uzyskane efekty odzwierciedlają działanie terapeutyczne w dosłownym tego słowa znaczeniu. Należy jednak zauważyć, że jednokrotne podanie leków przeciwdepresyjnych pozwala na uzyskanie efektów przeciwdepresyjnych w procedurach przesiewowych takich jak test wymuszonego pływania czy zawieszenia za ogon (np. Wesolowska i wsp. 2007). Dlatego też efekty uzyskane w naszym modelu mogą sugerować o wpływie danego związku czy strategii farmakologicznej na funkcje poznawcze. Celowe wydaje się, więc badanie również „prokognitywnego profilu” potencjalnych leków przeciwdepresyjnych oraz testowanie ewentualnych terapii wspomagających leczenie depresji, które nakierowane są na poprawę funkcji poznawczych.

5. Prokognitywne efekty blokady receptora 5-HT₇.

Receptor serotoninowy 5-HT₇, jeden z ostatnio zidentyfikowanych członków rodziny receptorów serotoninowych, wzbudzał w ostatnich latach zainteresowanie głównie jak cel farmakoterapii depresji. Prace doświadczalne wskazywały, że zarówno genetyczna inaktywacja jak i farmakologiczna blokada tego receptora prowadzi do przeciwdepresyjnych efektów. W nurt tych badań wpisują się także prace prowadzone w naszym zespole pod kierownictwem prof. Chojnackiej –Wójcik (np. Wesolowska i wsp. 2006; Wesolowska i wsp. 2007).

Receptor 5-HT₇ może być także zaangażowany w odpowiedź ośrodkowego układu nerwowego na stres. Badania elektrofizjologiczne wykazały wzrost reaktywności receptora 5-HT₇ w modelu opartym o wielokrotne podania kortykosteronu (Tokarski i wsp. 2009). Co więcej podania antagonisty receptorów 5-HT₇ zapobiegało efektom wywieranym przez powtarzalny stres unieruchomienia na przekąźnictwo pobudzające i plastyczność synaptyczną w korze czołowej (Tokarski i wsp. 2011). Wykazano także, że w modelu chronicznego łagodnego stresu dochodzi do podwyższenia poziomu mRNA receptora 5-HT₇ w hipokampie i podwzgórzu szczura (Li i wsp. 2009). Dane te wskazują, że strategia oparta o blokadę receptora 5-HT₇ może być skuteczna w niwelowaniu deficytów poznawczych wywołanych powtarzającym się stresem. Założenie to skłoniło mnie do przeprowadzenia badań, w których wykazałam, że podanie antagonisty receptorów 5-HT₇, związku SB-269970, odwraca wywołane stresem zaburzenia elastyczności poznawczej (**Nikiforuk 2012b**). Dane doświadczalne wskazywały również, że antagonizm wobec receptora 5-HT₇ może nasilać behawioralne i neurochemiczne efekty leków przeciwdepresyjnych (Bonaventure i wsp. 2007; Wesolowska i wsp. 2007). Skuteczność tej strategii została także wykazana w moich badaniach, gdzie łączne podanie nieaktywnych dawek związku SB-269970 i SSRI, escitalopramu, nasilało elastyczność poznawczą u szczurów (**Nikiforuk 2012b**). Późniejsze badania przedkliniczne sugerują, że mechanizm ten może być odpowiedzialny za prokognitywną skuteczność nowego leku przeciwdepresyjnego, vorioksetyny, łączącego w sobie między innymi właściwości inhibitora transportera serotoninowego i antagonizm wobec receptora 5-HT₇ (Mork i wsp. 2013).

Rola receptora 5-HT₇ w regulacji procesów poznawczych, szczególnie tych związanych z korą przedczołową, nie jest do końca poznana. Dlatego też ciekawym spostrzeżeniem było odkrycie, że związek SB-269970 nasilał także elastyczność poznawczą u niezaburzonych zwierząt kontrolnych (**Nikiforuk 2012b**). Wydaje się, że prokognitywne efekty blokady receptora 5-HT₇ mogą znajdować także szersze zastosowanie w schorzeniach związanych z dysfunkcjami poznawczymi. Dotychczasowe badania wydają się sugerować prokognitywną

skuteczność antagonistów 5-HT7 w zwierzęcych modelach schizofrenii. Zgodnie z tym nurtem nasze późniejsze badania wykazały skuteczność związku SB-269970 w odwracaniu wywołanych blokadą receptora NMDA deficytów procesów przełączania uwagi jak i pamięci epizodycznej (Nikiforuk i wsp. 2013).

6. Prokognitywne efekty leków przeciwpsychotycznych o dodatkowym antydepresyjnym działaniu.

6.1. Amisulpryd

Badania dotyczące prokognitywnych efektów związanych z receptorem 5-HT7 skierowały naszą uwagę na amisulpryd, lek przeciwpsychotyczny, który obok powinowactwa do receptorów dopaminowych D2/D3, wykazuje też powinowactwo do receptora 5-HT7. Dane eksperymentalne wskazywały, że antagonizm do receptora 5-HT7 odpowiada za przeciwdepresyjne działanie amisulprydu w modelach zwierzęcych (Abbas i wsp. 2009). Amisulpryd niwelował też stan anhedonii u szczurów poddawanych procedurze łagodnego przewlekłego stresu (Papp i Wieronska 2000). Dane te oraz wcześniej zaobserwowane efekty podań antagonisty receptorów 5-HT7 sugerowały, że lek ten może także skutecznie odwracać dysfunkcje poznawcze wywoływane stresem. Efektywność amisulprydu została wykazana w naszych kolejnych badaniach prowadzonych w modelu stresu unieruchomienia (**Nikiforuk i Popik 2013a**). Obserwacja, że korzystne działanie amisulprydu w teście ASST było blokowane w obecności agonisty receptora 5-HT7, związku AS19, potwierdziły rolę receptora 5-HT7 w prokognitywnych efektach podań tego leku. Mechanizm ten wydaje się też odpowiadać za prokognitywne działanie amisulprydu w zwierzęcych modelach schizofrenii. Kolejne badania przeprowadzone w naszym zespole wykazały, że amisulpryd, wykazując skuteczność podobną do antagonisty receptora 5-HT7, odwracał deficyty pamięci epizodycznej i sprawności przełączania uwagi wywołane podaniem antagonisty receptora NMDA (Nikiforuk i wsp. 2013).

6.2. Kwetiapina

Pozostając w sferze badań nad lekami przeciwpsychotycznymi o dodatkowym antydepresyjnym działaniu, moje zainteresowanie wzbudziła kwetiapina. Jest to lek antypsychotyczny zatwierdzony do stosowania w monoterapii zarówno w fazie maniakalnej jak i depresyjnej w chorobie afektywnej dwubiegunowej (Suppes i wsp. 2010) oraz jako terapia wspomagająca w chorobie jednobiegunowej (Pae i wsp. 2010). Co więcej dane kliniczne wskazują na skuteczność monoterapii także w tym drugim przypadku (Pae i wsp.

2010). Badania przedkliniczne sugerują, że kwetiapina może odwracać, oraz zapobiegać niekorzystnym efektom stresu. Wykazano między innymi skuteczność kwetiapiny w modelu chronicznego łagodnego stresu, gdzie lek ten hamował objawy anhedonii (Orsetti i wsp. 2007). Podanie kwetiapiny przeciwdziało także niekorzystnym efektom stresu unieruchomienia na ekspresję BDNF oraz neurogenezę (Luo i wsp. 2005; Park i wsp. 2006). Nasz wcześniejsza praca wykazała prokognitywna skuteczność kwetiapiny w modelu schizofrenii (Nikiforuk i Popik 2012). Nie było natomiast danych dotyczących wpływu kwetiapiny na wywołane stresem zaburzenia funkcji poznawczych. Dlatego też pierwszym celem moich badań było określenie czy podanie kwetiapiny przed ekspozycją na stres może zapobiec wystąpieniu wywołanych stresem unieruchomienia deficytów poznawczych w teście przełączenia uwagi (**Nikiforuk 2013**). Uzyskane wyniki wykazały protekcyjne działanie kwetiapiny. Podobny efekt został opisane wcześniej dla podań prazosyny. Wysokie powinowactwo kwetiapiny do receptorów α_1 -adrenergicznych może sugerować, że antagonizm wobec tych receptorów może odgrywać rolę w protekcyjnym mechanizmie działania leku. Wśród alternatywnych mechanizmów działania kwetiapiny można wymienić jej neurotroficzne i neuroprotekcyjne efekty (Luo i wsp. 2005; Park i wsp. 2006) oraz regulujący wpływ na aktywność osi HPA (Cohrs i wsp. 2006).

Nasze poprzednie eksperymenty wykazały, że kwetiapina podana jednokrotnie tuż przed testem odwracała deficyty wywołane uprzednimi subchronicznymi podaniami antagonisty receptora NMDA, ketaminy (Nikiforuk i Popik 2012). Dlatego też celem kolejnego eksperymentu było określenie czy jednokrotne podanie kwetiapiny może również odwracać istniejące zaburzenia wywołane stresem (**Nikiforuk 2013**). Pozytywny wynik potwierdził poprzednio wykazaną prokognitywną skuteczność kwetiapiny.

Badania kliniczne wskazują na pozytywne efekty łącznych podań kwetiapiny z lekami przeciwdepresyjnymi w terapii depresji i schizofrenii (Devarajan i wsp. 2006). Natomiast niewiele wiadomo o wpływie tej strategii farmakologicznej na funkcje poznawcze, zarówno w badaniach klinicznych jak i przedklinicznych. Dlatego też celem kolejnego eksperymentu było określenie wpływu łącznego podania nieaktywnych dawek kwetiapiny i escitalopramu na odpowiedź zwierząt w teście przełączania uwagi (**Nikiforuk 2013**). Uzyskane wyniki wykazały, że ta strategia farmakologiczna prowadzi do usprawnienia funkcji poznawczych zarówno u zwierząt kontrolnych jak i stresowanych.

7. Podsumowanie.

Wyniki badań przedstawionych w pracach składających się na niniejszą rozprawę można ująć w następujących punktach:

- I. **Nikiforuk A, Popik P.** *Long-lasting cognitive deficit induced by stress is alleviated by acute administration of antidepressants.* Psychoneuroendocrinology. 2011; 36(1):28-39.
 - 7 dniowy stres unieruchomienia powoduje długotrwałe, czyli utrzymujące się przynajmniej przez 3 tygodnie zaburzenia funkcji poznawczych.
 - Blokada syntezy kortykosteronu zapobiega negatywnym skutkom ekspozycji na stres i sugeruje rolę kortykosteroidów w powstawaniu związanych ze stresem deficytów poznawczych.
 - Skuteczność działania dezipraminy, nomifenzyny i SSRI (escitalopramu i fluoksetyny) w tym modelu sugeruje użyteczność strategii opartych o układ adrenergiczny, dopaminergiczny i serotonergiczny w leczeniu zaburzeń związanych z nieprawidłowym funkcjonowaniem kory przedczołowej.
- II. **Nikiforuk A.** *Dopamine D1 receptor modulation of set shifting: the role of stress exposure.* Behav Pharmacol. 2012; 23(4):434-8.
 - Aktywacja receptorów D1 odgrywa rolę w regulacji elastyczności poznawczej a także wydaje się odpowiadać za nadwrażliwość na stymulację dopaminergiczną u zwierząt stresowanych.
- III. **Nikiforuk A.** *Quetiapine ameliorates stress-induced cognitive inflexibility in rats.* Neuropharmacology. 2013; 64:357-64.
 - Blokada receptorów α_1 -adrenergicznych zapobiega negatywnym skutkom ekspozycji na stres ocenianym w teście przełączania uwagi.
 - Kwetiapina zarówno zapobiega powstaniu jak i niweluje istniejące zaburzenia poznawcze w modelu stresu unieruchomienia.
 - Kwetiapina nasila działanie escitalopramu.
- IV. **Nikiforuk A.** *Selective blockade of 5-HT7 receptors facilitates attentional set-shifting in stressed and control rats.* Behav Brain Res. 2012; 226(1):118-23.
 - Selektywny antagonist receptoru 5-HT7, związek SB-269970, działa prokognitywnie zarówno u zwierząt kontrolnych jak i poddanych uprzednio procedurze stresu unieruchomienia.
 - SB-269970 nasila działanie escitalopramu.
- V. **Nikiforuk A, Popik P.** *Amisulpride promotes cognitive flexibility in rats: the role of 5-HT7 receptors.* Behav Brain Res. 2013; 248:136-40.

- Amisulpryd nasila elastyczność poznawczą u zwierząt zarówno kontrolnych jak i poddanych uprzednio procedurze stresu unieruchomienia.
- Blokada receptora 5-HT7 odgrywa rolę w prokognitywnych efektach podań tego leku.

VI. Nikiforuk A, Popik P. *Ketamine prevents stress-induced cognitive inflexibility in rats.* Psychoneuroendocrinology. 2014; 40:119-22.

- Ketamina zapobiega negatywnym skutkom ekspozycji na stres, co sugeruje rolę transmisji glutamatergicznej w powstawaniu zaburzeń elastyczności poznawczej w modelu stresu unieruchomienia.

Dane te wskazują, że model oparty o ocenę zaburzeń elastyczności poznawczej wywołanych stresem unieruchomienia jest skutecznym narzędziem do badania na poziomie funkcjonalnym zarówno mechanizmów powstawania zaburzeń, jak i neurochemicznej modulacji funkcji poznawczych oraz oceny strategii farmakologicznych o potencjalnym prokognitywnym działaniu. Przedstawione badania zostały ukazane w szerszym kontekście w pracy przeglądowej:

VII. Nikiforuk A, Popik P. *Neurochemical modulation of stress-induced cognitive inflexibility in a rat model of an attentional set-shifting task.* Pharmacol Rep. 2013; 65(6):1479-88.

Literatura

- Abbas, A.I., Hedlund, P.B., Huang, X.P., Tran, T.B., Meltzer, H.Y., Roth, B.L., 2009. *Amisulpride is a potent 5-HT7 antagonist: relevance for antidepressant actions in vivo.* Psychopharmacology (Berl) 205: 119-128.
- Anisman, H., Matheson, K., 2005. *Stress, depression, and anhedonia: Caveats concerning animal models.* Neurosci Biobehav Rev 29: 525-546.
- Arnsten, A.F., Mathew, R., Ubriani, R., Taylor, J.R., Li, B.M., 1999. *Alpha-1 noradrenergic receptor stimulation impairs prefrontal cortical cognitive function.* Biol. Psychiatry 45: 26-31.
- Birnbaum, S., Gobeske, K.T., Auerbach, J., Taylor, J.R., Arnsten, A.F., 1999. *A role for norepinephrine in stress-induced cognitive deficits: alpha-1-adrenoceptor mediation in the prefrontal cortex.* Biol. Psychiatry 46: 1266-1274.
- Birnbaum, S.G., Yuan, P.X., Wang, M., Vijayraghavan, S., Bloom, A.K., Davis, D.J., Gobeske, K.T., Sweatt, J.D., Manji, H.K., Arnsten, A.F., 2004. *Protein kinase C overactivity impairs prefrontal cortical regulation of working memory.* Science 306: 882-884.
- Birrell, J.M., Brown, V.J., 2000. *Medial frontal cortex mediates perceptual attentional set shifting in the rat.* J. Neurosci. 20: 4320-4324.
- Bonaventure, P., Kelly, L., Aluisio, L., Shelton, J., Lord, B., Galici, R., Miller, K., Atack, J., Lovenberg, T.W., Dugovic, C., 2007. *Selective blockade of 5-hydroxytryptamine (5-HT)7 receptors enhances 5-HT transmission, antidepressant-like behavior, and rapid eye movement sleep suppression induced by citalopram in rodents.* J. Pharmacol. Exp. Ther. 321: 690-698.
- Bondi, C.O., Jett, J.D., Morilak, D.A., 2010. *Beneficial effects of desipramine on cognitive function of chronically stressed rats are mediated by alpha1-adrenergic receptors in medial prefrontal cortex.* Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry 34: 913-923.
- Bondi, C.O., Rodriguez, G., Gould, G.G., Frazer, A., Morilak, D.A., 2008. *Chronic unpredictable stress induces a cognitive deficit and anxiety-like behavior in rats that is prevented by chronic antidepressant drug treatment.* Neuropsychopharmacology 33: 320-331.
- Brown, S.M., Henning, S., Wellman, C.L., 2005. *Mild, short-term stress alters dendritic morphology in rat medial prefrontal cortex.* Cereb. Cortex 15: 1714-1722.
- Cerqueira, J.J., Pego, J.M., Taipa, R., Bessa, J.M., Almeida, O.F., Sousa, N., 2005. *Morphological correlates of corticosteroid-induced changes in prefrontal cortex-dependent behaviors.* J. Neurosci. 25: 7792-7800.

- Clarke, H.F., Walker, S.C., Crofts, H.S., Dalley, J.W., Robbins, T.W., Roberts, A.C., 2005. *Prefrontal serotonin depletion affects reversal learning but not attentional set shifting*. J. Neurosci. 25: 532-538.
- Cohrs, S., Roher, C., Jordan, W., Meier, A., Huether, G., Wuttke, W., Ruther, E., Rodenbeck, A., 2006. *The atypical antipsychotics olanzapine and quetiapine, but not haloperidol, reduce ACTH and cortisol secretion in healthy subjects*. Psychopharmacology (Berl) 185: 11-18.
- Cook, S.C., Wellman, C.L., 2004. *Chronic stress alters dendritic morphology in rat medial prefrontal cortex*. J. Neurobiol. 60: 236-248.
- Devarajan, S., Ali, J., Dursun, S.M., 2006. *Quetiapine plus SSRI in treatment-resistant depression: possible mechanisms*. Psychopharmacology (Berl) 185: 402-403.
- Duman, R.S., Aghajanian, G.K., 2012. *Synaptic dysfunction in depression: potential therapeutic targets*. Science 338: 68-72.
- Finlay, J.M., Zigmond, M.J., Abercrombie, E.D., 1995. *Increased dopamine and norepinephrine release in medial prefrontal cortex induced by acute and chronic stress: effects of diazepam*. Neuroscience 64: 619-628.
- Hains, A.B., Vu, M.A., Maciejewski, P.K., van Dyck, C.H., Gottron, M., Arnsten, A.F., 2009. *Inhibition of protein kinase C signaling protects prefrontal cortex dendritic spines and cognition from the effects of chronic stress*. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A 106: 17957-17962.
- Jett, J.D., Morilak, D.A., 2013. *Too much of a good thing: blocking noradrenergic facilitation in medial prefrontal cortex prevents the detrimental effects of chronic stress on cognition*. Neuropsychopharmacology 38: 585-595.
- Keeler, J.F., Robbins, T.W., 2011. *Translating cognition from animals to humans*. Biochem. Pharmacol.
- Kos, T., Nikiforuk, A., Rafa, D., Popik, P., 2011. *The effects of NMDA receptor antagonists on attentional set-shifting task performance in mice*. Psychopharmacology (Berl) 214: 911-921.
- Lapiz, M.D., Morilak, D.A., 2006. *Noradrenergic modulation of cognitive function in rat medial prefrontal cortex as measured by attentional set shifting capability*. Neuroscience 137: 1039-1049.
- Lapiz, M.D., Zhao, Z., Bondi, C.O., O'Donnell, J.M., Morilak, D.A., 2007. *Blockade of autoreceptor-mediated inhibition of norepinephrine release by atipamezole is maintained after chronic reuptake inhibition*. Int. J. Neuropsychopharmacol. 10: 827-833.
- Li, N., Liu, R.J., Dwyer, J.M., Banasr, M., Lee, B., Son, H., Li, X.Y., Aghajanian, G., Duman, R.S., 2011. *Glutamate N-methyl-D-aspartate receptor antagonists rapidly reverse behavioral and synaptic deficits caused by chronic stress exposure*. Biol. Psychiatry 69: 754-761.
- Li, Y.C., Wang, F.M., Pan, Y., Qiang, L.Q., Cheng, G., Zhang, W.Y., Kong, L.D., 2009. *Antidepressant-like effects of curcumin on serotonergic receptor-coupled AC-cAMP pathway in chronic unpredictable mild stress of rats*. Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry 33: 435-449.
- Liston, C., McEwen, B.S., Casey, B.J., 2009. *Psychosocial stress reversibly disrupts prefrontal processing and attentional control*. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A 106: 912-917.
- Liston, C., Miller, M.M., Goldwater, D.S., Radley, J.J., Rocher, A.B., Hof, P.R., Morrison, J.H., McEwen, B.S., 2006. *Stress-induced alterations in prefrontal cortical dendritic morphology predict selective impairments in perceptual attentional set-shifting*. J. Neurosci. 26: 7870-7874.
- Liu, R.J., Aghajanian, G.K., 2008. *Stress blunts serotonin- and hypocretin-evoked EPSCs in prefrontal cortex: role of corticosterone-mediated apical dendritic atrophy*. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A 105: 359-364.
- Luo, C., Xu, H., Li, X.M., 2005. *Quetiapine reverses the suppression of hippocampal neurogenesis caused by repeated restraint stress*. Brain Res. 1063: 32-39.
- Magarinos, A.M., McEwen, B.S., 1995. *Stress-induced atrophy of apical dendrites of hippocampal CA3c neurons: involvement of glucocorticoid secretion and excitatory amino acid receptors*. Neuroscience 69: 89-98.
- Martin, K.P., Wellman, C.L., 2011. *NMDA receptor blockade alters stress-induced dendritic remodeling in medial prefrontal cortex*. Cereb. Cortex 21: 2366-2373.
- Meneses, A., 2013. *5-HT systems: emergent targets for memory formation and memory alterations*. Rev. Neurosci. 24: 629-664.
- Millan, M.J., Agid, Y., Brune, M., Bullmore, E.T., Carter, C.S., Clayton, N.S., i wsp, 2012. *Cognitive dysfunction in psychiatric disorders: characteristics, causes and the quest for improved therapy*. Nat. Rev. Drug Discov. 11: 141-168.
- Mizoguchi, K., Yuzurihara, M., Ishige, A., Sasaki, H., Chui, D.H., Tabira, T., 2000. *Chronic stress induces impairment of spatial working memory because of prefrontal dopaminergic dysfunction*. J. Neurosci. 20: 1568-1574.
- Moghaddam, B., 1993. *Stress preferentially increases extraneuronal levels of excitatory amino acids in the prefrontal cortex: comparison to hippocampus and basal ganglia*. J. Neurochem. 60: 1650-1657.
- Moghaddam, B., Bolinao, M.L., Stein-Behrens, B., Sapolsky, R., 1994. *Glucocorticoids mediate the stress-induced extracellular accumulation of glutamate*. Brain Res. 655: 251-254.
- Mork, A., Montezinho, L.P., Miller, S., Trippodi-Murphy, C., Plath, N., Li, Y., Gulinello, M., Sanchez, C., 2013. *Vortioxetine (Lu AA21004), a novel multimodal antidepressant, enhances memory in rats*. Pharmacol. Biochem. Behav. 105: 41-50.
- Musazzi, L., Milanese, M., Farisello, P., Zappettini, S., Tardito, D., Barbiero, V.S., i wsp, 2010. *Acute stress increases depolarization-evoked glutamate release in the rat prefrontal/frontal cortex: the dampening action of antidepressants*. PLoS. One. 5: e8566.

- Nikiforuk, A., 2012a. *Dopamine D1 receptor modulation of set shifting: the role of stress exposure*. *Behav. Pharmacol.* 23: 434-438.
- Nikiforuk, A., 2012b. *Selective blockade of 5-HT7 receptors facilitates attentional set-shifting in stressed and control rats*. *Behav. Brain Res.* 226: 118-123.
- Nikiforuk, A., 2013. *Quetiapine ameliorates stress-induced cognitive inflexibility in rats*. *Neuropharmacology* 64: 357-364.
- Nikiforuk, A., 2014. *The procognitive effects of 5-HT6 receptor ligands in animal models of schizophrenia*. *Rev. Neurosci.*
- Nikiforuk, A., Golembiowska, K., Popik, P., 2010. *Mazindol attenuates ketamine-induced cognitive deficit in the attentional set shifting task in rats*. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 20: 37-48.
- Nikiforuk, A., Kos, T., Fijal, K., Holuj, M., Rafa, D., Popik, P., 2013. *Effects of the selective 5-HT7 receptor antagonist SB-269970 and amisulpride on ketamine-induced schizophrenia-like deficits in rats*. *PLoS. One.* 8: e66695.
- Nikiforuk, A., Popik, P., 2011. *Long-lasting cognitive deficit induced by stress is alleviated by acute administration of antidepressants*. *Psychoneuroendocrinology* 36: 28-39.
- Nikiforuk, A., Popik, P., 2012. *Effects of quetiapine and sertindole on subchronic ketamine-induced deficits in attentional set-shifting in rats*. *Psychopharmacology (Berl)* 220: 65-74.
- Nikiforuk, A., Popik, P., 2013a. *Amisulpride promotes cognitive flexibility in rats: the role of 5-HT7 receptors*. *Behav. Brain Res.* 248: 136-140.
- Nikiforuk, A., Popik, P., 2013b. *Neurochemical modulation of stress-induced cognitive inflexibility in a rat model of an attentional set-shifting task*. *Pharmacol Rep.* 65:1479-1488.
- Nikiforuk, A., Popik, P., 2014. *Ketamine prevents stress-induced cognitive inflexibility in rats*. *Psychoneuroendocrinology* 40: 119-122.
- Nonkes, L.J., van de Vondervoort, I.I., de Leeuw, M.J., Wijlaars, L.P., Maes, J.H., Homberg, J.R., 2012. *Serotonin transporter knockout rats show improved strategy set-shifting and reduced latent inhibition*. *Learn. Mem.* 19: 190-193.
- Orsetti, M., Canonico, P.L., Dellarole, A., Colella, L., Di, B.F., Ghi, P., 2007. *Quetiapine prevents anhedonia induced by acute or chronic stress*. *Neuropsychopharmacology* 32: 1783-1790.
- Pae, C.U., Sohi, M.S., Seo, H.J., Serretti, A., Patkar, A.A., Steffens, D.C., Masand, P.S., 2010. *Quetiapine XR: current status for the treatment of major depressive disorder*. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 34: 1165-1173.
- Papp, M., Wieronska, J., 2000. *Antidepressant-like activity of amisulpride in two animal models of depression*. *J. Psychopharmacol.* 14: 46-52.
- Park, S.W., Lee, S.K., Kim, J.M., Yoon, J.S., Kim, Y.H., 2006. *Effects of quetiapine on the brain-derived neurotrophic factor expression in the hippocampus and neocortex of rats*. *Neurosci. Lett.* 402: 25-29.
- Radley, J.J., Rocher, A.B., Miller, M., Janssen, W.G., Liston, C., Hof, P.R., McEwen, B.S., Morrison, J.H., 2006. *Repeated stress induces dendritic spine loss in the rat medial prefrontal cortex*. *Cereb. Cortex* 16: 313-320.
- Roberts, A.C., Robbins, T.W., Everitt, B.J., 1988. *The effects of intradimensional and extradimensional shifts on visual discrimination learning in humans and non-human primates*. *Q. J. Exp. Psychol. B* 40: 321-341.
- Suppes, T., Datto, C., Minkwitz, M., Nordenhem, A., Walker, C., Darko, D., 2010. *Effectiveness of the extended release formulation of quetiapine as monotherapy for the treatment of acute bipolar depression*. *J. Affect. Disord.* 121: 106-115.
- Takahashi, T., Kimoto, T., Tanabe, N., Hattori, T.A., Yasumatsu, N., Kawato, S., 2002. *Corticosterone acutely prolonged N-methyl-D-aspartate receptor-mediated Ca²⁺ elevation in cultured rat hippocampal neurons*. *J. Neurochem.* 83: 1441-1451.
- Tokarski, K., Bobula, B., Kusek, M., Hess, G., 2011. *The 5-HT(7) receptor antagonist SB 269970 counteracts restraint stress-induced attenuation of long-term potentiation in rat frontal cortex*. *J. Physiol Pharmacol.* 62: 663-667.
- Tokarski, K., Pitra, P., Duszyńska, B., Hess, G., 2009. *Imipramine counteracts corticosterone-induced alterations in the effects of the activation of 5-HT(7) receptors in rat hippocampus*. *J. Physiol Pharmacol.* 60: 83-88.
- Tunbridge, E.M., Bannerman, D.M., Sharp, T., Harrison, P.J., 2004. *Catechol-O-methyltransferase inhibition improves set-shifting performance and elevates stimulated dopamine release in the rat prefrontal cortex*. *J. Neurosci.* 24: 5331-5335.
- Wellman, C.L., 2001. *Dendritic reorganization in pyramidal neurons in medial prefrontal cortex after chronic corticosterone administration*. *J. Neurobiol.* 49: 245-253.
- Wesolowska, A., Nikiforuk, A., Stachowicz, K., Tatarczyńska, E., 2006. *Effect of the selective 5-HT7 receptor antagonist SB 269970 in animal models of anxiety and depression*. *Neuropharmacology* 51: 578-586.
- Wesolowska, A., Tatarczyńska, E., Nikiforuk, A., Chojnacka-Wojcik, E., 2007. *Enhancement of the anti-immobility action of antidepressants by a selective 5-HT7 receptor antagonist in the forced swimming test in mice*. *Eur. J. Pharmacol.* 555: 43-47.
- Williams, G.V., Castner, S.A., 2006. *Under the curve: critical issues for elucidating D1 receptor function in working memory*. *Neuroscience* 139: 263-276.
- Willner, P., 1997. *Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation*. *Psychopharmacology (Berl)* 134: 319-329.

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

Opis zawiera krótką charakterystykę najważniejszych badań/projektów naukowych prowadzonych po uzyskaniu stopnia doktora wraz ze wskazaniem opublikowanych prac.

I. Zwierzęcy model schizofrenii oparty o podania antagonisty receptora NMDA, ketaminy.

Zainteresowanie receptorem NMDA w kontekście schizofrenii zostało zainicjowane obserwacją, że podanie zdrowym ochotnikom antagonistów receptora NMDA takich jak fencyklidyna (PCP) czy ketamina, wywołuje objawy zbliżone do tych, jakie można obserwować u pacjentów cierpiących na tę chorobę. Podania antagonistów receptora NMDA są powszechnie używane w celu wywoływania zaburzeń charakterystycznych dla schizofrenii, w tym deficytów poznawczych. Na uwagę zasługuje fakt, że podania ketaminy zdrowym ochotnikom stanowią swego rodzaju „kliniczny model” schizofrenii. Chcąc uzyskać jak najbliższe odniesienie do badań klinicznych, celowym wydaje się zastosowanie modeli zwierzęcym opartych o podania tego antagonisty receptora NMDA. Tym niemniej przegląd dostępnych doniesień literaturowych wskazywał, że ketamina jest stosunkowo rzadko stosowana w celu wywołania charakterystycznych dla schizofrenii zaburzeń w porównaniu do PCP czy dizocilpiny. Dlatego też jednym z celów moich badań było uzyskanie zwierzęcych modeli zaburzeń poznawczych opartych o podania ketaminy.

Wśród dysfunkcji poznawczych, za najbardziej charakterystyczne dla schizofrenii uważa się zaburzenia funkcji wykonawczych, zależnych od prawidłowego funkcjonowania kory przedczołowej. Funkcje te warunkują przebieg złożonych procesów kognitywnych, takich jak elastyczność poznawcza. Prowadzone przeze mnie badania wykazały, że zarówno jednokrotne jak i subchroniczne (10 dni) podania ketaminy prowadzą do zaburzeń elastyczności poznawczej w szczyrimym teście przełączania uwagi i mogą stanowić przedkliniczny model charakterystycznych dla schizofrenii zaburzeń funkcji poznawczych zależnych od kory przedczołowej.

- **Nikiforuk A**, Gołombiowska K, Popik P. *Mazindol attenuates ketamine-induced cognitive deficit in the attentional set shifting task in rats*. Eur Neuropsychopharmacol. 2010; 20(1):37-48. (**IF**: 4,201; **MNiSW**: 32).
- **Nikiforuk A**, Popik P. *Effects of quetiapine and sertindole on subchronic ketamine-induced deficits in attentional set-shifting in rats*. Psychopharmacology (Berl). 2012;220(1):65-74. (**IF**: 4,061; **MNiSW**: 35).

Dysfunkcje charakterystyczne dla schizofrenii mogą dotyczyć kilku obszarów poznawczych. Jednym z nich są procesy uwagi, które u gryzoni laboratoryjnych mogą być badane w teście 5-CSRTT (*ang. 5-choice serial reaction-time task*), będącym przedklinicznym analogiem stosowanego u ludzi testu Ciągłego Wykonywania (*ang. Continuous Performance Task*). W swoich badaniach oceniłam wpływ zarówno jednokrotnych jak i wielokrotnych podań ketaminy na odpowiedź zwierząt w teście 5-CSRTT. Uzyskane wyniki wykazały, że schemat oparty o subchroniczne podania ketaminy może wywoływać zaburzenia uwagi przejawiające się niemożnością utrzymania stałej koncentracji w czasie trwania sesji. Sugeruje to użyteczność zastosowanej procedury w modelowaniu zaburzeń procesów uwagi.

- **Nikiforuk A**, Popik P. *The effects of acute and repeated administration of ketamine on attentional performance in the five-choice serial reaction time task in rats*. Eur Neuropsychopharmacol. 2014;24(8):1381-93. (IF: 5,395; MNiSW: 40).

II. Ocena strategii prokognitywnych w zwierzęcym modelu schizofrenii.

Pomimo że dysfunkcje poznawcze są dziś często zaliczane do podstawowych zaburzeń w schizofrenii, deficyty te nie są w dostatecznym stopniu leczone przez dostępne leki przeciwpsychotyczne. Stąd też istotne jest poszukiwanie nowych strategii prokognitywnych.

a) Receptor 5-HT₆.

Ostatnie dane doświadczalne wskazują na receptor 5-HT₆, jako cel farmakoterapii dysfunkcji poznawczych. Sugeruje się, że antagonizm wobec receptorów 5-HT₆ może decydować o korzystnym wpływie leku antypsychotycznego na funkcje poznawcze. Przykładem może być sertindol, który także w moich badaniach wykazał skuteczność w odwracaniu zaburzeń poznawczych wywołanych ketaminą. Prokognitywne efekty antagonistów receptora 5-HT₆ stanowiły przedmiot moich badań realizowanych w ramach projektu ProKog (*Antagoniści receptora 5-HT₆: Nowoczesne leki przeciwpsychotyczne o dodatkowym działaniu prokognitywnym*).

W świetle potencjalnej terapeutycznej roli receptora 5-HT₆ w regulacji procesów poznawczych, ciekawy wydaje się fakt, że nie tylko blokada, ale także aktywacja tego receptora może wywoływać efekty prokognitywne. Celem podjętych przeze mnie badań było określenie skuteczności agonisty receptora 5-HT₆, związku EMD 380688, w zwierzęcym modelu schizofrenii. Uzyskane wyniki wskazują, że aktywacja receptora 5-HT₆ przeciwdziała wywołanym ketaminą zaburzeniom pamięci epizodycznej i elastyczności poznawczej.

- **Nikiforuk A.** *The procognitive effects of 5-HT6 receptor ligands in animal models of schizophrenia.* Rev Neurosci. 2014; 25(3):367-82. (IF: 3,314; MNiSW: 25).
- **Nikiforuk A,** Fijał K, Potasiewicz A, Popik P, Kos T. *The 5-hydroxytryptamine (serotonin) receptor 6 agonist EMD 386088 ameliorates ketamine-induced deficits in attentional set shifting and novel object recognition, but not in the prepulse inhibition in rats.* J Psychopharmacol. 2013; 27(5):469-76. (IF: 2,806; MNiSW: 35).

b) Receptor 5-HT7.

W ostatnim czasie również receptor 5-HT7 wzbudza zainteresowanie z uwagi na jego rolę w regulacji procesów uczenia i pamięci. Sugeruje się także, że antagonizm wobec receptora 5-HT7 może odgrywać rolę w behawioralnych efektach takich leków przeciwpsychotycznych, jak amisulpryd czy lurasidon. W swoich badaniach wykazałam skuteczność antagonisty receptorów 5-HT7, związku SB-269970, oraz amisulprydu w odwracaniu indukowanych ketaminą deficytów poznawczych oraz zaburzeń zachowań społecznych.

- **Nikiforuk A,** Kos T, Fijał K, Hołuj M, Rafa D, Popik P. *Effects of the selective 5-HT7 receptor antagonist SB-269970 and amisulpride on ketamine-induced schizophrenia-like deficits in rats.* PLoS One. 2013;8(6):e66695. (IF: 3,534; MNiSW: 40).

c) Strategie oparte o modulacje układu glutamatergicznego.

Strategie farmakologiczne oparte o modulację tonu glutamatergicznego można podzielić na dwie grupy. Jako, że źródłem zaburzeń jest hypofunkcja receptora NMDA, pierwsza strategia polega na nasileniu transmisji glutamatergicznej. Nasilenie funkcji receptora NMDA można uzyskać poprzez zwiększenie stężenia ko-agonisty tego receptora, jakim jest glicyna. Dlatego jednym z przedmiotów naszych badań było określenie prokognitywnej skuteczności strategii opartej o blokadę doneuronalnego wychwytu zwrotnego glicyny poprzez podanie inhibitora transportera glicynowego (GlyT1), związku SSR-504734. Wykazałam, że prokognitywne działanie SSR-504734 było blokowane poprzez antagonistę miejsca glicynowego receptora NMDA, związek L-687,414. Sugeruje to, że zwiększenie poziomu glicyny poprzez blokadę jej wychwytu zwrotnego może nasilać elastyczność poznawczą, a efekt ten jest zależny od miejsca glicynowego na receptorze NMDA. Badania te zastały przeprowadzane we współpracy z firmą Abbott.

- **Nikiforuk A,** Kos T, Rafa D, Behl B, Bepalov A, Popik P. *Blockade of glycine transporter 1 by SSR-504734 promotes cognitive flexibility in glycine/NMDA receptor-dependent manner.* Neuropharmacology. 2011; 61(1-2):262-7. (IF: 4,814; MNiSW: 32).

Druga strategia opiera się na spostrzeżeniu, że konsekwencją blokady receptora NMDA może być potęgowanie transmisji glutamatergicznej. Uwalnianie glutaminianu może być

regulowane poprzez presynaptycznie zlokalizowane glutamatergiczne receptory metabotropowe (mGluR) typu II (2/3). W swoich badaniach wykazałam, że pozytywny allosteryczny modulator mGluR2, związek LY487379, może usprawniać złożone funkcje poznawcze związane z korą przedczołową. Badania te zastały przeprowadzane we współpracy z firmą Abbott.

- **Nikiforuk A**, Popik P, Drescher KU, van Gaalen M, Relo AL, Mezler M; Marek G, Schoemaker H, Gross G, Bespalov A. *Effects of a positive allosteric modulator of group II metabotropic glutamate receptors, LY487379, on cognitive flexibility and impulsive-like responding in rats.* J Pharmacol Exp Ther. 2010; 335(3):665-73. (IF: 4,017; MNiSW: 32).

III. Zjawisko negatywnego kontrastu, jako model frustracji.

Badania, prowadzone przeze mnie w ramach sieci naukowej „Poszukiwanie wewnątrzustrojowych punktów uchwytu potencjalnych leków neurotropowych” miały na celu poszukiwanie racjonalnego modelu do badań leków przeciwdepresyjnych. Alternatywne podejście było oparte o badanie izolowanego objawu choroby, jakim jest zwiększona podatność na rozczarowanie czy frustrację. Frustracja, będąca reakcją organizmu na rozbieżność pomiędzy nagrodą oczekiwaną a uzyskaną, może znajdować odzwierciedlenie w warunkach laboratoryjnych. Zjawiskiem, opierającym się na relatywności nagrody jest tzw. *successive negative contrast*. Pojęcie to jest definiowane jako spadek odpowiedzi zwierząt indukowany niespodziewaną redukcją nagrody poniżej poziomu osiąganego przez grupę kontrolną otrzymującą cały czas nagrodę o jednakowej niższej wartości. Nasze badania prowadzone w modelu instrumentalnym wykazały, że leki przeciwdepresyjne zapobiegają spadkom odpowiedzi wywołanym redukcją nagrody.

- **Nikiforuk A**, Popik P. *Antidepressants alleviate the impact of reinforcer downshift.* Eur Neuropsychopharmacol. 2009; 19(1):41-8. (IF: 3,684; MNiSW: 24).

IV. Przeciwlękowe i przeciwdepresyjne efekty aktywacji receptora 5-HT6.

Badania przedkliniczne wskazują na receptory 5-HT6, jako potencjalny cel farmakoterapii depresji i lęku. Jednakże dotychczasowe dane są niejednoznaczne, gdyż sugerują, że zarówno antagoniści jak i agoniści tego podtypu receptorów mogą wywoływać działanie przeciwlękowe i/lub przeciwdepresyjne. W latach 2005-2006 uczestniczyłam w badaniach prowadzonych w zespole prof. Chojnackiej-Wójcik, których przedmiotem było określenie skuteczności antagonistów receptora 5-HT6. Kontynuując te badania w następnych latach,

wykazałam, że dohipokampalne podania agonisty receptora 5-HT₆, EMD 386088, także wywołują efekty przeciwłękowe i przeciwdepresyjne.

- **Nikiforuk A**, Kos T, Wesołowska A. *The 5-HT₆ receptor agonist EMD 386088 produces antidepressant and anxiolytic effects in rats after intrahippocampal administration.* Psychopharmacology (Berl). 2011; 217(3):411-8. (IF: 4,077; MNiSW: 32).

24.09.2014 Agnieszka Nikiforuk