

ZAŁĄCZNIK 2.

Autoreferat
Kandydata na stopień doktora habilitowanego
Dr JOANNY WIEROŃSKIEJ

Zakład Neurobiologii
Instytut Farmakologii PAN
Kraków

Spis treści:

1. Imię i Nazwisko.....	1
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/ artystyczne – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.....	1
3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/ artystycznych.....	1
4. Wskazanie osiągnięcia.....	2
a) tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego.....	2
b) lista publikacji będących podstawą rozprawy habilitacyjnej.....	2
c) omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac.....	3
Wprowadzenie.....	4
- glutamatergiczna teoria schizofrenii.....	4
-receptory zaangażowane w regulację uwalniania glutaminy.....	7
-ligandy ortosteryczne oraz ligandy allosteryczne.....	9
Cel pracy.....	10
Opis otrzymanych wyników.....	10
-ligandy receptorów mGlu.....	10
-ligandy receptora GABA _B	17
Sugerowany mechanizm działania ligandów receptorów metabotropowych mGlu i GABA _B	19
Podsumowanie.....	20
Literatura uzupełniająca.....	21
5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych (artystycznych).....	24
a) udział w innych pracach badawczych.....	24
b) kierowanie grantami badawczymi).....	25
c) najważniejsze nagrody.....	25
d) wygłoszenie referatów na międzynarodowych i krajowych konferencjach tematycznych.....	26
e) udział w komitetach organizacyjnych międzynarodowych i krajowych konferencji naukowych.....	28
f) udział w komitetach redakcyjnych i radach naukowych czasopism.....	28

1. Imię i Nazwisko.

Joanna Monika Wierońska

e-mail: wierons@if-pan.krakow.pl

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

2.1 Magistra

Data i miejsce uzyskania tytułu magistra:

Uniwersytet Jagielloński, Kraków, Polska, 27 września 1996

Temat rozprawy magisterskiej:

“Mapowanie domeny hemaglutynacyjnej Porphyromonas gingivalis”

Promotor: prof. dr hab. Jan Potempa

2.2 Doktor nauk medycznych

Data i miejsce uzyskania tytułu doktora:

Instytut Farmakologii PAN, Kraków, Polska, 25 listopad 2004

Temat rozprawy doktorskiej:

“Interakcje pomiędzy systemem glutaminianergicznym a neuropeptydem Y i kortykoliberyną w ciele migdałowatym mózgu szczura oraz ich rola w regulacji lęku”.

Promotor: prof. dr hab. Maria Śmiałowska

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

-styczeń 1997 – wrzesień 1999 – pracownik inżynieryjno-techniczny w Zakładzie Farmakologii, Instytut Farmakologii Polska Akademia Nauk, Kraków, Polska, pełny wymiar godzin pracy

– od września 1999-lipeć 2006 – asystent w Zakładzie Neurobiologii, Instytut Farmakologii, Polska Akademia Nauk; pełny wymiar godzin pracy;

-lipiec 2006 do chwili obecnej adiunkt w Zakładzie Neurobiologii, Instytut Farmakologii Polska Akademia Nauk, Kraków, Polska, pełny wymiar godzin pracy

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 7 prac opublikowanych w latach 2009-2014, o łącznym IF= 26.001 dotyczący zagadnienia „Rola III rodziny receptorów metabotropowych w zaburzeniach psychicznych, ze szczególnym uwzględnieniem ich roli w patofizjologii i leczeniu schizofrenii”.

b) lista publikacji będących podstawą rozprawy habilitacyjnej (6 prac oryginalnych+1 przeglądowa) (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa),

1: **Wierońska JM**, Pilc A. Metabotropic glutamate receptors in the tripartite synapse as a target for new psychotropic drugs. *Neurochem Int.* 2009 Jul-Aug;55(1-3):85-97.

2: **Wierońska JM**, Brański P, Siwek A, Dybala M, Nowak G, Pilc A. GABAergic dysfunction in mGlu7 receptor-deficient mice as reflected by decreased levels of glutamic acid decarboxylase 65 and 67kDa and increased reelin proteins in the hippocampus. *Brain Res.* 2010 Jun 2;1334:12-24.

3: **Wierońska JM**, Kusek M, Tokarski K, Wabno J, Froestl W, Pilc A. The GABA B receptor agonist CGP44532 and the positive modulator GS39783 reverse some behavioural changes related to positive syndromes of psychosis in mice. *Br J Pharmacol.* 2011 Jul;163(5):1034-47.

4: **Wierońska JM**, Stachowicz K, Acher F, Lech T, Pilc A. Opposing efficacy of group III mGlu receptor activators, LSP1-2111 and AMN082, in animal models of positive symptoms of schizophrenia. *Psychopharmacology (Berl).* 2012 Apr;220(3):481-94. doi: 10.1007/s00213-011-2502-2.

5: **Wierońska JM**, Sławińska A, Stachowicz K, Łasoń-Tyburkiewicz M, Gruca P, Papp M, Pilc A. The reversal of cognitive, but not negative or positive symptoms of schizophrenia, by

the mGlu_{2/3} receptor agonist, LY379268, is 5-HT_{1A} dependent. *Behav Brain Res.* 2013 a Nov 1;256:298-304.

6: **Wierońska JM**, Acher FC, Sławińska A, Gruca P, Lasoń-Tyburkiewicz M, Papp M, Pilc A. The antipsychotic-like effects of the mGlu group III orthosteric agonist, LSP1-2111, involves 5-HT_{1A} signalling. *Psychopharmacology (Berl)*. 2013 b Jun;227(4):711-25.

7. **Wierońska JM**, Sławińska A, Lasoń-Tyburkiewicz M, Gruca P, Papp M, Zorn S H, Doller D, Kłeczek N, Noworyta-Sokołowska K, Golembiowska K, Pilc A. The antipsychotic-like effects in rodents of the positive allosteric modulator Lu AF21934 involve 5-HT_{1A} receptor signaling: mechanistic studies. *Psychopharmacology*, 2014

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

Prowadzone przeze mnie badania dotyczyły patofizjologii schizofrenii oraz koncentrowały się na poszukiwaniu nowych punktów uchwytu dla leków antypsychotycznych nowej generacji. Tematem przewodnim były receptory związane z białkami G (z ang. *G-protein coupled receptors*, w skrócie GPCR). Są to receptory modulujące aktywność centralnego układu nerwowego i pośredniczą w regulacji tzw. wolnego przekazywania synaptycznego (Pin i Duvoisin, 1995). Ostatnie kilkadziesiąt lat doświadczeń na polu neuropsychofarmakologii wskazuje na to, że w odróżnieniu do receptorów jonotropowych, właśnie ten typ receptorów wydaje się być szczególnie obiecującym celem terapeutycznym (**Wierońska i Pilc, 2009; Bockaert i wsp. 2010**).

W mojej pracy neurofarmakologa zajmuję się wieloma aspektami badań ligandów dla receptorów metabotropowych. Badania te dotyczą roli receptorów w zaburzeniach psychicznych, takich jak depresja, lęk czy też schizofrenia. W mojej pracy habilitacyjnej badałam potencjalne nowe kierunki terapeutyczne w farmakoterapii schizofrenii. Badania dotyczyły dwóch największych układów neurotransmisyjnych w mózgu, z których jeden jest układem hamującym, a drugi pobudzającym. Mowa o układach: GABAergicznym oraz glutamatergicznym. Obydwa te układy występują w stanie wzajemnej równowagi fizjologicznej zapewniając homeostazę ośrodkowego układu nerwowego i tym samym stabilizując prawidłowe funkcjonowanie mózgu. Zaburzenia w tej równowadze prowadzą do szeregu schorzeń układu nerwowego, w tym schizofrenii. Przywrócenie tej zaburzonej

równowagi za pomocą narzędzi farmakologicznych może w rezultacie ustabilizować pracę mózgu dając efekt terapeutyczny (**Wierońska i Pilc. 2009**; Linden i Schoepp, 2006).

Receptory dla kwasu glutaminowego stanowią bardzo liczną rodzinę receptorów. Składa się na nią grupa trzech podtypów receptorów jonotropowych (NMDA, AMPA, KA), oraz 8 podtypów receptorów metabotropowych (mGlu), wraz z ich wariantami powstałymi na drodze alternatywnego składania (Pin i Duvoisin, 1995; **Wierońska i Pilc. 2009**). Jeżeli chodzi o receptory dla kwasu γ -aminomasłowego, to grupa ta jest reprezentowana przez zdecydowanie mniejszą liczbę receptorów. Oprócz dwóch podtypów receptorów jonotropowych (GABA_A i GABA_C), aktywność układu GABAergicznego może być modulowana za pośrednictwem jednego typu receptora związanego z białkiem G, receptora GABA_B (Xu i wsp. 2014).

Zarówno receptory mGlu, jak i GABA_B są silnie zaangażowane w regulację uwalniania glutaminianu (jako auto- i heteroreceptory, odpowiednio), dlatego też ich stymulacja, poprzez hamowanie uwalniania glutaminianu może doprowadzić do normalizacji pracy układu nerwowego. W mojej pracy eksperymentalnej przebadalam szereg związków aktywujących receptory metabotropowe, zarówno pozytywne modulatory allosteryczne, jak i ligandy ortosteryczne. Przebadalam też mechanizmy, które mogą leżeć u podstaw działania tych ligandów. Skupiłam się głównie na zaangażowaniu układu serotonergicznego w mechanizmie działania ligandów mGlu.

Wprowadzenie

- glutamatergiczna teoria schizofrenii

Schizofrenia to jedno z cięższych zaburzeń psychicznych. Pierwsze objawy choroby pojawiają się zwykle w młodym wieku, około 20-35 roku życia, dlatego też zaburzenie to zwykle określa się chorobą ludzi młodych. Schizofrenię diagnozuje się u ok. 1 procenta populacji. Choroba często prowadzi do wykluczenia pacjenta z normalnego funkcjonowania w społeczeństwie, zarówno na gruncie zawodowym, jak i prywatnym. W obrazie klinicznym schizofrenii wyróżnia się cały szereg różnego typu zaburzeń, które podzielone są na trzy grupy: symptomy pozytywne, negatywne oraz poznawcze (Ormel i wsp. 2005; Rössler i wsp. 2005). Oczywiście, u chorych proporcje ekspresji poszczególnych objawów mogą się różnić, dlatego też u niektórych schizofreników dominują objawy negatywne, a u innych pozytywne. Co istotne, terapia schizofrenii musi być oparta o leczenie farmakologiczne, gdyż w

odróżnieniu od innych schorzeń jak chociażby depresja czy lęk, psychoterapia jest nieskuteczna.

Obecnie stosowana farmakoterapia schizofrenii oparta jest o dopaminergiczną teorię schizofrenii, która była dominującą hipotezą przez lata. Hipoteza ta została wysnuta na bazie obserwacji, że związki aktywujące układ dopaminowy, takie jak amfetamina, wywołują halucynacje u ludzi (Haracz, 1982). W związku z tym zaproponowano, iż blokada receptorów dopaminowych może przynieść efekt terapeutyczny u chorych na schizofrenię. Pierwsze zsyntetyzowane związki, takie jak chlorpromazyna czy haloperidol, rzeczywiście okazały się skuteczne jeżeli chodzi o leczenie pozytywnych objawów schizofrenii, głównie deluzji i halucynacji (Munch-Petersen i wsp. 1955). Ich skuteczność w leczeniu zaburzeń negatywnych i poznawczych okazała się zerowa, co więcej, długotrwałe przyjmowanie haloperidolu skutkowało często nasileniem się stanów depresyjnych, które występują u ponad 80% schizofreników, i są jednymi z ważniejszych symptomów negatywnych. Chroniczna blokada receptorów D₂ skutkuje ponadto indukcją szeregu efektów niepożądanych, wśród których do najpoważniejszych zalicza się parkinsonowski zespół poneuroleptyczny, suchość w jamie ustnej, zaburzenia akomodacji, nadmierna senność, zaburzenia czynności wątroby, zaburzenia funkcji seksualnych. Wszystko to może prowadzić do zarzucenia stosowania leków przez pacjentów (Schwartz and Brotman, 1992).

Przełomem w leczeniu schizofrenii było zsyntetyzowanie związków, których mechanizm działania, oprócz blokady receptorów D₂, oparty był także o blokowanie lub aktywację innego typu receptorów. Były to tak zwane neuroleptyki atypowe, zwane też lekami przeciwpsychotycznymi II generacji. Powinowactwo neuroleptyków atypowych do receptorów D₂ było znacznie mniejsze niż neuroleptyków typowych, dodatkowo ich mechanizm działania został oparty o blokadę/stymulację receptorów 5-HT_{2A}, 5-HT_{1A}, histaminowych, cholinergicznym czy też muskarynowych. Związki te wykazywały i wykazują lepszą skuteczność, jeżeli chodzi o odwracanie symptomów negatywnych i kognitywnych schizofrenii, jednakże skuteczność ta wciąż jest niesatysfakcjonująca. Ponadto konieczne jest długoterminowe podawanie związków, co z kolei wiąże się z wystąpieniem niepożądanych efektów ubocznych, które nie są tak poważne jak w przypadku neuroleptyków I generacji, jednakże wciąż uciążliwe. Do najczęściej występujących efektów niepożądanych należą: wzrost poziomu prolaktyny, zwiększenie masy ciała, zaburzenia libido (de Maio, 1972).

Tak więc ograniczenia obecnie stosowanej farmakoterapii schizofrenii to przede wszystkim: brak skuteczności, lub niewystarczająca skuteczność, w kierunku zaburzeń negatywnych i

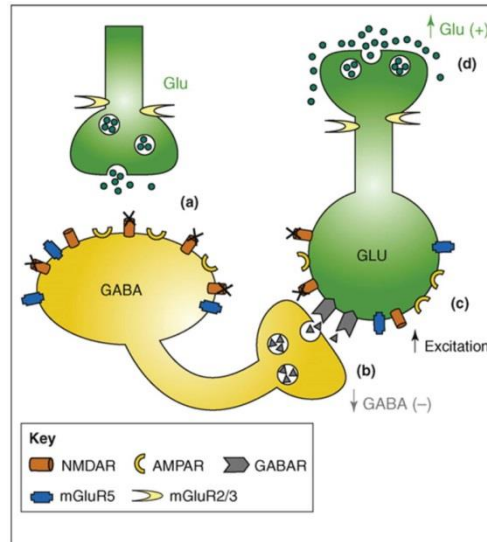
kognitywnych schizofrenii. Warto nadmienić, że to właśnie ta grupa zaburzeń w głównej mierze odpowiada za nieprzystosowanie chorych do życia w społeczeństwie, jest przyczyną utraty pracy, złego wypełniania obowiązków rodzinnych, i w konsekwencji może prowadzić do prób samobójczych i/lub izolacji od społeczeństwa. Z drugiej strony konieczność długotrwałego przyjmowania leków, oraz występowanie awersyjnych efektów niepożądanych, prowadzi do zaprzestania zażywania leków przez pacjenta.

Biorąc więc pod uwagę powyższe fakty, poszukiwanie nowych leków neuroleptycznych wydaje się koniecznością. Ze względu na ogrom obecnie stosowanych preparatów, których jest co najmniej kilkadziesiąt, można mieć pewność, że mechanizm działania leków neuroleptycznych oparty w głównej mierze o blokadę receptorów D₂, nie jest mechanizmem optymalnym. Dlatego też poszukiwanie nowych rozwiązań jest jak najbardziej konieczne.

Przełomem w badaniach nad schizofrenią było sformułowanie glutamatergicznej teorii schizofrenii. Hipoteza ta została oparta na obserwacjach, że antagoniści receptora NMDA (fencyklidyna), w odróżnieniu od dopaminomimetyków, wywołują pełne spektrum zaburzeń schizofrenicznych, czyli zarówno zaburzenia pozytywne, negatywne, jak i poznawcze (Javitt, 1987; Sherman i wsp. 1991).

Według hipotezy zaproponowanej przez Conn i wsp. (2009) (Ryc. 1) (a) w normalnych warunkach fizjologicznych aktywacja receptora NMDA zlokalizowanego na GABAergicznym neuronach projekcyjnych (żółte) w strukturach podkorowych, takich jak jądro półleżące, stanowi hamującą kontrolę dla neuronów glutamatergicznych podwzgórzowo-korowych (pokazane na zielono), które unerwiają neurony piramidowe kory przedczołowej. (b) Hypofunkcja lub też blokada tych receptorów osłabia pobudzające działanie glutaminianu na neuron GABAergiczny. (c) W rezultacie prowadzi to do obniżonej aktywności komórek GABAergicznych, odhamowania aktywności neuronów piramidowych podwzgórzowo-korowych (d) To z kolei prowadzi do wzrostu aktywności neuronów glutamatergicznych unerwiających korę przedczołową (Conn i wsp. 2009).

Według tej teorii efektywne leki przeciwpsychotyczne powinny przede wszystkim zapobiegać nadmiernemu uwalnianiu glutaminianu w korze, ewentualnie wzmocnić pobudzenie neuronów hamujących.



Ryc. 1 Mechanizm leżący u podłoża glutamatergicznej teorii schizofrenii, wg Conn i wsp. 2009.

-receptory zaangażowane w regulację uwalniania glutaminianu.

Spośród szeregu różnych receptorów zaangażowanych w uwalnianie glutaminianu, na szczególną uwagę zasługują receptory metabotropowe dla glutaminianu, oraz metabotropowe receptory GABAergiczne GABA_B.

Rodzina metabotropowych receptorów dla glutaminianu to 8 typów receptorów, podzielonych na trzy grupy w zależności od homologii sekwencji, farmakologii oraz szlaku przekazywania sygnału wewnątrzkomórkowego. Do pierwszej grupy zaliczamy receptory mGlu₁ i mGlu₅, do drugiej mGlu₂ i mGlu₃, a do trzeciej mGlu₄, mGlu₆, mGlu₇ i mGlu₈ (Pin i Duvoisin, 1995; **Wieronska i Pilc, 2009**). Receptory należące do pierwszej grupy są dodatnio sprzężone z fosfolipazą C, są zlokalizowane postsynaptycznie i z reguły są sprzężone z receptorem jonotropowym NMDA, poprzez białka Shank i białka Homer. Dotyczy to przede wszystkim receptorów mGlu₅ (Alagarsamy i wsp. 1999 a, b). Natomiast receptory grupy II i III to receptory ujemnie związane z aktywacją cykazy adenylanowej i są zlokalizowane głównie presynaptycznie. Receptory mGlu_{2/3} zlokalizowane są zwykle w pewnej odległości od centrum synapsy, często w obszarze perisynaptycznym lub nawet na rozgałęzieniach aksonów, natomiast receptory mGlu_{4/7/8} są zlokalizowane w centrum synapsy, w miejscu fuzji pęcherzyków synaptycznych z błoną komórkową. Tak więc receptory mGlu_{1/5} to receptory pośredniczące przede wszystkim w pobudzaniu aktywności neuronów na drodze tzw. wolnej transmisji synaptycznej, natomiast receptory mGlu_{2/3} oraz mGlu_{4/7/8} to receptory zaangażowane również w regulację uwalniania glutaminianu (bądź też innych neurotransmiterów) (Pin i Duvoisin, 1995; Cartmell i Schoepp, 2000).

Innym typem receptora regulującego uwalnianie glutaminianu jest receptor $GABA_B$. Ten typ receptora jest również receptorem zlokalizowanym presynaptycznie, głównie na zakończeniach glutamatergicznych, jak również na zakończeniach innych typów neuronów. Zarówno receptory glutamatergiczne, jak i receptor $GABA_B$ należą do trzeciej rodziny receptorów związanych z białkami G. Najbardziej charakterystycznymi cechami tej grupy są (Parmentier i wsp. 2002):

- a) obecność bardzo długiego (liczącego 500–600 aminokwasów) zewnątrzkomórkowego końca aminowego, w obrębie którego znajdują się dwie globularne domeny tworzące strukturę „zawiasu” (ang. *hinge region*), będącą prawdopodobnie miejscem wiązania glutaminianu,
- b) obecność miejsca wiążącego podjednostkę α białka G zlokalizowanego w obrębie drugiej i trzeciej pętli wewnątrzkomórkowej,
- c) obecność długiego (liczącego ponad 350 aminokwasów) końca karboksylowego posiadającego miejsca wiążące kinazy białkowe, związane z regulacją sygnału wewnątrzkomórkowego i zakotwiczeniem receptora w błonie komórkowej,
- d) tworzenie funkcjonalnych dimerów

Receptory metabotropowe tworzą tzw. homodimery (Kammermeier i Yun, 2005). To znaczy dwie takie same jednostki receptora razem połączone tworzą funkcjonalny receptor, przy czym oba miejsca wiążące glutaminian muszą być zaktywowane (Kammermeier i Yun, 2005). Inna jest sprawa w przypadku receptora $GABA_B$. Funkcjonalny receptor jest heterodimerem, zbudowanym z podjednostek $GABA_{B1}$ i $GABA_{B2}$. Podjednostka $GABA_{B1}$ występuje w 5 wariantach powstałych na drodze alternatywnego składania i jest to podjednostka, do której wiąże się endogenny ligand. Z kolei podjednostka $GABA_{B2}$ jest podjednostką nie posiadającą miejsca wiążącego ligand, natomiast jest to podjednostka odpowiedzialna za aktywację białek G (Xu i wsp. 2014).

Zarówno receptory mGlu, jak i receptor $GABA_B$ posiadają co najmniej dwa miejsca wiązania ligandu. Jedno z nich to miejsce w domenie zewnątrzkomórkowej, gdzie wiąże się endogenny ligand. Jest to tzw. miejsce ortosteryczne, i związki które konkurują z endogennym agonistą o to miejsce to ortosteryczni agoniści, natomiast związki, które uniemożliwiają endogennemu agoniście przyłączenie się do tego miejsca, to ortosteryczni antagoniści.

Alternatywnym miejscem wiążącym jest miejsce zlokalizowane wewnątrz domeny śródbłonowej, tzw. allosteryczne miejsce wiążące ligand. Wiążące się tu związki mogą wzmacniać (tzw. pozytywne allosteryczne modulatory), lub osłabiać (tzw. negatywne allosteryczne modulatory) powinowactwo endogennego liganda do jego miejsca wiążącego.

Tak więc są generalnie 4 sposoby, pozwalające na regulacje aktywności receptora: a) zastosowanie ortosterycznego agonisty, b) zastosowanie ortosterycznego antagonisty, c) zastosowanie allosterycznego modulatora pozytywnego (PAM), oraz d) zastosowanie negatywnego allosterycznego modulatora (NAM). Wszystko to daje olbrzymie możliwości terapeutyczne. Poniżej krótka charakterystyka ligandów ortosterycznych oraz ligandów allosterycznych.

-ligandy ortosteryczne oraz ligandy allosteryczne:

Istnieje kilka podstawowych różnic pomiędzy tymi dwoma rodzajami ligandów dla receptorów, z których to też wynikają pewne plusy i minusy jeżeli chodzi o możliwości terapeutyczne (Bockaert i Pin, 1999; Cartmell i Schoepp, 2000).

Jak zostało wyżej wspomniane, ligandy ortosteryczne to te, które wiążą się w miejscu wiązania endogennego liganda, czyli w praktyce do zewnątrzkomórkowego końca aminowego. Są to więc z reguły związki o strukturze chemicznej podobnej do struktury endogennego liganda. Wiązanie ligandów ortosterycznych do receptora jest niezależne od poziomu endogennego liganda. Analogi endogennego liganda po połączeniu z receptorem wywołują zmiany konformacyjne w domenie śródbłonowej, podobnie jak endogenny aktywator, wpływając na aktywność wtórnych przekaźników. Odpowiedź farmakologiczna, która następuje po aktywacji bądź zahamowaniu receptora może być rozważana w systemie 0-1 i jest zwykle dawko-zależna. Często zastosowanie ligandów ortosterycznych może się wiązać z ryzykiem przedawkowania, ze względu na to, że istnieje wąskie okno terapeutyczne pomiędzy dawkami terapeutycznymi a dawkami toksycznymi (Bockaert i Pin, 1999; Cartmell i Schoepp, 2000).

Ligandy allosteryczne, w odróżnieniu do ligandów ortosterycznych, uważa się obecnie za korzystniejsze z punktu widzenia terapeutycznego. Powodów tego założenia jest kilka, między innymi:

- a) wiązanie do miejsca zlokalizowanego w domenie śródbłonowej, niezależnego od miejsca wiązania ligandu. Aktywacja tego miejsca nie prowadzi do aktywacji białek G, ale do zmiany powinowactwa naturalnego ligandu do jego miejsca wiążącego. Dopiero w wyniku przyłączenia liganda endogennego dochodzi do zmiany konformacyjnej receptora i aktywacji białek G
- b) ligandy allosteryczne są zwykle bardziej lipofilne, w związku z tym są to zwykle substancje lepiej przenikające przez barierę krew-mózg

- c) ligandy allosteryczne wykazują zwykle większą specyficzność w stosunku do konkretnego podtypu receptora, ze względu na dużą konserwatywność allosterycznego miejsca wiązania
- d) ze względu na charakter w jaki modyfikują aktywność receptora, możliwość przedawkowania jest mniejsza, niż w przypadku ligandów ortosterycznych.

Cel pracy

W moich badaniach skupiłam się na roli i zaangażowaniu receptorów metabotropowych dla glutaminianu i receptora GABA_B w schizofrenii. Moje badania były częściowo przeprowadzane na myszach z usuniętym genem kodującym receptor mGlu₇. Sprawdzałam potencjalną aktywność antypsychotyczną nowych allo- i ortosterycznych ligandów dla receptorów metabotropowych glutamatergicznych oraz receptora GABA_B. Badałam też mechanizmy zaangażowane w przeciwnopsychotyczną aktywność tychże ligandów. Poniżej przedstawiam dokładny opis przeprowadzonych przeze mnie badań.

Omówienie otrzymanych wyników

Na początku chciałbym napisać kilka zdań opisujących modele schizofrenii, które były wykorzystywane w moich doświadczeniach. Nadpobudliwość indukowana przez MK-801 lub amfetaminę, i indukowane DOI potrząśnięcia głową zastosowano jako modele objawów pozytywnych schizofrenii. Indukowane podaniem MK-801 zaburzenia interakcji społecznych, liczone jako zmniejszenie ilości i czasu trwania epizodów socjalnych pomiędzy dwoma szczurami, liczone w czasie 8 minut w wolnym polu, zastosowano jako model objawów negatywnych. Natomiast test rozpoznawania nowego przedmiotu oraz test przestrzennego wyboru opóźnionego zastosowano jako modele zaburzeń poznawczych. W pierwszym z testów, z dwóch prezentowanych obiektów zwierzęta zwykle rozpoznają nowy obiekt, jeśli zastąpimy nim obiekt znany (dłuższy czas eksploracji nowego obiektu). Podanie MK-801 zaburza to rozpoznanie, tzn. oba obiekty ("stary" i "nowy") są rozpoznawane jednakowo. W drugim teście, zwierzęta są trenowane do wykonywania odpowiednich wyborów w teście T, w celu uzyskania nagrody (co najmniej 7 poprawnych odpowiedzi na 10 prób w dwóch kolejnych sesjach dziennych). Podanie MK-801 zaburza poprawne dokonywanie wyborów.

-ligandy receptorów mGlu

Aktywność antypsychotyczna ligandów dla receptorów metabotropowych została opisana pierwszy raz w drugiej połowie lat 90. Ukazało się wtedy kilka publikacji autorstwa Moghaddam i Adams (1998), czy też Cartmell i wsp (2000), w których wykazano

antypsychotyczną aktywność ligandów receptorów II grupy w badaniach na zwierzętach. Prace te dotyczyły głównie ortosterycznych agonistów tych receptorów, związków LY354740 oraz LY379268. Aktywność związków została pokazana głównie w modelach zaburzeń pozytywnych schizofrenii, takich jak stymulowana fencyklidyną aktywność lokomotoryczna, czy też zachowania stereotypowe. Dalsze prace potwierdziły aktywność tych i innych związków (LY404039) w zwierzęcych modelach schizofrenii (Rorick-Kehn i wsp. 2007; Wooley i wsp. 2007). Pokazały się też prace dotyczące potencjalnego działania antypsychotycznego allosterycznych modulatorów receptora mGlu₂, takich jak CBiPES, BINA, 4-MPPTS, 4-APPES czy też LY487273 (Galici i wsp. 2005, 2006; Johnson i wsp. 2005). Ligandy receptorów mGlu_{2/3} zostały przebadane u ludzi w kilku próbach klinicznych. Początkowe wyniki były zachęcające, gdyż okazało się, że terapia przy użyciu LY2140023 (pochodna LY404039, agonisty mGlu_{2/3}), była bezpieczna i dobrze tolerowana. Obserwowano znamienne poprawę stanu chorych w kontekście zaburzeń pozytywnych i negatywnych w porównaniu z placebo ($P < 0.001$ po czterech tygodniach przyjmowania). Ponadto nie obserwowano wzrostu poziomu prolaktyny, efektów niepożądanych ze strony układu pozapiramidowego, jak również wzrostu wagi ciała (Patil i wsp. 2007). Późniejsze badania osłabiły jednakże początkowy entuzjazm, jako, że statystyczne analizy nie wykazały istotnego wpływu terapeutycznego żadnej z 4 zastosowanych dawek LY2140023. Jednakże w tych próbach klinicznych olanzapina, zastosowana jako pozytywna kontrola, również nie wywierała większego efektu niż placebo (Kinon i wsp. 2011). Jednakże ostatnie badania grupy Addex wykazały, że kolejny agonista receptorów mGlu₂, ADX1149, wykazywał aktywność w próbach klinicznych, przywracając grupę ligandów mGlu_{2/3} do łask. Dalsze badania w tym obszarze są więc uzasadnione.

Ja w moich badaniach uzupełniłam wiedzę dotyczącą aktywności agonistów mGlu_{2/3} w testach na zwierzętach. Większość z prac, jak już zostało wspomniane wcześniej, dotyczy aktywności związków w modelach objawów pozytywnych schizofrenii, jednakże w kilku pracach wykazano aktywność związków w modelach zaburzeń poznawczych. Okrojona natomiast jest wiedza dotycząca aktywności związków w modelach zaburzeń negatywnych. W moich badaniach wykazałam, że ortosteryczny agonista receptorów mGlu_{2/3}, związek LY379268 jest aktywny w modelu interakcji socjalnych (**Wierońska i wsp. 2013 a**). Potwierdziłam także, że związek jest aktywny w modelu zaburzeń kognitywnych, w teście rozpoznawania nowego obiektu. Tak więc wyniki moje, w świetle wyników uzyskanych przez innych badaczy wskazują na to, że związki aktywujące drugą grupę receptorów mogą być skuteczne w odwracaniu nie tylko zaburzeń pozytywnych, ale także negatywnych i

poznawczych schizofrenii (**Wierońska i wsp. 2013 a**). Jest to ich szczególną zaletą, jako że te dwie grupy zaburzeń są dość odporne na obecną farmakoterapię.

Mało jest badań dotyczących mechanizmów działania ligandów receptorów mGlu_{2/3}. Z dostępnych prac wynika, że działanie to jest zależne od receptorów 5-HT_{2A}. Łączne podanie agonistów receptorów mGlu_{2/3}/5-HT_{2A} wywierało efekt przeciwpsychotyczny w odniesieniu do zaburzeń pozytywnych (indukowany podaniem amfetaminy lub też MK-801 wzrost aktywności lokomotorycznej, oraz wzrost uwalniania dopaminy po podaniu MK-801) (Uslaner i wsp. 2009).

Jako, że receptory serotonergiczne odgrywają ważną rolę w działaniu neuroleptyków atypowych, w moich badaniach postanowiłam zająć się rolą receptora 5-HT_{1A} w mechanizmie działania ligandów receptorów metabotropowych. Wybrałam ten receptor z kilku ważnych powodów:

- wzrost poziomu receptorów 5-HT_{1A} obserwowano w korze przedczołowej i hipokampie u pacjentów schizofrenicznych (Burnet i wsp. 1996)

- niektóre z neuroleptyków atypowych (clozapina, perospiron, lurasidon, ziprasidon) wykazują częściowe działanie agonistyczne w stosunku do receptorów 5-HT_{1A} (Ichikawa i wsp. 2002; Hagiwara i wsp. 2008)

- agoniści tych receptorów np. (R)-(+)-8-OH-DPAT, w niskich dawkach wykazywali działanie antypsychotyczne w teście bramkowania sensorymotorycznego, hyperlokomocji indukowanej MK-801 (Bubenikowa-Valesova i wsp. 2007), i w teście interakcji socjalnych (Boulay i wsp. 2004)

- liczne badania wskazują na szczególną rolę tych receptorów w modelach zaburzeń poznawczych (Horiguchi i wsp. 2012 a, b)

Istnieją dwie pule receptorów 5-HT_{1A}: somatodendrytyczne autoreceptory zlokalizowane na neuronach serotonergicznych w jądrze szwu, które kontrolują „firing” tych neuronów (Blier i wsp. 1998). Ich aktywacja powoduje zahamowanie uwalniania serotoniny w strukturach docelowych (Sharp i wsp. 1989). Druga pula receptorów 5-HT_{1A} to receptory zlokalizowane na piramidowych neuronach w korze i innych strukturach mózgu, na początkowych fragmentach aksonów neuronów piramidowych (biorą udział w hamowaniu uwalniania glutaminianu) lub też na ciałach neuronów piramidowych (peryferyjne obszary błony komórki oraz w cytoplazmie). Są to tak zwane receptory postsynaptyczne.

Przyjmuje się, że niskie dawki ligandów receptorów 5-HT_{1A} preferencyjnie wiążą się do receptorów presynaptycznych w jądrze szwu (Larsson i wsp. 1990; Allen i wsp. 1997). W

moich badaniach zastosowałam więc takie dawki związków, aby preferencyjnie hamować, bądź też aktywować autoreceptory 5-HT_{1A}.

Zastosowałam dwa ligandy receptora 5-HT_{1A}: antagonistę WAY100635 oraz agonistę (R)-(+)-8-OH-DPAT. Oba związki zostały podane w niskich dawkach, preferencyjnie blokujących presynaptyczne receptory 5-HT_{1A}. WAY100635 podano w dawce 0.1 mg/kg, natomiast (R)-(+)-8-OH-DPAT w dawce 0.01 mg/kg. W wyższych dawkach WAY100635 wykazywał działanie antypsychotyczne (dawki 1 mg/kg i powyżej), natomiast (R)-(+)-8-OH-DPAT indukował tak zwany syndrom serotonergiczny. Zostało to wykazane zarówno w moich badaniach, jak i w badaniach innych autorów (**Wierońska i wsp. 2013 a, b**; Wedzony i wsp. 2000). W moich badaniach zastosowałam kilka modeli zaburzeń schizofrenicznych, modelujących pozytywne, negatywne i kognitywne objawy schizofrenii. Wykazałam, że działanie agonisty receptorów mGlu_{2/3}, związku LY379268, w modelach zaburzeń pozytywnych i negatywnych, nie jest zależne od receptorów 5-HT_{1A} (**Wierońska i wsp. 2013 a**), jako że działanie dawek efektywnych nie było blokowane podaniem antagonisty receptorów 5-HT_{1A}, WAY100635. WAY100635 jednakże antagonizował efekt LY379268 w teście rozpoznawania nowego obiektu, co by wskazywało na istotną rolę tego receptora w mechanizmie działania LY379268, w modelach zaburzeń poznawczych. Co więcej, łączne podanie niedziałających dawek (R)-(+)-8-OH-DPAT i LY379268 wykazywało efekt antypsychotyczny odwracając deficyty wywołane podaniem MK-801 (**Wierońska i wsp. 2013 a**).

Ligandy receptorów II grupy mGlu były pierwszymi, które z dużej grupy ligandów dla metabotropowych receptorów glutamatergicznych zostały zbadane pod kątem działania przeciwpsychotycznego. Dopiero kilka lat po opublikowaniu pierwszych prac dotyczących przeciwpsychotycznej aktywności ligandów receptorów mGlu_{2/3}, pojawiły się pierwsze doniesienia na temat antypsychotycznej aktywności ligandów I grupy receptorów mGlu, dotyczące głównie pozytywnych allosterycznych modulatorów receptora mGlu₅. Pierwsza z prac ukazała się w roku 2008, wskazując że podanie CDPPB (mGlu₅ PAM) zapobiegało indukowanemu przez MK-801 pobudzeniu neuronów w korze czołowej (Lecourtier i wsp. 2008). Późniejsze prace behawioralne potwierdziły skuteczność związku CDPPB w modelach schizofrenii, między innymi w bramkowaniu sensorymotorycznym, aktywności lokomotorycznej, modelu anhedonii czy też w teście rozpoznawania nowego obiektu (Horio i wsp. 2013; Stefani i wsp. 2010; Vardigan i wsp. 2010). Wykazano też aktywność innych pozytywnych modulatorów allosterycznych mGlu₅, jak chociażby związku ADX47273 (Liu i wsp. 2008; Schlumberger i wsp. 2009). W moich badaniach wykazałam, że CDPPB wykazuje

efektywność również w modelach zaburzeń negatywnych, takich jak test interakcji socjalnych lub test zmodyfikowanego pływania, jednakże badania te są jeszcze nie opublikowane (praca została wysłana do recenzji).

Jeszcze kilka lat temu najmniej przebadaną grupą receptorów metabotropowych była III grupa tych receptorów. Jest to największa grupa receptorów mGlu, w skład której zalicza się 4 podtypy: mGlu_{4/6/7/8}. mGlu₆ jest zlokalizowany praktycznie tylko w siatkówce oka, natomiast pozostałe 3 podtypy są zlokalizowane w różnych strukturach w obrębie centralnego układu nerwowego (Pin i Duvoisin, 1995; Cartmell i Schoepp, 2000). Jak wspomniałam wyżej, są to receptory szczególnie zaangażowane w regulację uwalniania glutaminianu i innych neurotransmiterów. Dlatego też stanowią one ważny potencjalny punkt uchwytu do poszukiwania nowych leków psychotropowych. Pierwszą pracą, która się ukazała i w której opisano potencjalny przeciwpsychotyczny efekt ligandów receptorów mGlu grupy III, była praca dotycząca związku ACPT-1 (Palucha-Poniewiera i wsp. 2008). Zastosowany w tych badaniach ligand był aktywny w teście hiperaktywności i wstrząśnięć głową indukowanych DOI. Jest on nieselektywnym ortosterycznym agonistą receptorów grupy III, tak więc nie było wiadomo, który z podtypów receptorów był odpowiedzialny za obserwowany efekt. Po ukazaniu się tej publikacji, ostatnich kilka lat poświęciłam na szczegółowe przebadanie roli III grupy receptorów metabotropowych w rozwój i terapię schizofrenii. W jednej z pierwszych prac przeanalizowałam wpływ braku receptora mGlu₇ na ekspresję niektórych enzymów i receptorów o udokumentowanym znaczeniu w schizofrenii (**Wierońska i wsp. 2010**). Badania przeprowadziłam na myszach z usuniętym genem kodującym receptor mGlu₇, tzw. myszach knockout. Za pomocą takich metod, jak immunohistochemia, western blot, hybrydyzacja in situ oraz wiązanie radioligandu sprawdzałam ekspresję enzymów pośredniczących w syntezie GABA, czyli GAD65 i GAD67, poziom białka matrix zewnątrzkomórkowego reelinu oraz ekspresję receptorów GABA_B (**Wierońska i wsp. 2010**). Zaobserwowałam spadek poziomu enzymów odpowiedzialnych za syntezę GABA, czyli obu białek GAD65 i GAD67, jak również spadek ekspresji receptorów GABA_B. Widoczny był natomiast wzrost ekspresji białka reelinu (**Wierońska i wsp. 2010**). Jako, że u pacjentów ze zdiagnozowaną schizofrenią obserwuje się spadek poziomów enzymów GAD w mózgu, sugerowałoby to, że receptor mGlu₇ może być zaangażowany w patofizjologię schizofrenii. Dalsze badania behawioralne, które wykonałam, wykluczyły możliwość zastosowania pozytywnych allosterycznych modulatorów receptora mGlu₇ jako potencjalnego leku antypsychotycznego. Jedyne dostępne selektywne związki aktywujące ten receptor, AMN082, nie wykazały aktywności antypsychotycznej w żadnym z zastosowanych przeze

mnie testów (**Wierońska i wsp. 2012**). Co więcej, najwyższa dawka związku (6 mg/kg) nasilała efekty wywołane przez psychostymulanty, takie jak hyperaktywność po MK-801, czy też indukowane DOI wstrząśnięcia głową. Receptorowe działanie związku potwierdziłam na myszach z usuniętym genem kodującym receptor mGlu₇ (**Wierońska i wsp. 2012**).

Po wykluczeniu roli receptora mGlu₇ w poszukiwaniu potencjalnych leków antypsychotycznych, zajęłam się innym typem receptora, a mianowicie receptorem mGlu₄. Zastosowałam bardziej selektywne ligandy receptora mGlu₄, wiążące się zarówno do miejsca orto-, jak i allosterycznego. Pierwszym z nich był związek LSP1-2111. Jest to agonista ortosteryczny, pochodna ACPT-1, ale w odróżnieniu do pierwowzoru charakteryzuje się zdecydowanie większym (ok. 30 razy) powinowactwem do receptorów mGlu₄, niż do innych receptorów grupy trzeciej (Beurrier i wsp. 2009). W związku z tym uważa się, że w niskich dawkach substancja preferencyjnie blokuje receptory mGlu₄. W moich badaniach wykazałam, że związek jest aktywny w modelach zaburzeń pozytywnych schizofrenii, takich jak hyperaktywność i indukowane DOI wstrząśnięcia głową (**Wieronska i wsp. 2012**). Aktywność związku była blokowana przez nieselektywnego antagonistę receptorów metabotropowych, LY341495. Jest to związek nieselektywny, wiążący się do wszystkich podtypów receptorów z różnym powinowactwem (Kingston i wsp. 1998). W trzech testach (hyperaktywność po MK-801 lub amfetaminie, wstrząśnięcia głową indukowane DOI) wykazałam, że aktywność LSP1-2111 była blokowana podaniem LY341495 (**Wierońska i wsp. 2012**). Wynik ten potwierdza, że aktywność LSP1-2111 jest zależna od stymulacji receptorów mGlu, ale nie wskazuje na konkretny podtyp receptora (**Wieronska i wsp. 2012**). Pierwsze pozytywne wyniki po zastosowaniu związku LSP1-2111 w testach modulujących pozytywne objawy schizofrenii zachęciły mnie do sprawdzenia aktywności związku w testach modulujących objawy negatywne i poznawcze. Zastosowałam dwa testy, a mianowicie test interakcji socjalnych oraz test rozpoznawania nowego obiektu. W teście interakcji socjalnych LSP1-2111 dawko-zależnie odwracał indukowane MK-801 deficyty zarówno w czasie trwania interakcji, jak i liczbie interakcji. W zakresie dawek 0.5 do 5 mg/kg, działanie związku obserwowano od dawki 2 mg/kg. Z kolei w teście rozpoznawania nowego obiektu dawką działającą była dawka 5 mg/kg (**Wierońska i wsp. 2013 b**).

Jako, że podjęłam w mojej pracy wątek roli receptorów 5-HT_{1A} w mechanizmie działania ligandów receptorów mGlu, postanowiłam zatem sprawdzić, czy receptory te są zaangażowane w przeciwpsychotyczne efekty obserwowane po podaniu LSP1-2111. Zastosowałam podobny schemat eksperymentalny, jak w przypadku opisywanego już przeze mnie związku LY379268 (**Wierońska i wsp. 2013 a**). Do zablokowania efektu

antypsychotycznego obserwowanego po podaniu działających dawek LSP1-2111 zastosowałam antagonistę 5-HT_{1A}, WAY100635, w dawce 0.1 mg/kg. We wszystkich testach tzn. w modelu zaburzeń pozytywnych (hyperaktywność, indukowane DOI wstrząśnięcia głową), w modelu zaburzeń negatywnych (interakcje socjalne) oraz w modelu zaburzeń poznawczych (rozpoznawanie nowego obiektu) WAY100635 hamował efekty obserwowane po podaniach LSP1-2111 (**Wierońska i wsp. 2013 b**). W związku z tym, w drugim etapie badań zastosowałam łączne podania podprogowych dawek agonisty receptorów 5-HT_{1A}, (R)-(+)-8-OH-DPAT, w niskiej dawce preferencyjnie aktywującej receptory 5-HT_{1A} zlokalizowane presynaptyczne, oraz LSP1-2111. Wykazałam, że łączne podania tychże ligandów wykazują pełne spektrum działania antypsychotycznego, odwracając wywołane MK-801 zaburzenia w modelach symptomów pozytywnych, negatywnych, jak i poznawczych (**Wieronska et al. 2013 b**).

W kolejnym etapie badań eksperymentalnych zastosowałam selektywny ligand, będący pozytywnym allosterycznym modulatorem receptorów mGlu₄, związek Lu AF21934. Wstępne badania dotyczące aktywności pozytywnych allosterycznych modulatorów w modelach zwierzęcych zostały wykonane w ramach prowadzonej przeze mnie pracy doktorskiej (w ramach promotorstwa pomocniczego). Wykazano skuteczność związków Lu AF21934 i Lu AF32615 w modelach zaburzeń pozytywnych, negatywnych i poznawczych (Sławińska i wsp. 2013), takich jak indukowana MK-801 aktywność lokomotoryczna, indukowane DOI wstrząśnięcia głową (modele zaburzeń pozytywnych), interakcje socjalne (zaburzenia negatywne), rozpoznawanie nowego obiektu lub test opóźnionej alteracji (zaburzenia kognitywne) (Sławińska i wsp. 2013). Potwierdza to dość wyraźnie duży potencjał ligandów receptorów mGlu₄ jako leków antypsychotycznych nowej generacji. Stosując wyżej wymienione metody sprawdziłam udział receptorów 5-HT_{1A} w mechanizmie działania modulatora Lu AF21934. Podobnie, jak w przypadku wyżej wymienionych związków (LY379268 i LSP1-2111) zastosowałam antagonistę receptorów 5-HT_{1A}, WAY100635, oraz agonistę, (R)-(+)-8-OH-DPAT. Podobnie, jak w przypadku ligandu LSP1-2111, wykazałam pełną zależność antypsychotycznego działania Lu AF21934 od receptorów 5-HT_{1A} we wszystkich zastosowanych testach (**Wierońska i wsp. 2014**). Potwierdza to zatem wynik uzyskany wcześniej dla związku LSP1-2111, wskazujący na zależne od receptora 5-HT_{1A} antypsychotyczne działanie aktywatorów mGlu₄ (**Wierońska i wsp. 2013 b**).

W celu potwierdzenia ważności receptorów 5-HT_{1A} w antypsychotycznych efektach leków nowej generacji zastosowałam, jako pozytywną kontrolę, lek antypsychotyczny III generacji, lurasidon. Jest to najnowocześniejszy neuroleptyk zatwierdzony do stosowania w różnych

schorzeniach psychicznych (od depresji, poprzez chorobę dwubiegunową do schizofrenii) w Ameryce Północnej (USA, Kanada), a z krajów Europejskich w Szwajcarii. Jest lekiem działającym na wiele receptorów, między innymi jako antagonistą receptorów adrenergicznych, dopaminergicznych, czy też 5-HT_{2A}, jest też agonistą receptorów 5-HT_{1A} o dość dużym powinowactwie (Ishibashi i wsp. 2010).

Wcześniejsze badania innych autorów wykazały, że skuteczność lurasidonu w teście rozpoznawania nowego obiektu była hamowana przez podanie WAY100635 (Horiguchi i wsp. 2012a, b).

W moich badaniach szerzej przebadalam aktywność lurasidonu w zwierzęcych modelach schizofrenii, jako że danych takich nie było w literaturze. Oprócz testu rozpoznawania nowego obiektu, lurasidon był aktywny również w modelach zaburzeń pozytywnych (indukowane DOI wstrząśnięcia głową), oraz w modelu zaburzeń negatywnych (interakcja socjalna) (**Wierońska i wsp. 2014**). We wszystkich zastosowanych testach (wstrząśnięcia głową, interakcja socjalna oraz test rozpoznawania nowego obiektu) wykazałam, że łączne podania podprogowych dawek lurasidonu oraz agonisty receptorów mGlu₄, związku Lu AF21934, indukują efekt antypsychotyczny (**Wierońska i wsp. 2014**). Potwierdza to ważną rolę receptorów 5-HT_{1A} w aktywności przeciwpsychotycznej agonistów mGlu₄, oraz upoważnia do zaproponowania potencjalnego nowego mechanizmu działania leków antypsychotycznych, opartego o stymulację duetu receptorów mGlu₄/5-HT_{1A}.

Oprócz doświadczeń behawioralnych, w celu ustalenia wpływu związku Lu AF21934 na poziom uwalnianych neurotransmiterów, wykonano eksperymenty mikrodializy. U swobodnie chodzących zwierząt mierzono poziom uwalniania dopaminy i serotoniny po podaniu MK-801. Podobnie jak w badaniach przeprowadzonych w innych laboratoriach, poziom obu neurotransmiterów był podwyższony po podaniu psychotomimetyku (Lopez-Gil i wsp. 2009; Wędzony i wsp. 1993; **Wierońska i wsp. 2014**). Podanie związku Lu AF21934, hamowało indukowane MK-801 zwiększone uwalnianie dopaminy i serotoniny (**Wierońska i wsp. 2014**). Wynik ten jest dodatkowym dowodem na to, że zastosowanie ligandów aktywujących receptory mGlu₄ może wywoływać aktywność antypsychotyczną poprzez osłabianie wzmożonej transmisji dopaminergicznej i serotonergicznej.

-ligandy receptora GABA_B

Obok receptorów metabotropowych dla glutaminianu, ważną częścią moich badań były badania dotyczące receptora, który podobnie jak receptory mGlu, jest zaangażowany w regulację uwalniania glutaminianu. Mowa o metabotropowym receptorze dla kwasu γ -

aminomasłowego, GABA_B. Kilka wcześniejszych doniesień dotyczących jednego z lepiej znanych agonistów tego receptora, czyli baklofenu, opisuje efektywność związku w indukowanym PCP deficycie bramkowania sensorymotorycznego, lub też hamowanie zwiększonego uwalniania dopaminy po podaniu amfetaminy (Zhou i wsp. 2004; Balla i wsp. 2009; Fejgin i wsp. 2009). Związek ten indukuje jednocześnie dużą liczbę skutków ubocznych, a do najważniejszych zaliczamy zaburzenia równowagi, uczucie zmęczenia, ataksję, senność (Grenier i wsp. 1996; Leo i Baer, 2005). Efekty te skutecznie eliminują związek z grona substancji, które można by zaliczyć do obiecujących. Jednakże, ze względu na potencjał terapeutyczny, zasadne jest dalsze poszukiwanie związków działających w tym kierunku.

W moich badaniach zastosowałam nowsze ligandy receptora GABA_B. Jeden z nich to był ortosteryczny agonista, CGP44532, a drugi pozytywny allosteryczny modulator, GS39783. W badaniach na zwierzętach wykazano, że w odróżnieniu do baklofenu, związki nie zmieniają aktywności lokomotorycznej zwierząt (**Wierońska i wsp. 2011**).

W moich badaniach sprawdziłam aktywność obu związków pod kątem ich potencjalnej aktywności antypsychotycznej. Początkowo sprawdziłam aktywność związków w modelach zaburzeń pozytywnych, to znaczy w hyperaktywności po MK-801 lub amfetaminie, a także w modelu indukowanych DOI wstrząśnień głową (**Wierońska i wsp. 2011**). Przebadałam wyżej wymienione związki w szerokim zakresie dawek. Obie substancje dawko-zależnie odwracały stymulowane psychotomimetykami deficyty, w badanych dawkach oraz układach eksperymentalnych nie zmieniały też zachowania zwierząt (**Wierońska i wsp. 2011**). Dodatkowo wykonane zostały badania elektrofizjologiczne, w których mierzono częstotliwość i amplitudę postsynaptycznych wyładowań pobudzających (EPSCs) wywoływanych przez DOI. Oba związki, również dawko-zależnie, hamowały częstotliwość, ale nie amplitudę spontanicznych wyładowań (**Wierońska i wsp. 2011**). Wynik ten świadczy o działaniu związków poprzez receptory presynaptyczne, jako że działanie na receptory postsynaptyczne wpływa również na zmianę amplitudy spontanicznych wyładowań. Sugerowany mechanizm działania tych związków wygląda następująco: DOI, poprzez aktywację receptorów 5-HT_{2A/2C} zlokalizowanych na neuronach glutamatergicznych indukuje wzrost uwalniania glutaminianu, który jest blokowany poprzez stymulację receptorów GABA_B na zakończeniach komórek piramidowych (**Wierońska i wsp. 2011**).

W badaniach jeszcze nie opublikowanych, ale wysłanych już do recenzji wykazałam, że związki aktywujące receptory GABA_B odwracają też deficyty behawioralne indukowane MK-

801 w takich testach, jak interakcje socjalne, zmodyfikowany test pływania i rozpoznawanie nowego obiektu. Wskazuje to na duży potencjał terapeutyczny tej grupy związków.

Sugerowany mechanizm działania ligandów receptorów metabotropowych mGlu i GABA_B.

Na zakończenie mojej rozprawy chciałam przedstawić krótki opis potencjalnych mechanizmów, które mogą być zaangażowane w antypsychotyczne efekty obserwowane po podaniach badanych przeze mnie ligandów. Mechanizmy są opisane w pracach wchodzących w skład mojej rozprawy habilitacyjnej.

Podstawą do rozważania na temat mechanizmów będzie przedstawiony przeze mnie schemat, zaproponowany przez Conn i wsp. 2009

1. Receptory mGlu_{2/3} i receptory mGlu₄, jako zlokalizowane przede wszystkim presynaptycznie na zakończeniach neuronów piramidowych kory i sprzężone hamująco z cyklazą adenylanową, hamują uwalnianie glutaminianu po aktywacji. Dlatego też ich stymulacja za pomocą odpowiednich związków (agoniści i pozytywne allosteryczne modulatory receptorów mGlu_{2/3} i mGlu₄) prowadzi do spadku uwalniania nadmiernej ilości glutaminianu, będącej wynikiem braku kontroli GABAergiczej.
2. Podobnie jak receptory mGlu_{2/3} i mGlu₄, presynaptycznie zlokalizowane receptory GABA_B również regulują uwalnianie glutaminianu, a ich stymulacja prowadzi do zahamowania nadmiernego uwalniania tego neuroprzekaźnika na zakończeniach neuronów piramidowych w korze.
3. Nadmierne uwalnianie serotoniny może przyczyniać się do powstania efektów psychotycznych, zwłaszcza po aktywacji receptorów 5-HT_{2A/2C} zlokalizowanych na ciałach komórek piramidowych w korze przedczołowej (Dall'Olivo i wsp. 1999). Przyjmuje się, że niskie dawki WAY100635 stymulują uwalnianie serotoniny z jąder szwu, natomiast niskie dawki agonisty (R)-(+)-8-OH-DPAT hamują uwalnianie tego neurotransmitera (Larsson i wsp. 1990; Allen i wsp. 1997). Dlatego też zahamowanie uwalniania serotoniny, która działa pobudzająco na neurony piramidowe, może przyczynić się do efektów antypsychotycznych, a kombinacja leków, która włączałaby różne szlaki neurotransmisyjne może być nadzieją nowoczesnej neuropsychofarmakologii.

Podsumowanie

1. W moich badaniach wykazałam, że związki modulujące receptory metabotropowe, a zwłaszcza receptory należące do III rodziny receptorów metabotropowych, czyli receptory mGlu oraz GABA_B, stanowią nową obiecującą dziedzinę badań nad schizofrenią. Dużym ich atutem oraz przewagą nad obecnie stosowaną farmakoterapią tej choroby jest skuteczność nie tylko w modelach zaburzeń pozytywnych, ale przede wszystkim w zwierzęcych modelach zaburzeń negatywnych i kognitywnych (**Wierońska i wsp. 2011; 2012; 2013 a,b; 2014**). Efektywność związków w tej grupie zaburzeń jest szczególnie ważna, jako że zarówno zaburzenia negatywne, do których zaliczamy m.in. apatię, anhedonię, wycofanie społeczne, zubożenie mowy, jak i zaburzenia poznawcze, takie jak zaburzenia uwagi, zaburzenia pamięci operacyjnej, stanowią główną przeszkodę dla chorych, uniemożliwiając normalne funkcjonowanie w społeczeństwie. Przyczyniają się do wycofania ze społeczeństwa, utrudniają lub uniemożliwiają wykonywanie podstawowych obowiązków zawodowych i rodzinnych, w skrajnych przypadkach stają się przyczyną samobójstwa.

2. Wykazałam, że mechanizm działania ligandów receptorów metabotropowych jest zależny od receptorów 5-HT_{1A}, przy czym ta zależność jest ewidentna w przypadku testu rozpoznawania nowego obiektu, który jest modelem zaburzeń poznawczych. Taką interakcję wykazano zarówno dla tandemów mGlu_{2/3}-5-HT_{1A}, jak i dla mGlu₄-5-HT_{1A}. Ta zależność w przypadku receptorów mGlu_{2/3} została zaobserwowana tylko w przypadku testu rozpoznawania nowego obiektu, natomiast nie wykazano jej dla modelu zaburzeń pozytywnych i negatywnych. Natomiast wzajemna interakcja pomiędzy receptorami mGlu₄-5-HT_{1A} jest ważna również w modelach zaburzeń pozytywnych i negatywnych (**Wierońska i wsp. 2013 a, b; 2014**).

3. Oprócz dużej części badań behawioralnych, które stanowią bez wątpienia dominującą część mojego dorobku habilitacyjnego, wykonałam też doświadczenia sprawdzające wpływ badanych przeze mnie ligandów na aktywność neuronów. W badaniach elektrofizjologicznych wykazałam, że związki aktywujące receptory presynaptyczne GABA_B hamują aktywność neuronów piramidowych po stymulacji DOI (**Wierońska i wsp. 2011**). Podobne wyniki uzyskano też dla związków aktywujących receptory mGlu₄ (Sławińska i wsp. 2013), jednakże wyniki te nie są przedmiotem mojej rozprawy habilitacyjnej, a wchodzi w skład doktoratu wykonanego pod moim kierunkiem jako promotora pomocniczego. Ponadto w badaniach mikrodializy *in vivo* wykazałam, że psychotomimetyk MK-801 nasila uwalnianie dopaminy i serotoniny, dwóch neurotransmiterów uważanych za istotne w

rozwoju schizofrenii, oraz że badany przez mnie związek Lu AF21934 (mGlu₄ PAM) hamuje ten efekt (**Wierońska i wsp. 2014**).

4. W odróżnieniu do ligandów receptorów mGlu_{2/3} i mGlu₄ nie wykazałam antypsychotycznego efektu pozytywnego allosterycznego modulatora receptora mGlu₇, pomimo iż badania neurochemiczne przeprowadzone u myszy z usuniętym genem kodującym ten receptor sugerują ich fenotyp propsychotyczny i, co za tym idzie, dysfunkcja receptora mGlu₇ może być istotne w rozwoju schizofrenii (**Wierońska i wsp. 2010; 2012**).

Literatura uzupełniająca:

Alagarsamy S, Rouse ST, Gereau RW 4th, Heinemann SF, Smith Y, Conn PJ. Activation of N-methyl-D-aspartate receptors reverses desensitization of metabotropic glutamate receptor, mGluR5, in native and recombinant systems. *Ann N Y Acad Sci* 1999; 868: 526-30.

Alagarsamy S, Marino MJ, Rouse ST, Gereau RW 4th, Heinemann SF, Conn PJ. Activation of NMDA receptors reverses desensitization of mGluR5 in native and recombinant systems. *Nat Neurosci* 1999; 2(3): 234-40.

Allen AR, Singh A, Zhuang ZP, Kung MP, Kung HF, Lucki I. (1997) The 5-HT_{1A} receptor antagonist p-MPPI blocks responses mediated by postsynaptic and presynaptic 5-HT_{1A} receptors. *Pharmacol Biochem Behav.* 1997 May-Jun;57(1-2):301-7.

Balla A, Nattini ME, Sershen H, Lajtha A, Dunlop DS, Javitt DC. GABAB/NMDA receptor interaction in the regulation of extracellular dopamine levels in rodent prefrontal cortex and striatum. *Neuropharmacology.* 2009 Apr;56(5):915-21.

Beurrier C, Lopez S, Révy D, Selvam C, Goudet C, Lhérondel M, Gubellini P, Kerkerian-LeGoff L, Acher F, Pin JP, Amalric M. Electrophysiological and behavioral evidence that modulation of metabotropic glutamate receptor 4 with a new agonist reverses experimental parkinsonism. *FASEB J.* 2009 Oct;23(10):3619-28.

Blier P, Piñeyro G, el Mansari M, Bergeron R, de Montigny C. Role of somatodendritic 5-HT autoreceptors in modulating 5-HT neurotransmission. *Ann N Y Acad Sci.* 1998 Dec 15;861:204-16.

Bockaert J, Pin JP. Molecular tinkering of G protein-coupled receptors: an evolutionary success. *EMBO J* 1999; 18(7): 1723-9.

Bockaert J, Perroy J, Bécamel C, Marin P, Fagni L. GPCR interacting proteins (GIPs) in the nervous system: Roles in physiology and pathologies. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2010;50:89-109.

Boulay D, Depoortère R, Louis C, Perrault G, Griebel G, Soubrié P. SSR181507, a putative atypical antipsychotic with dopamine D₂ antagonist and 5-HT_{1A} agonist activities: improvement of social interaction deficits induced by phencyclidine in rats. *Neuropharmacology.* 2004 Jun;46(8):1121-9.

Bubeníková-Valesová V, Votava M, Páleníček T, Horáček J. The opposite effect of a low and a high dose of serotonin-1A agonist on behavior induced by MK-801. *Neuropharmacology.* 2007 Mar;52(4):1071-8.

Burnet PW, Eastwood SL, Harrison PJ. 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptor mRNAs and binding site densities are differentially altered in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology.* 1996 Nov;15(5):442-55.

Cartmell J, Monn JA, Schoepp DD. Attenuation of specific PCP-evoked behaviors by the potent mGlu_{2/3} receptor agonist, LY379268 and comparison with the atypical antipsychotic, clozapine. *Psychopharmacology (Berl).* 2000 a Mar;148(4):423-9.

Cartmell J, Schoepp DD. Regulation of neurotransmitter release by metabotropic glutamate receptors. *J Neurochem* 2000 b; 75(3): 889-907.

Conn PJ, Lindsley CW, Jones CK. Activation of metabotropic glutamate receptors as a novel approach for the treatment of schizophrenia. *Trends Pharmacol Sci.* 2009 Jan;30(1):25-31.

Dall'Olivo R, Gaggi R, Bonfante V, Gandolfi O. The non-competitive NMDA receptor blocker dizocilpine potentiates serotonergic function. *Behav Pharmacol.* 1999 Feb;10(1):63-71.

Fatemi SH, Sary JM, Earle JA, Araghi-Niknam M, Eagan E. GABAergic dysfunction in schizophrenia and mood disorders as reflected by decreased levels of glutamic acid decarboxylase 65 and 67 kDa and Reelin proteins in cerebellum. *Schizophr Res* 2005; 72(2-3): 109-22.

Fejgin K, Pålsson E, Wass C, Finnerty N, Lowry J, Klamer D. Prefrontal GABA(B) receptor activation attenuates phencyclidine-induced impairments of prepulse inhibition: involvement of nitric oxide. *Neuropsychopharmacology*. 2009 Jun;34(7):1673-84.

Galici R, Echemendia NG, Rodriguez AL, Conn PJ. A selective allosteric potentiator of metabotropic glutamate (mGlu) 2 receptors has effects similar to an orthosteric mGlu2/3 receptor agonist in mouse models predictive of antipsychotic activity. *J Pharmacol Exp Ther*. 2005 Dec;315(3):1181-7.

Galici R, Jones CK, Hemstapat K, Nong Y, Echemendia NG, Williams LC, de Paulis T, Conn PJ. Biphenyl-indanone A, a positive allosteric modulator of the metabotropic glutamate receptor subtype 2, has antipsychotic- and anxiolytic-like effects in mice. *J Pharmacol Exp Ther*. 2006 Jul;318(1):173-85.

Grenier B, Mesli A, Cales J, Castel JP, Maurette P. [Severe hyperthermia caused by sudden withdrawal of continuous intrathecal administration of baclofen]. *Ann Fr Anesth Reanim*. 1996;15(5):659-62.

Guidotti A, Pesold C, Costa E. New neurochemical markers for psychosis: a working hypothesis of their operation. *Neurochem Res* 2000; 25(9-10): 1207-18.

Hagiwara H, Fujita Y, Ishima T, Kunitachi S, Shirayama Y, Iyo M, Hashimoto K. Phencyclidine-induced cognitive deficits in mice are improved by subsequent subchronic administration of the antipsychotic drug perospirone: role of serotonin 5-HT1A receptors. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2008 Jun;18(6):448-54.

Haracz JL. The dopamine hypothesis: an overview of studies with schizophrenic patients. *Schizophr Bull*. 1982;8(3):438-69.

Hopkins CR. Is there a path forward for mGlu(2) positive allosteric modulators for the treatment of schizophrenia? *ACS Chem Neurosci*. 2013 Feb 20;4(2):211-3.

Horiguchi M, Meltzer HY. The role of 5-HT1A receptors in phencyclidine (PCP)-induced novel object recognition (NOR) deficit in rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 2012 a May;221(2):205-15.

Horiguchi M, Hannaway KE, Adekun AE, Jayathilake K, Meltzer HY. Prevention of the phencyclidine-induced impairment in novel object recognition in female rats by co-administration of lurasidone or tandospirone, a 5-HT(1A) partial agonist. *Neuropsychopharmacology*. 2012 b Sep;37(10):2175-83.

Horio M, Fujita Y, Hashimoto K. Therapeutic effects of metabotropic glutamate receptor 5 positive allosteric modulator CDPPB on phencyclidine-induced cognitive deficits in mice. *Fundam Clin Pharmacol*. 2013 Oct;27(5):483-8.

Ichikawa J, Li Z, Dai J, Meltzer HY. Atypical antipsychotic drugs, quetiapine, iloperidone, and melperone, preferentially increase dopamine and acetylcholine release in rat medial prefrontal cortex: role of 5-HT1A receptor agonism. *Brain Res*. 2002 Nov 29;956(2):349-57.

Ishibashi T, Horisawa T, Tokuda K, Ishiyama T, Ogasa M, Tagashira R, Matsumoto K, Nishikawa H, Ueda Y, Toma S, Oki H, Tanno N, Saji I, Ito A, Ohno Y, Nakamura M. Pharmacological profile of lurasidone, a novel antipsychotic agent with potent 5-hydroxytryptamine 7 (5-HT7) and 5-HT1A receptor activity. *J Pharmacol Exp Ther*. 2010 Jul;334(1):171-81.

Javitt DC. Negative schizophrenic symptomatology and the PCP (phencyclidine) model of schizophrenia. *Hillside J Clin Psychiatry*. 1987;9(1):12-35.

Johnson MP, Barda D, Britton TC, Emkey R, Hornback WJ, Jagdmann GE, McKinzie DL, Nisenbaum ES, Tizzano JP, Schoepp DD. Metabotropic glutamate 2 receptor potentiators: receptor modulation, frequency-dependent synaptic activity, and efficacy in preclinical anxiety and psychosis model(s). *Psychopharmacology (Berl)*. 2005 Apr;179(1):271-83.

Kammermeier PJ, Yun J. Activation of metabotropic glutamate receptor 1 dimers requires glutamate binding in both subunits. *J Pharmacol Exp Ther*. 2005 Feb;312(2):502-8.

Kingston AE, Ornstein PL, Wright RA, Johnson BG, Mayne NG, Burnett JP, Belagaje R, Wu S, Schoepp DD. LY341495 is a nanomolar potent and selective antagonist of group II metabotropic glutamate receptors. *Neuropharmacology*. 1998;37(1):1-12.

Kinon BJ, Zhang L, Millen BA, Osuntokun OO, Williams JE, Kollack-Walker S, Jackson K, Kryzhanovskaya L, Jarkova N; HBBI Study Group. A multicenter, inpatient, phase 2, double-blind, placebo-controlled dose-ranging study of LY2140023 monohydrate in patients with DSM-IV schizophrenia. *J Clin Psychopharmacol*. 2011 Jun;31(3):349-55.

Larsson LG, Rényi L, Ross SB, Svensson B, Angeby-Möller K. (1990) Different effects on the responses of functional pre- and postsynaptic 5-HT1A receptors by repeated treatment of rats with the 5-HT1A receptor agonist 8-OH-DPAT. *Neuropharmacology*. 1990 Feb;29(2):85-91.

Lecourtier L, Homayoun H, Tamagnan G, Moghaddam B. Positive allosteric modulation of metabotropic glutamate 5 (mGlu5) receptors reverses N-Methyl-D-aspartate antagonist-induced alteration of neuronal firing in prefrontal cortex. *Biol Psychiatry*. 2007 Oct 1;62(7):739-46.

Leo RJ, Baer D. Delirium associated with baclofen withdrawal: a review of common presentations and management strategies. *Psychosomatics*. 2005 Nov-Dec;46(6):503-7.

Linden AM, Schoepp DD. Metabotropic glutamate receptor targets for neuropsychiatric disorders. *Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies*, Vol. 3, 2006. 4: (507-517).

López-Gil X, Artigas F, Adell A. Role of different monoamine receptors controlling MK-801-induced release of serotonin and glutamate in the medial prefrontal cortex: relevance for antipsychotic action. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2009 May;12(4):487-99.

de Maio D. Clozapine, a novel major tranquilizer. Clinical experiences and pharmacotherapeutic hypotheses. *Arzneimittelforschung*. 1972 May;22(5):919-23.

Moghaddam B, Adams BW. Reversal of phencyclidine effects by a group II metabotropic glutamate receptor agonist in rats. *Science*. 1998 Aug 28;281(5381):1349-52.

Munch-Petersen S. Chlorpromazine (largactil) in the management of psychotic patients. *Acta Psychiatr Neurol Scand* 1955; 30(4):643-58.

Liu F, Grauer S, Kelley C, Navarra R, Graf R, Zhang G, Atkinson PJ, Popiolek M, Wantuch C, Khawaja X, Smith D, Olsen M, Kouranova E, Lai M, Pruthi F, Pulicchio C, Day M, Gilbert A, Pausch MH, Brandon NJ, Beyer CE, Comery TA, Logue S, Rosenzweig-Lipson S, Marquis KL. ADX47273 [S-(4-fluorophenyl)-{3-[3-(4-fluorophenyl)-[1,2,4]-oxadiazol-5-yl]-piperidin-1-yl}-methanone]: a novel metabotropic glutamate receptor 5-selective positive allosteric modulator with preclinical antipsychotic-like and procognitive activities. *J Pharmacol Exp Ther*. 2008 Dec;327(3):827-39.

Ormel J, Petukhova M, Chatterji S, Aguilar-Gaxiola S, Alonso J, Angermeyer MC, Bromet EJ, Burger H, Demyttenaere K, de Girolamo G, Haro JM, Hwang I, Karam E, Kawakami N, Lépine JP, Medina-Mora ME, Posada-Villa J, Sampson N, Scott K, Ustün TB, Von Korff M, Williams DR, Zhang M, Kessler RC. Disability and treatment of specific mental and physical disorders across the world. *Br J Psychiatry*. 2008 May;192(5):368-75.

Parmentier ML, Prezeau L, Bockaert J, Pin JP. A model for the functioning of family 3 GPCRs. *Trends Pharmacol Sci*. 2000, 23(6): 268-74.

Patil ST, Zhang L, Martenyi F, Lowe SL, Jackson KA, Andreev BV, Avedisova AS, Bardenstein LM, Gurovich IY, Morozova MA, Mosolov SN, Neznanov NG, Reznik AM, Smulevich AB, Tochilov VA, Johnson BG, Monn JA, Schoepp DD. Activation of mGlu2/3 receptors as a new approach to treat schizophrenia: a randomized Phase 2 clinical trial. *Nat Med*. 2007 Sep;13(9):1102-7.

Pałucha-Poniewiera A, Kłodzińska A, Stachowicz K, Tokarski K, Hess G, Schann S, Frauli M, Neuville P, Pilc A. Peripheral administration of group III mGlu receptor agonist ACPT-I exerts potential antipsychotic effects in rodents. *Neuropharmacology*. 2008 Sep;55(4):517-24.

Rorick-Kehn LM¹, Johnson BG, Knitowski KM, Salhoff CR, Witkin JM, Perry KW, Griffey KI, Tizzano JP, Monn JA, McKinzie DL, Schoepp DD. In vivo pharmacological characterization of the structurally novel, potent, selective mGlu2/3 receptor agonist LY404039 in animal models of psychiatric disorders. *Psychopharmacology (Berl)*. 2007 Jul;193(1):121-36.

Rössler W, Salize HJ, van Os J, Riecher-Rössler A. Size of burden of schizophrenia and psychotic disorders. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2005 Aug;15(4):399-409.

Schlumberger C, Pietraszek M, Gravius A, Klein KU, Greco S, Morè L, Danysz W. Comparison of the mGlu(5) receptor positive allosteric modulator ADX47273 and the mGlu(2/3) receptor agonist LY354740 in tests for antipsychotic-like activity. *Eur J Pharmacol*. 2009 Nov 25;623(1-3):73-83.

Schwartz JT, Brotman AW. A clinical guide to antipsychotic drugs. *Drugs*. 1992 Dec;44(6):981-92.

Sharp T, Bramwell SR, Hjorth S, Grahame-Smith DG. Pharmacological characterization of 8-OH-DPAT-induced inhibition of rat hippocampal 5-HT release in vivo as measured by microdialysis. *Br J Pharmacol*. 1989 Nov;98(3):989-97.

Sherman AD, Davidson AT, Baruah S, Hegwood TS, Waziri R. Evidence of glutamatergic deficiency in schizophrenia. *Neurosci Lett*. 1991 Jan 2;121(1-2):77-80.

Sławińska A, Wierońska JM, Stachowicz K, Marciniak M, Lasoń-Tyburkiewicz M, Gruca P, Papp M, Kusek M, Tokarski K, Doller D, Pilc A. The antipsychotic-like effects of positive allosteric modulators of metabotropic glutamate mGlu4 receptors in rodents. *Br J Pharmacol*. 2013 Aug;169(8):1824-39.

Stefani MR, Moghaddam B. Activation of type 5 metabotropic glutamate receptors attenuates deficits in cognitive flexibility induced by NMDA receptor blockade. *Eur J Pharmacol*. 2010 Aug 10;639(1-3):26-32.

Uslaner JM, Smith SM, Huszar SL, Pachmerhiwala R, Hinchliffe RM, Vardigan JD, Hutson PH. Combined administration of an mGlu2/3 receptor agonist and a 5-HT 2A receptor antagonist markedly attenuate the psychomotor-activating and neurochemical effects of psychostimulants. *Psychopharmacology (Berl)*. 2009 Nov;206(4):641-51.

Vardigan JD, Huszar SL, McNaughton CH, Hutson PH, Uslaner JM. MK-801 produces a deficit in sucrose preference that is reversed by clozapine, D-serine, and the metabotropic glutamate 5 receptor positive allosteric modulator CDPPB: relevance to negative symptoms associated with schizophrenia? *Pharmacol Biochem Behav*. 2010 Apr;95(2):223-9.

Wedzony K, Maćkowiak M, Zajaczkowski W, Fijał K, Chocyk A, Czyrak A. WAY 100135, an antagonist of 5-HT_{1A} serotonin receptors, attenuates psychotomimetic effects of MK-801. *Neuropsychopharmacology*. 2000 Nov;23(5):547-59.

Wedzony K, Klimek V, Gołmbiowska K. MK-801 elevates the extracellular concentration of dopamine in the rat prefrontal cortex and increases the density of striatal dopamine D₁ receptors. *Brain Res*. 1993 Sep 17;622(1-2):325-9.

Woolley ML¹, Pemberton DJ, Bate S, Corti C, Jones DN. The mGlu₂ but not the mGlu₃ receptor mediates the actions of the mGlu_{2/3} agonist, LY379268, in mouse models predictive of antipsychotic activity. *Psychopharmacology (Berl)*. 2008 Feb;196(3):431-40.

Xu C, Zhang W, Rondard P, Pin JP, Liu J. Complex GABAB receptor complexes: how to generate multiple functionally distinct units from a single receptor. *Front Pharmacol*. 2014 Feb 11;5:12.

Zhou W, Mailloux AW, Jung BJ, Edmunds HS Jr, McGinty JF. GABAB receptor stimulation decreases amphetamine-induced behavior and neuropeptide gene expression in the striatum. *Brain Res*. 2004 Apr 9;1004(1-2):18-28.

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

Całość dorobku-patrz Załącznik 4.

Oprócz prac będących podstawą mojej pracy habilitacyjnej, jestem autorką lub współautorką 51 innych prac, znajdujących się w bazie Journal Citation Reports, z czego jestem pierwszym autorem 14 prac. 4 z nich to prace będące podstawą mojego doktoratu, natomiast pozostałe 10 to inne tematy badawcze, w realizację których byłam mocno zaangażowana. 8 z nich powstało po obronieniu przeze mnie pracy doktorskiej.

Poniżej krótki opis merytoryczny tych dodatkowych tematów, a także wybrane osiągnięcia naukowo-badawcze.

a) udział w innych pracach badawczych.

1. Do najważniejszych tematów, w których realizację byłam zaangażowana były badania nad rolą ligandów receptorów metabotropowych w lęku. Badałam też różne mechanizmy, które mogą być zaangażowane w przeciwlękowe działanie tych ligandów.

Wykazałam, że agoniści i pozytywne allosteryczne modulatory receptorów mGlu_{2/3} (LY379268 oraz LY487273) mają działanie przeciwlękowe w teście hipertermii indukowanej stresem. Prowadzone były też badania nad rolą neurotransmisji serotonergicznej i/lub GABAergicznej w mechanizm działania tych ligandów.

Inne badania dotyczyły przeciwlękowego działania agonistów i allosterycznych modulatorów receptorów mGlu₄, głównie w teście hipertermii indukowanej stresem. Zastosowano dwa związki: LSP1-2111 oraz Lu AF21934. Prowadzone były też badania nad rolą neurotransmisji serotonergicznej i/lub GABAergicznej w mechanizmie działania tych ligandów.

Byłam też zaangażowana w badanie interakcji pomiędzy neuropeptydami NPY i CRF a receptorami metabotropowymi dla glutaminianu w lęku.

2. Innym zagadnieniem, w którego realizację byłam zaangażowana, była ekspresja receptorów metabotropowych w modelu depresji, oraz po chronicznych podaniach leków przeciwdepresyjnych. Ogólnie przy pomocy metody Western Blot oznaczałam poziom receptorów mGlu₁, mGlu_{2/3}, mGlu₄ oraz mGlu₇. Wykonywałam też barwienia immunohistochemiczne wyżej wymienionych receptorów.

Oprócz tego wykonując test usunięcia opuszek węchowych u szczurów badałam aktywności przeciwdepresyjną różnych związków.

3. jestem współautorką licznych prac, w którym badałam metodą immunohistochemiczną ekspresję hydroksylazy tyrozynowej w substancji czarnej, u szczurów i myszy po podaniach parakwatu. Badania miały na celu zoptymalizowanie modelu choroby Parkinsona u zwierząt.

b) kierowanie grantami badawczymi:

KBN Grant No. 6P05A 019 21

“Udział NPY i CRF w prołękowych i przeciwłękowych efektach ligandów receptorów glutaminianergicznym w ciele migdałowatym mózgu szczura”-**Kierownik projektu (2001)**

KBN Grant No. 3P05A 135 22

“Interakcje pomiędzy układem glutaminianergicznym a neuropeptydem Y i kortykoliberyną w ciele migdałowatym mózgu szczura oraz ich rola w regulacji lęku” grant promotorski,

Główny wykonawca (2002-2004)

KBN Grant No. N N401 009536

„Behawioralne, funkcjonalne i anatomiczne konsekwencje czasowego bądź trwałego wyciszenia genów dla metabotropowych receptorów glutaminianergicznym grupy III. Rola w patomechanizmie i farmakoterapii lęku i depresji” **Kierownik Grantu 2009-2011**

Grant POIG Nr UDA-POIG.01.03.01-12-100/08-0.

Innowacyjna Gospodarka. Europejski fundusz Rozwoju Regionalnego. Projekt pod kierownictwem prof. dr hab. A. Pilca. pt. „Modulacja allosteryczna-nowa strategia w rozwoju farmakoterapii. Identyfikacja własności psychotropowych ligandów receptorów glutaminianergicznym III grupy (ModAll)”. **Kierownik zadania VII (2009-20012)**

c) najważniejsze nagrody:

2002- nagroda European College of Neuropsychopharmacology, 15 Kongres ECNP, 5-9 października, Barcelona, Hiszpania

2003- nagroda Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej (Roczne Stypendia dla Młodych Naukowców)

2004-przedłużenie Roczego Stypendium dla Młodych Naukowców z Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej

2005-nagroda im. J & J Supniewskich za osiągnięcia naukowe w 2004 roku

d) wykaz ważniejszych referatów wygłoszonych na międzynarodowych i krajowych konferencjach tematycznych

Międzynarodowe:

1. "The interaction between NPY and glutamate in the rat brain amygdala and its role in the anxiety states". International Brain Research Organization and the Federation of European Neuroscience Society, „Development and Plasticity of the Human Cerebral Cortex”, Croatian Institute for Brain Research, Zadar/Zagreb, Croatia, 2005

2. "Metabotropic glutamate receptor as a target for new psychotropic drugs", 4th Wierzba Conference, 23-27.08. 2008, Wierzba, Poland

3. "Antidepressant-like activity of metabotropic glutamate receptors". 17th International Congress of the Polish Pharmacological Society, Krynica Zdrój 16-18.09.10. Pharmacol. Rep., 2010, 62, Suppl., 23-24

4. "Metabotropic glutamate receptors PAMs as a novel, potential antipsychotic drugs. XVIIIth International Congress of the Polish Pharmacological Society". XVIII Międzynarodowy Kongres Polskiego Towarzystwa Farmakologicznego. 23-25 maj 2013

5. "Advances in the study of group III metabotropic glutamate receptor activators for the treatment of schizophrenia", 21-24. 05.2014, Glutamate/GABA and Neuro-Glia-Vascular interplay in norm and pathology Kraków, Poland

6. „The antipsychotic-like action of mGlu4 activators is serotonin-dependent”. 19th International Medical Esperanto Congress, 16th to 20th July 2014, Budapeszt, Węgry.

Krajowe:

1. „Glutaminian a lęk”. Wykład wygłoszony na XX Szkole Zimowej Instytutu Farmakologii PAN pt. „Pobudzające Aminokwasy III”, 17. 02. 2009.

2. "Metabotropic glutamate receptors as a target for new psychotropic drugs". III Konwersatorium Chemii Medycznej, Lublin, 20-22.09.2010
3. "On the mechanism of anxiolytic-like effects of mGlu2/3 receptor agonist LY379268 and positive modulator LY487379 in stress-induced hyperthermia model in mice". 20 Dni Neuropsychofarmakologii, Ustroń-Jaszowiec 22-25.05.11 Pharmacol Rep., 2011, 63, 581
4. "mGlu4-dependent reversal of the MK-801-induced cognitive impairments involves 5-HT_{1A}". The Twenty First Days of Neuropsychopharmacology, Ustroń-Jaszowiec 10-13.06.12, Pharmacol Rep. 2012, 64, 486.
5. "The role of GABAergic transmission in the behavioral effects of mGlu7 receptor positive modulator, AMN082". 18 Dni Neuropsychofarmakologii, Ustroń-Jaszowiec, 25-27.05.09. Pharmacol Rep. 2009, 61, 379.
6. „The changes in GABAergic neurotransmission system in mGlu7 receptor deficient mice”. The Seventeenth Days of Neuropsychopharmacology, Ustroń-Jaszowiec 26-28. 05.08. Pharmacol Rep., 2008, 60, 291.

e) udział w komitetach organizacyjnych międzynarodowych i krajowych konferencji naukowych

Członek Komitetu Organizacyjnego Konferencji Międzynarodowej „Glutamate/GABA and neuro-glia-vascular interplay in norm and pathology”. Kraków, May 21-24, 2014

f) udział w komitetach redakcyjnych i radach naukowych czasopism

Redaktor główny: Pobudzające aminokwasy III. XXVI Zimowa Szkoła Instytutu Farmakologii PAN, Kraków 2009. Red. **Wierońska JM**, Pilc A. Instytut Farmakologii PAN, Kraków, 2009.

J. Wierońska