

KONRAD RUDNICKI

University of Antwerp
Faculty of Social Sciences
Department of Communication Science
2000 Antwerp, Belgium, St-Jacobstraat 2
e-mail: kjrudnicki@gmail.com

ALEKSANDRA RUTKOWSKA

Uniwersytet Łódzki
Wydział Nauk o Wychowaniu, Instytut Psychologii
91-433 Łódź, ul. Smugowa 10/12
e-mail: sandra@uni.lodz.pl

MAREK WIECZOREK

Uniwersytet Łódzki
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska
Katedra Neurobiologii
90-236 Łódź, ul. Pomorska 141/143
e-mail: marek@biol.uni.lodz.pl

**POZIOM KATECHOLAMIN W ŚLINIE PODCZAS STRESU
EGZAMINACYJNEGO I WYSIŁKU POZNAWCZEGO**

Abstrakt. By ustalić przydatność katecholamin w ślinie do badania stresu, pobrano próbki od 30 studentów przed egzaminem oraz w dniu pozbawionym stresorów. Następnie aby zbadać wpływ wysiłku poznawczego na poziomy katecholamin, przebadano 31 ochotników, którzy uczestniczyli w dwóch spotkaniach poświęconych realizacji różnych testów poznawczych. Za pomocą HPLC-ED zmierzono poziomy noradrenaliny, dopaminy i adrenaliny w ślinie. W grupie przed egzaminem zaobserwowano wyłącznie obniżony poziom dopaminy w porównaniu do dnia nieobciążonego stresorami. W drugiej grupie wysiłek poznawczy wywołał podwyższenie poziomów wszystkich trzech katecholamin. Zważywszy na niejednoznaczne wyniki z dotychczasowych badań wydaje się, iż adrenalina i noradrenalina w ślinie mogą być stosowane jako markery aktywności współczulnej w badaniach psychologicznych.

Słowa kluczowe: katecholamina, dopamina, noradrenalina, adrenalina, biomarkery.

1. WPROWADZENIE

1.1. Katecholaminy w organizmie człowieka

Katecholaminy są syntetyzowanymi z L-tyrozyny substancjami zawierającymi w swojej strukturze katechol (pierścień benzenu z dwiema sąsiadującymi grupami hydroksylowymi) (Goldstein, 2010). W ludzkim organizmie obecne są trzy kluczowe katecholaminy odpowiedzialne za prawidłowy przebieg szeregu procesów biologicznych: dopamina, adrenalina i noradrenalina. Synaptycznie pełnią one funkcję neuroprzebieżników, natomiast po ich sekrecji do krwi – neurohormonów (Nelson, 2005). Bezpośrednie badanie ich aktywności w mózgu (pozytrona tomografia emisyjna) jest procedurą niezwykle drogą. Z tego powodu badacze chętnie korzystają z analizy stężeń katecholamin i ich metabolitów w płynach ustrojowych jako pośredniego źródła informacji o aktywności neuronów katecholaminergicznych (zarówno ośrodkowych, jak i obwodowych).

Populacje neuronów katecholaminergicznych w mózgu nie wnoszą istotnego wkładu w poziomy adrenaliny, noradrenaliny i dopaminy w części obwodowej ustroju. Adrenalina jako neurotransmitter występuje w niewielkich ilościach, a żadna z katecholamin nie ma zdolności przekraczania bariery krew–mózg. Natomiast są one wykrywane w moczu, krwi oraz ślinie i wykorzystywane w diagnostyce nowotworów, a także zaburzeń funkcjonowania obwodowego układu nerwowego (Eisenhofer, Kopin, Goldstein 2004). Z kolei dopamina w części obwodowej organizmu jest produkowana zarówno przez układ nerwowy, jak i w poszczególnych tkankach, gdzie pełni funkcję przebieżnika parakrynowego, przekazując informacje między komórkami tylko lokalnie, w obrębie danej tkanki (Kuchel O., Kuchel G., 1991).

Poziom noradrenaliny, adrenaliny i dopaminy w ludzkiej ślinie determinowany jest przez dyfuzję tych substancji z krwi (Drebing i in., 1989; Yang i in., 1997). Główne źródło noradrenaliny we krwi stanowi jej „ucieczka” z synaps neuronów części współczulnej autonomicznego układu nerwowego. Może ona tym samym stanowić marker ogólnej, obwodowej aktywności współczulnej (Lake i in., 1984). Rdzeń nadnerczy odpowiada natomiast za syntezę większości adrenaliny znajdującej się w obiegu krwi (Kennedy i in., 2001). Dysocjacja źródeł noradrenaliny i adrenaliny jest wyjątkowo korzystna, zważywszy, iż reaktywność w sytuacjach stresowych osi podwzgórze–przysadka–nadnercza (ang. *hypothalamic-pituitary-adrenal axis* – HPA) różni się od reaktywności osi sympatyczno-nadnerczowej (ang. *sympathetic-adrenal-medullary system* – SAM) (Schommer, Hellhammer, Kirschbaum, 2003). Dzięki temu można selektywnie analizować aktywność tych dwóch systemów odpowiedzi stresowej. Ma to szczególne znaczenie, ponieważ subiektywnie odczuwane pobudzenie fizjologiczne w dużym stopniu zależy od osobowości, w przeciwieństwie do obiektywnych miar pobudzenia fizjologicznego

(Thibodeau, Gómez-Pérez, Asmundson, 2012). Powoduje to różnice w wykrywanych poziomach poszczególnych neurohormonów (McClelland i in., 1987).

Wpływ płci na obserwowane poziomy katecholamin jest niejednoznaczny. Część badań wskazuje na brak różnic międzypłciowych, a część na wyższe bazywe stężenia katecholamin u mężczyzn (Zouhal i in., 2008). Efekt ten tłumaczy się tym, iż dla mężczyzn świadomość nadchodzących testów stanowi większy stresor niż dla kobiet (Frankenhaeuser, Dunne, Lundberg, 1976). W badaniach wykorzystujących pomiary katecholamin należy zatem zwracać szczególną uwagę na ewentualne różnice międzypłciowe.

Natomiast jako markery centralnej aktywności katecholaminergicznej wykorzystuje się metabolity katecholamin (Amin, Friedhoff 1997; Yamamoto, Nishimura, Tamiya, 2010), dla noradrenaliny głównie 3-metoksy-4-hydroksyfenyloglikol (MHPG), zaś dla dopaminy kwas homowanilinowy (HVA). Ich analiza jest jednak metodą pośrednią i ostatnio kwestionowaną (Eisenhofer, Kopin, Goldstein 2004). Wynika to z kontrowersji dotyczących szlaków metabolicznych katecholamin oraz szczegółów procesu usuwania produktów ich rozkładu z organizmu. Wątpliwości natury neurofizjologicznej dopełniają też problemy metodologiczne dotyczące poboru próbek płynów ustrojowych.

1.2. Reakcja stresowa organizmu

Najważniejszym systemem regulującym stresowe reakcje organizmu jest oś HPA, zbudowana z jądra okołokomorowego podwzgórza (*nucleus paraventricularis hypothalami*, PVN), tylnego płata przysadki oraz nadnerczy. Odpowiedzialny za regulowanie funkcji osi HPA jest czynnik uwalniający kortykotropinę (CRF), wydzielany przez środkową, drobnokomórkową część PVN (Rivier, Vale, 1983). Neurony odpowiedzialne za sekrecję CRF otrzymują projekcje z wielu części mózgowia – przede wszystkim z pnia mózgu, blaszki krańcowej (*lamina terminalis*), innych części podwzgórza oraz układu limbicznego. Dzięki tym połączeniom funkcjonowanie osi HPA może być regulowane poprzez informacje zwrotne ze środowiska (Smith, Vale, 2006). Stresory stymulują uwalnianie CRF do naczyń układu wrotnego przysadki, skąd trafia do jej tylnego płata. Stymuluje to uwalnianie hormonu adrenokortykotropowego (ACTH) do krwi. Wraz z krwią ACTH trafia m.in. do warstwy pasmowatej kory nadnerczy, gdzie stymuluje produkcję i uwalnianie glukokortykoidów, które następnie oddziałują na swoiste receptory wewnątrzkomórkowe w obwodowym i ośrodkowym układzie nerwowym, mediując fizjologiczne skutki stresu. Przewlekły stres prowadzi do utrzymywania się wysokiego stężenia glukokortykoidów, co skutkuje zmianami patologicznymi związanymi z chorobami stresopochodnymi (Bamberger, Schulte, Chrousos, 1996). Aktywność osi HPA jest regulowana zgodnie z zasadą ujemnego sprzężenia zwrotnego poprzez receptory dla glukokortykoidów w PVN i przysadce (Westphal, Seasholtz, 2006).

Zarówno centralne, jak i obwodowe neurony noradrenergiczne są zaangażowane w modulowanie odpowiedzi stresowych u ludzi, co przekłada się na podwyższone poziomy noradrenaliny w płynie mózgowo-rdzeniowym i krwi (Gruen i in., 2000). Układ noradrenergiczny w odpowiedzi na ostry stresor inicjuje fazowy wyrzut neurotransmitera, kończący się wraz z ustaniem stresora (Morilak i in., 2005). W przypadku działania dłuższych stresorów ta odpowiedź podlega analogicznej habituacji, co behavior (Aston-Jones, Cohen, 2005). Miejsce sinawe, główne jądro produkujące noradrenalinę, zawiera pochodzące z jądra przyolbrzymiokomórkowego i jądra poprzedzającego nerwu podjęzykowego włókna wydzielające kortykoliberynę, neurohormon odpowiedzialny za pobudzanie działania osi podwzgórze–przysadka–nadnercza (Valentino i in., 1992). Natomiast blokada wyładowań fazowych miejsca sinawego powoduje zanik elektroencefalograficznych markerów stresu (Page i in., 1993). Badania wykazały również, iż układ noradrenergiczny reaguje w ten sam sposób niezależnie od walencji odczuwanych emocji (Berridge, 2008). Po pewnym czasie obwodowa noradrenalina trafia m.in. do śliny, gdzie stanowi łatwy cel poboru do analizy. Wcześniej w badaniach nad stresem wzrost jej stężenia w ślinie obserwowano podczas: sytuacji egzaminacyjnej (McClelland, Ross, Patel, 1985), wizyty u stomatologa (Mitome i in., 1997) lub bólu (Leistad i in., 2007). Podobny kierunek zmian obserwowano też w przypadku adrenaliny (Frankenhaeuser i in., 1978).

Ze względu na ingerencyjny charakter, pobór krwi stanowi niewłaściwą procedurę badań, w których jednym z analizowanych zjawisk jest stres. Z tego powodu podczas badań eksperymentalnych i klinicznych psychologowie coraz szerzej stosują analizę zawartości markerów biologicznych w ślinie. W kontekście stresu najczęściej analizowano stężenie kortyzolu (Galatzer-Levy i in., 2014), choć także hormonu adrenokortykotropowego (Sugimoto, Kanai, Shoji, 2009) lub MHPG (Apfel i in., 2011). Sytuacja egzaminacyjna jest od dawna stosowana do badania reakcji stresowej organizmu (Frankenhaeuser i in., 1978), ponieważ z całą pewnością wzbudza ona aktywność osi HPA (Ng, Koh, Chia, 2003) oraz SAM (Weiner, 1992). Aktywność ta może być odzwierciedlona w stężeniach katecholamin w ślinie u osób poddanych działaniu stresu.

1.3. Pobudzenie fizjologiczne i wysiłek poznawczy

Pobudzenie fizjologiczne podczas stresu oraz wysiłku poznawczego jest stanem opisywanym na kontinuum biegnącym od głębokiego snu do ekstremalnego pobudzenia, określanym też jako przyczyna desynchronizacji elektroencefalogramu, gdy rośnie poziom złożoności zadania poznawczego (Revelle, Loftus, 2014). Za generowanie i podtrzymywanie pobudzenia odpowiedzialne są różne układy neurotransmisyjne, przede wszystkim układ noradrenergiczny (Samuels, Szabadi, 2008). Wzrost pobudzenia jest ściśle powiązany ze zwiększeniem

częstotliwości wyładowań miejsca sinawego (Aston-Jones, Cohen 2005). Skutkuje ono zwiększeniem elektroencefalograficznych symptomów uważności (*alertness*) (Berridge, Foote, 1991) oraz hamuje występowanie fazy REM, wpływając na sen (Hou, Manns, Jones, 2002). Podawanie do miejsca sinawego agonistów receptora α_2 powoduje jego inaktywację, która następnie prowadzi do uspienia (Berridge, 2008).

Obiektywne wskaźniki pobudzenia fizjologicznego pokrywają się ze wskaźnikami wysiłku poznawczego i konstrukty te bywają stosowane wymiennie, co utrudnia ich rozgraniczenie (Fairclough, Houston, 2004). Istnieje jednak możliwość analizy subiektywnie odczuwanego pobudzenia fizjologicznego, przybliżając ten wskaźnik do subiektywnie odczuwanego stresu (Revelle, Loftus, 2014). Można w tym celu wykorzystywać skale analogowe lub ankiety (Thibodeau, Gómez-Pérez, Asmundson, 2012). Co ciekawe, subiektywnie odczuwane pobudzenie fizjologiczne jest nawet wyżej skorelowane z wieloma obiektywnymi jego miarami niż one same między sobą (Thayer, 1989). Zależność między pobudzeniem fizjologicznym a procesami poznawczymi ma charakter dwukierunkowy: pobudzenie reguluje przebieg funkcji poznawczych, ale jest także generowane we wzmożonym stopniu podczas wysiłku poznawczego (Peters i in., 1998). Wpływ pobudzenia na przebieg procesów poznawczych jest regulowany przez gęste projekcje z miejsca sinawego do kory mózgowej oraz jąder innych układów neurotransmisyjnych (Sara, Hervé-Minvielle, 1995). Badania z wykorzystaniem fMRI wykazują, iż kora przedczołowa odpowiada na bodźce nacechowane emocjonalnie w inny sposób niż na pobudzenie, co przekłada się na przebieg procesów pamięciowych (Dolcos, LaBar, Cabeza, 2004). Osoby badane łatwiej odpamiętują informacje zapamiętywane w stanie podwyższonego pobudzenia, a mediatorami tego efektu są m.in. produkty aktywności osi HPA (Cahill, McGaugh, 1998). Pojawienie się pobudzenia prowokuje też realokację zasobów poznawczych w zadaniach uwagowych i uczestniczy w regulacji sposobu, w jaki interpretowane są informacje zwrotne ze środowiska (Urry i in., 2009). Aktywność współczulna podczas przetwarzania informacji jest też odzwierciedleniem zmieniającego się zapotrzebowania mózgu na energię wymaganą do wykonania zadania (Jennings, Nebes, Brock, 1988). Regulacja pobudzenia przez procesy poznawcze, poza typowym charakterem lokalnym wynikającym z interpretacji bodźców, może mieć długotrwałe skutki. Podczas wysiłku poznawczego tendencja do ruminacji oraz mniejsze zasoby uwagowe powodują przedłużanie się czasu trwania fizjologicznych korelatów pobudzenia, co zwiększa ryzyko chorób stresopochodnych (Gerin i in., 2006). Wysiłek poznawczy i pobudzenie fizjologiczne są zatem procesami o rozmytych granicach, a jednocześnie nierozzerwalnie powiązanymi. Celem niniejszego artykułu była analiza reaktywności obwodowych systemów katecholaminergicznych w warunkach pobudzenia fizjologicznego oraz w różnych typach wysiłku poznawczego.

2. OSOBY BADANE I PROCEDURA BADAWCZA

Utworzono dwie grupy osób badanych. W pierwszej z nich znalazło się 31 studentów drugiego roku psychologii, od których dwukrotnie pobrano próbki śliny. Pierwszą przed egzaminem (egzamin z neuropsychologii procesów poznawczych), a drugą w dniu nieobciążonym istotnymi czynnikami stresogennymi. Grupa składała się z 29 kobiet oraz 2 mężczyzn, których wiek wahał się od 19 do 22 lat ($M = 20,35$; $SD = 0,61$).

Drugą grupę utworzono z 30 studentów łódzkich uczelni wyższych, z wyłączeniem studentów psychologii, 19 kobiet oraz 11 mężczyzn, których wiek wahał się od 20 do 27 lat ($M = 22,68$; $SD = 1,96$).

Osoby badane zostały poinstruowane, aby na 24 godziny przed każdym poborem wstrzymać się od picia kawy, przyjmowania nikotyny lub innych substancji psychoaktywnych. Wszystkich uczestników poinformowano także o konieczności snu przed dniem eksperymentu oraz wstrzymania się od jedzenia na 2 godziny przed poborem śliny. Egzamin odbywał się o godzinie 10:00. Aby uniknąć wpływu dodatkowego wysiłku poznawczego, studenci zostali wcześniej poinstruowani o wymogu wstrzymania się od nauki w dniu egzaminu.

Pierwsza grupa badanych wypełniła Kwestionariusz Pobudzenia Fizjologicznego (ang. *Physiological Arousal Questionnaire – PAQ*) (Dieleman i in., 2010) zarówno przed egzaminem, jak i w dniu nieobciążonym czynnikami stresogennymi. Kwestionariusz został zmodyfikowany w porównaniu do pierwotnej wersji poprzez zmianę skali odpowiedzi z dziewięciopunktowej na pięciopunktową w celu zmniejszenia tendencji centralnej odpowiedzi. Po wypełnieniu kwestionariuszy zbierano próbki śliny (ok. 2 ml).

Studenci z drugiej grupy uczestniczyli w dwóch spotkaniach, na których wykonywali komputerowe testy poznawcze. Podczas pierwszego z nich przeprowadzono zadanie typu Go/Nogo (ang. *Continuous Performance Go/Nogo Task*) zgodnie z procedurą opisaną przez Bezdjian i in. (2009) oraz test ANT (ang. *Attentional Network Task*) stworzony przez Fan i in. (2005). Podczas testu ANT zadaniem osób badanych jest naciskanie jednego z dwóch przycisków – odpowiadającego kierunkowi strzałki wyświetlającej się na ekranie (prawo – lewo). Wykorzystane w teście wskazówki oraz dystraktory powodują, iż umożliwia on badanie wydajności podtrzymywania uwagi, wykorzystywania informacji zwrotnych i rozwiązywania konfliktu między bodźcami. Podczas drugiego spotkania przeprowadzono test decyzji leksykalnej (ang. *Lexical Decision Task – LDT*), w którym zadaniem osób badanych było rozstrzygnięcie, czy wyświetlany ciąg znaków stanowi słowo czy pseudosłowo. Kolejny, test kropek (ang. *Dot Judgment Task – DJT*), wymagał od uczestników, aby szybko ocenili, czy więcej kropek zostało wyświetlone po prawej, czy po lewej stronie ekranu. W ostatnim zadaniu, porównywania wzorów (ang. *Pattern Comparison Task – PCT*),

eksponowano dwa wzory z kropek. Zadaniem osób badanych była decyzja, czy wzory te są różne czy identyczne. Wykonanie wszystkich zadań na obu spotkaniach wymagało około 40 minut, zaś po ich zakończeniu uczestnicy wypełniali kwestionariusz PAQ. Próbkę śliny pobierano 5, 15 i 45 minut po zakończeniu testów poznawczych.

We wszystkich eksperymentach próbki śliny po pobraniu umieszczano w pojemniku transportującym w temperaturze około $-16\text{ }^{\circ}\text{C}$, a następnie przenoszono do zamrażarki ($-75\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Wszystkie testy komputerowe zostały przeprowadzone za pomocą oprogramowania *Psychology Experiment Building Language* (Mueller, Piper, 2014), z instrukcjami przetłumaczonymi na język polski. Do wykonania analiz statystycznych użyto programu IBM SPSS Statistics 20.

Do analizy próbek śliny wykorzystano wysokosprawną chromatografię cieczową z detekcją elektrochemiczną. Z każdej próbki pobrano 100 μl materiału i odbiałczono, dodając 50 μl 0,14 M kwasu nadchlorowego (HClO_4) zawierającego 0,4 mM pirosiarczynu sodu jako antyoksydantu. Po odwirowaniu ($10000 \times \text{g}$, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, 15 min) zebrany supernatant przeniesiono do próbek chromatograficznych i umieszczono w komorze automatycznego dozownika systemu HPLC. Następnie, 30 μl z każdej próbki kolejno poddawano analizie chromatograficznej. Zastosowano kolumnę analityczną Waters, ODS-1 ($250 \times 4,6\text{ mm}$ i $5\text{ }\mu\text{m}$ średnicy ziaren złoża), chronioną przedkolumną Lichrospher 100 RP-18, $4 \times 4\text{ mm}$, rozmiar ziaren $5\text{ }\mu\text{m}$ (Agilent Technology). Faza ruchoma składała się z roztworu 0,15 M diwodofosforanu sodu, 0,1 mM EDTA, 0,5 mM soli sodowej kwasu oktanosulfonowego, 10–12% metanolu (v/v) i 5 mM chlorku litu; pH fazy mobilnej zostało ustalone na 3,4 za pomocą kwasu ortofosforowego. Tak przygotowany roztwór przefiltrowano przez filtr bakteriologiczny, o średnicy porów $0,22\text{ }\mu\text{m}$ (Sigma, USA). Szybkość przepływu ustalono na 1,4 ml/min, temperaturę utrzymywano na poziomie $30\text{ }^{\circ}\text{C}$. Stężenia substancji zostały obliczone na podstawie wysokości pików chromatograficznych z wykorzystaniem programu ChemStation, Rev. B.03.02, Agilent Technologies.

Protokół doświadczenia został zaakceptowany przez Komisję Etyczną Uniwersytetu Łódzkiego (12/KBBN-UŁ/I/20142). Pisemne oświadczenie o świadomej zgodzie uzyskano od wszystkich osób badanych.

W analizach statystycznych różne liczebności grup wynikają z niestuprocentowej detekcji analizowanych substancji. Z powodu zanieczyszczenia wykluczono z analizy próbki pobrane od dwóch osób podczas pierwszego eksperymentu poświęconego wysiłkowi poznawczemu.

Przedstawione w niniejszej pracy dane dotyczące noradrenaliny oraz kwestionariusza PAQ zostały wykorzystane uprzednio w złożonej do recenzji i opublikowania pracy Rudnicki, Rutkowska, Wieczorek (2015), gdzie pełniły rolę pomocniczą w analizie stężeń MHPG.

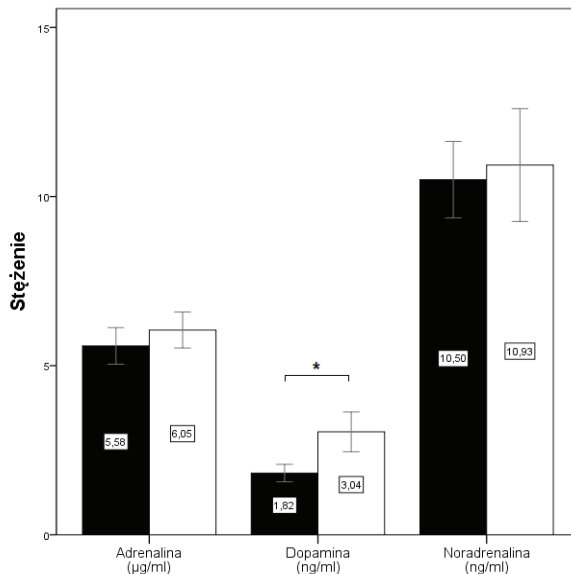
3. WYNIKI

Wszystkie średnie wartości zostały podane wraz z odchyleniem standardowym. Test *t*-Studenta dla prób zależnych wykorzystano do porównania stężeń katecholamin i wyników PAQ między warunkiem egzaminu oraz zwykłym dniem, a także wyników PAQ między dwoma eksperymentami dotyczącymi procesów poznawczych. Analiza wariancji ANOVA posłużyła do weryfikacji skutków wysiłku poznawczego na poziom katecholamin. Ze względu na wysoką odporność statystyki *F* na odchylenia od normalności rozkładu (Szymczak, 2008) odstąpiono od jego sprawdzania.

Subiektywnie odczuwane pobudzenie fizjologiczne mierzone kwestionariuszem PAQ było istotnie wyższe, $t(30) = 9,28$; $p < 0,0001$, u studentów przed egzaminem ($16,29 \pm 3,48$) niż zwykłego dnia ($10,32 \pm 2,83$). Nie znaleziono różnic, $t(29) = 1,32$; $p = 0,20$, między wynikami PAQ na dwóch spotkaniach poznawczych (pierwsze: $11,90 \pm 3,59$; drugie: $11,10 \pm 3,19$).

Stwierdzono istotną korelację między poziomem noradrenaliny przed egzaminem i wynikami PAQ, $r(25) = 0,44$; $p < 0,05$. Pozostałe substancje nie wykazywały współzależności z subiektywnie odczuwanym pobudzeniem fizjologicznym w żadnym wariancie eksperymentalnym.

Spośród trzech analizowanych substancji przed egzaminem tylko poziom dopaminy różnił się istotnie w porównaniu do zwykłego dnia, $t(12) = -2,57$; $p < 0,05$, w którym był wyższy niż w sytuacji stresowej (rys. 1).



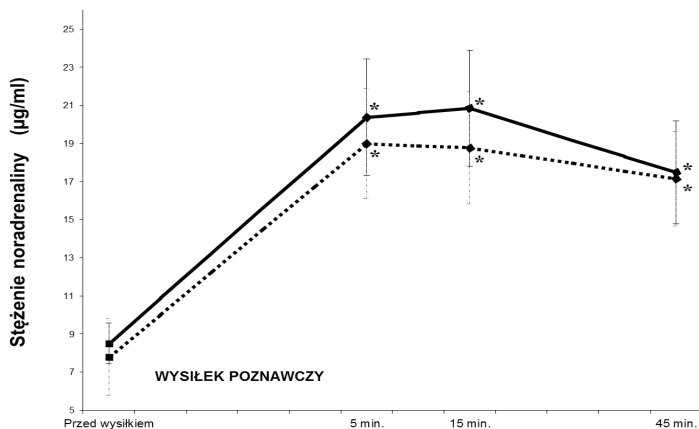
Rysunek 1. Poziomy analizowanych katecholamin w grupie studentów przed egzaminem (czarne słupki) oraz zwykłego dnia (białe słupki) Średnie \pm SD; * test *t*-Studenta dla zmiennych zależnych: $p < 0,05$.

Źródło: opracowanie własne.

Nie wykryto żadnych różnic w stężeniach badanych substancji pomiędzy dwoma spotkaniami poznawczymi. Analiza wariancji z powtarzanymi pomiarami wykazała istotny wpływ wysiłku poznawczego w obu spotkaniach na poziomy noradrenaliny [pierwsze spotkanie: $F(3, 23) = 7,59; p < 0,01; \eta^2 = 0,5$; drugie spotkanie: $F(3, 26) = 5,64, p < 0,01; \eta^2 = 0,39$], adrenaliny [pierwsze spotkanie: $F(3, 25) = 16,91; p < 0,001; \eta^2 = 0,67$; drugie spotkanie: $F(3, 27) = 8,0; p < 0,01; \eta^2 = 0,47$] i na pierwszym spotkaniu dla dopaminy [pierwsze spotkanie: $F(3, 13) = 6,77; p = 0,05; \eta^2 = 0,61$; drugie spotkanie: $F(3, 11) = 1,29, p = 0,33$]. Dynamikę uwalniania/wydzielania dla poszczególnych substancji przedstawiono na rys. 2–4.

W grupie poddanej wysiłkowi poznawczemu wykryto istotne różnice międzypłciowe w bazowych poziomach noradrenaliny [pierwsze spotkanie: $t(25) = -2,61; p < 0,05$; drugie spotkanie: $t(27) = -2,33; p < 0,05$] i adrenaliny [pierwsze spotkanie: $t(26) = -2,82; p < 0,05$; drugie spotkanie: $t(28) = -3,16; p < 0,05$] (rys. 5). Mężczyźni konsekwentnie wykazują wyższe poziomy tych substancji. Nie stwierdzono natomiast różnic w tempie ekskrecji badanych substancji między kobietami a mężczyznami, a zatem po wysiłku poznawczym wielkość różnic międzypłciowych w stężeniach analizowanych substancji pozostawała stała. W grupie stresu egzaminacyjnego znalazło się natomiast tylko 2 mężczyzn, co uniemożliwiło przeprowadzenie podobnych porównań.

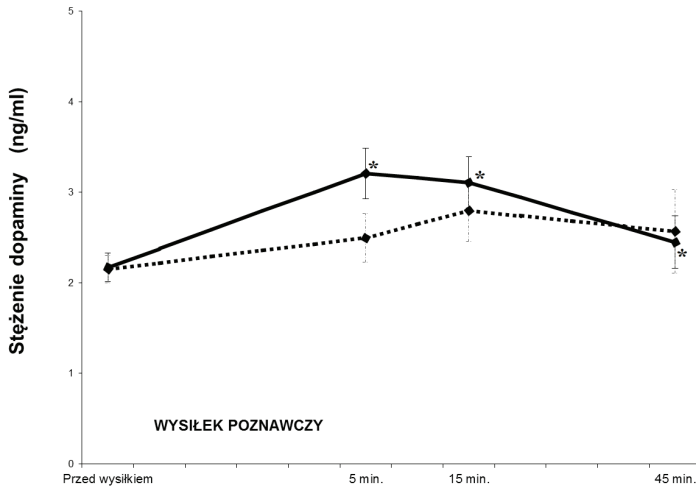
Ze względu na obecność rytmu dobowego w wydalaniu katecholamin u człowieka (Amin, Friedhoff, 1997), postanowiono zbadać w grupie poddanej wysiłkowi poznawczemu ewentualny wpływ godziny przeprowadzenia badania na poziomy analizowanych substancji. Nie odnaleziono żadnych istotnych statystycznie korelacji między godzinami badań a poziomami bazowymi substancji ani dynamiką ich uwalniania.



Rysunek 2. Zmiany stężenia noradrenaliny w grupie wysiłku poznawczego

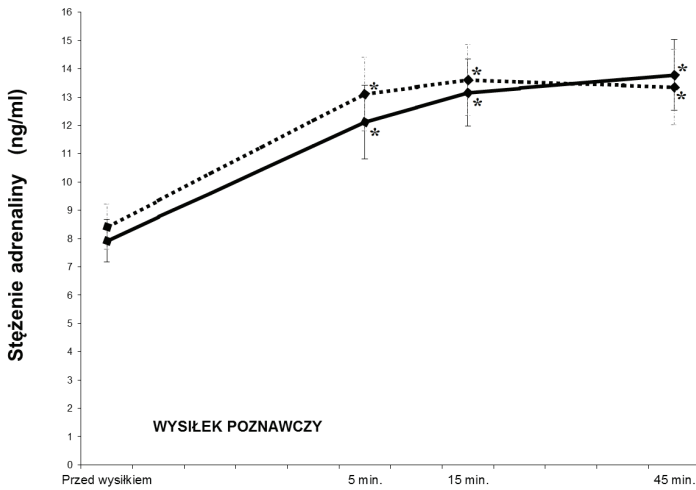
Gwiazdką oznaczono poziomy różne od poziomowi bazowemu; linią ciągłą – pierwsze spotkanie; przerywaną drugie spotkanie; * ANOVA z powtarzanymi pomiarami: $p < 0,05$.

Źródło: opracowanie własne.



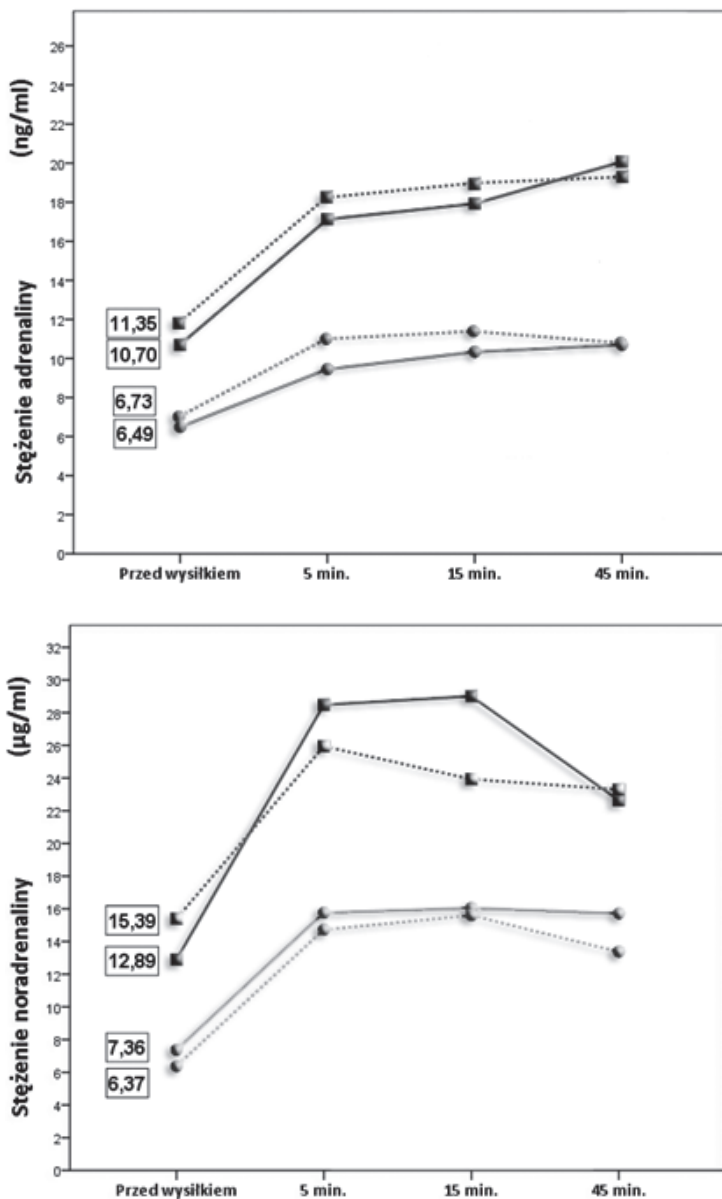
Rysunek 3. Zmiany stężenia dopaminy w grupie wysiłku poznawczego
Objaśnienia: jak do rys. 2.

Źródło: opracowanie własne.



Rysunek 4. Zmiany stężenia adrenaliny w grupie wysiłku poznawczego
Objaśnienia: jak do rys. 2.

Źródło: opracowanie własne.



Rysunek 5. Różnice międzypłciowe w poziomach adrenaliny i noradrenaliny

Kwadratowymi punktami zaznaczono mężczyzn, okrągłymi – kobiety; linią ciągłą – pierwsze spotkanie, przerywaną drugie spotkanie; w ramach podano średnie stężenie dla danej płci i spotkania przed wysiłkiem; poziomy badanych substancji różniły się istotnie między płciami w każdym punkcie czasowym – ANOVA z powtarzаныmi pomiarami: $p < 0,05$.

Źródło: opracowanie własne.

4. DYSKUSJA

Katecholaminy i ich metabolity są często wykorzystywane jako markery biologiczne w badaniach psychologicznych. W literaturze występuje kilka częściowo pokrywających się konstruktów teoretycznych dotyczących wykonywania zadań poznawczych. Posiadanie przez nie identycznych operacjonalizacji utrudnia interpretację wyników badań. Część badaczy opisuje tzw. *mental stress* (Boyle i in., 2014), choć można się spotkać także z *mental effort* (Howells, Stein, Russell, 2010), *cognitive stress* (Leistad i in., 2007) czy wreszcie *cognitive effort* (Ansari, Derakshan, 2011). Wśród testów wykonywanych w tego rodzaju badaniach najczęściej stosowano Test Stroopa (Fairclough, Houston, 2004; Okamura i in., 2010; Schommer, Hellhammer, Kirschbaum, 2003), uważany za szczególnie skuteczne narzędzie wywołujące aktywność układu współczulnego (Hjemdahl i in., 1983). Konflikt słowo–kolor jest wówczas traktowany jako stresor. Wydaje się, iż konstrukty stresu i wysiłku poznawczego są w literaturze traktowane wymiennie.

Wykonywanie testów poznawczych podnosi poziom adrenaliny (Åkerstedt i in., 1983; Fibiger, Evans, Singer, 1986; Wilkinson i in., 1998), podczas gdy wyniki dotyczące noradrenaliny są sprzeczne i wahają się od spadków (Jørgensen, Bönlökke, Ristensen, 1985), poprzez brak zmian (Leistad i in., 2007; Sugimoto, Kanai, Shoji, 2009) do wzrostów (Åkerstedt i in., 1983; Januszewicz i in., 1979; Sothmann i in., 1988). Dotychczasowe badania wskazują, iż obwodowe stężenie dopaminy jest niewrażliwe zarówno na ostre stresory (Bassett, Marshall, Spillane, 1987), jak i na wysiłek poznawczy (Fibiger, Evans, Singer, 1986). Natomiast poziom metabolitów dopaminy spada po wysiłku poznawczym, jednak pozytywnie koreluje z jakością wykonania testów (Nagy i in., 2007; Sumiyoshi i in., 1998). Wyniki te oznaczają, iż stosowanie katecholamin jako markerów biologicznych w badaniach psychologicznych staje się problematyczne. Charakter zależności między stresem, wysiłkiem poznawczym a sekrecją tych substancji jest bowiem skomplikowany. Celem niniejszych badań było ustalenie, czy poziom noradrenaliny, adrenaliny i dopaminy reaguje na stresor społeczny, jaki stanowi egzamin oraz na wysiłek poznawczy.

W grupie stresu egzaminacyjnego nie wykryto zmian w poziomie noradrenaliny i adrenaliny w porównaniu do zwykłego dnia. Jednak poziom subiektywnie odczuwanego pobudzenia okazał się pozytywnie skorelowany ze stężeniem noradrenaliny, i to tylko przed egzaminem. W dostępnej literaturze nie odnaleziono badań, które miałyby podobny wynik. Zgłaszane przez osoby badane odczuwane pobudzenie było już w przeszłości powiązane z elektroencefalograficznymi miarami pobudzenia (Howells, Stein, Russell, 2010), co stanowi argument na rzecz trafności tego rodzaju kwestionariuszy. Okazuje się jednak, iż mimo wysokiego odczuwanego pobudzenia, średni poziom badanych substancji nie stanowi dobrego markera dla stresorów psychospołecznych. Korelacja z poziomem noradrenaliny sugeruje, iż być może wielokrotne pomiary definiujące indywidualną

dynamikę uwalniania mogłyby ujawnić efekt stresującej sytuacji. Również prze-waga liczby kobiet w grupie badanej mogła zaburzyć rezultaty, szczególnie kwe-stionariuszowe, ze względu na istniejące różnice międzypłciowe w percepcji sytuacji stresowej i metodach radzenia sobie z nią (Kirschbaum i in., 1995), od-zwierciedlone w wyższych poziomach analizowanych katecholamin u mężczyzn (Frankenhauser i in., 1978). Wynika to z faktu, iż aktywność systemów katecho-laminergicznych podlega różnicom międzypłciowym (Blennow i in., 1993), co potwierdzono również w tym badaniu (rys. 5). Wykryty poziom dopaminy okazał się wyższy zwykłego dnia niż przed egzaminem. Wynik ten jest spójny z prze-szłymi badaniami, w których stwierdzono, iż ostre stresory nie powodują zmian jej stężenia (Bassett, Marshall, Spillane, 1987) lub go obniżają (Januszewicz i in., 1979), zaś wyższy poziom dopaminy okazał się powiązany ze zmniejszającym się poziomem stresu ogólnego (Field i in., 2005). Mediatorem tego efektu może być dopaminergiczna regulacja układu krwionośnego (Amenta i in., 2002).

Wysiłek poznawczy, zarówno dotyczący funkcji wykonawczych na pierw-szym spotkaniu, jak i niezróżnicowany na drugim, powodował wzrost poziomu noradrenaliny i adrenaliny. Stężenie dopaminy lekko wzrosło tylko na pierwszym spotkaniu. Te wyniki są charakterystyczne w przypadku adrenaliny, której poziom rośnie zarówno po wysiłku poznawczym (Wilkinson i in., 1998), jak i fizycznym (Schwab, Heubel, Bartels, 1992), co może być interpretowane jako odzwiercie-dlenie wzrostu zapotrzebowania energetycznego organizmu w obliczu zadania (Fairclough, Houston 2004). Nie było podstaw, aby spodziewać się wzrostu po-ziomu dopaminy i rzeczywiście jest on niewielki. Może to wynikać z faktu, iż po-ziomu noradrenaliny i dopaminy są ze sobą ściśle powiązane (LeBlanc, Duchar-me, 2007), co zostało potwierdzone również w niniejszym badaniu, zważywszy iż na obu spotkaniach poziom dopaminy korelował z poziomem noradrenaliny nawet wyżej, niż różne punkty czasowe dla noradrenaliny między sobą (pierw-sze spotkanie: $r(16) = 0,81$; $p < 0,001$; drugie spotkanie: $r(14) = 0,65$; $p < 0,05$). Jedną z przyczyn tego faktu może być silna dopaminergiczna modulacja nerwu błędnego (Amenta i in., 2002), który z kolei unerwia jądro pasma samotnego, bę-dące jednym z głównych jąder noradrenergicznych biorących udział w modulacji aktywności współczulnej (Berthoud, Neuhuber, 2000).

Dotychczasowe doniesienia dotyczące noradrenaliny w wysiłku poznaw-czym zdają się prezentować sprzeczne rezultaty. W niniejszym badaniu zaobser-wowano wzrost jej stężenia w obu spotkaniach poświęconych testom poznaw-czym. Wydaje się to potwierdzać wyniki uzyskane przez Åkerstedt i in. (1983) oraz Sothmanna i in. (1988). Kluczową różnicą między badaniami raportującymi wzrosty poziomu noradrenaliny a resztą są zastosowane techniki wywoływania wysiłku poznawczego. W badaniach Januszewicza i in. (1979) oraz Sugimoto, Kanai, Shoji (2009) zastosowano test Uchidy-Kraepelina (UKT), który, jak do-nosi Sugimoto i in. (2009), okazał się nieskuteczny w wywołaniu jakiegokolwiek oczekiwanej reakcji fizjologicznej (analizowano hormon adrenokortykotropowy,

alfa amylazę, chromograninę A oraz immunoglobulinę A). Nawet wrażliwy na wysiłek poznawczy metabolit noradrenaliny (MHPG) nie zmienia swojego stężenia wskutek wykonywania tego testu (Anno, 2006; Horiuchi i in., 2010; Li i in., 2004). Natomiast w eksperymencie Januszewicza i in. (1979) test UKT był połączony ze stresorem w postaci głośnego dźwięku, co uniemożliwia jednoznaczną interpretację zaobserwowanych w tym badaniu wzrostów poziomu noradrenaliny w kontekście wysiłku poznawczego. W eksperymentach Åkerstedt i in. (1983) oraz Sothmanna i in. (1988) wykorzystano paradygmat Stroopa, a zaobserwowany w nich wzrost stężeń noradrenaliny jest spójny z badaniami nad jej metabolitami, w których ten rodzaj testów zawsze wywołuje podwyższenie obserwowanych poziomów MHPG (Horiuchi i in., 2010; Okamura i in., 2010; Tsuda A., Yajima, Tsuda S., 2000; Yajima i in., 2002). Natomiast w badaniach Leistad i in. (2007) zadanie wykonywane przez uczestników było specjalnie zaprojektowane, aby wywoływać niski poziom wysiłku, bowiem miał on odzwierciedlać poziom trudności typowych codziennych czynności. Zatem zaobserwowany w tamtym badaniu brak zmian stężenia noradrenaliny był wynikiem spodziewanym. W niniejszym eksperymencie testy funkcji wykonawczych wywołały podniesienie poziomu noradrenaliny w równym stopniu, co testy innych funkcji poznawczych. W dostępnej literaturze nie odnaleziono zaś przeszłych badań, które wykorzystywałyby testy podobne do wykorzystanych tutaj LDT, PCT, czy DJT. Dotychczasowe wyniki wskazują zatem, iż noradrenalina jest dobrym markerem wysiłku poznawczego, w szczególności tego związanego z funkcjami wykonawczymi. Konieczne są natomiast dalsze badania w kierunku rozszyfrowania zależności między rodzajem wykonywanych testów a reaktywnością układu współczulnego.

Jednym z ograniczeń niniejszego badania był brak obiektywnych miar pobudzenia fizjologicznego i konieczność polegania na wysokiej korelacji między nimi a subiektywnym jego odczuciem. Należy w tym miejscu podkreślić, iż u osób badanych w eksperymentach poznawczych nie stwierdzono podwyższonego, subiektywnie odczuwanego pobudzenia fizjologicznego ani nie wykryto żadnych korelacji między nim a stężeniami badanych substancji, które odzwierciedlają aktywność obwodowego układu nerwowego. Problem przedstawionych analiz może stanowić również brak możliwości bezpośrednich porównań pomiędzy grupą stresu egzaminacyjnego a grupą poddaną wysiłkowi poznawczemu i konieczność traktowania ich jako badania równoległe.

Podsumowując, wyniki przeprowadzonych eksperymentów wskazują na ugruntowaną przydatność adrenaliny i noradrenaliny jako markerów aktywności współczulnej w badaniach dotyczących wysiłku poznawczego. Sugerują również możliwą wysoką przydatność oceny zmian stężenia noradrenaliny w badaniach nad stresem. Do wiarygodnej oceny tego wskaźnika konieczne są wielokrotne pomiary oraz analiza indywidualnej dynamiki uwalniania noradrenaliny u osób badanych. Nawet wówczas taka technika może być łatwiejsza do wykonania na dużej grupie uczestników niż inne pomiary pobudzenia fizjologicznego.

BIBLIOGRAFIA

- Åkerstedt T., Gillberg M., Hjemdahl P., Sigurdson K., Gustavsson I., Daleskog M., Pollare T. (1983). Comparison of urinary and plasma catecholamine responses to mental stress. *Acta Physiologica Scandinavica*, 117 (1), 19–26.
- Amenta F., Ricci A., Tayebati S. K., Zaccheo D. (2001). The peripheral dopaminergic system: morphological analysis, functional and clinical applications. *Italian journal of anatomy and embryology – Archivio italiano di anatomia ed embriologia*, 107 (3), 145–167.
- Amin F., Friedhoff A. J. (1997). Plasma HVA as a Tool to Investigate Presynaptic Brain Dopaminergic Activity. [W:] F. Amin, A. J. Friedhoff (red.), *Plasma HVA in Schizophrenia* (s. 1–15). Washington: American Psychiatric Press.
- Anno N. (2006). Changes of mental stress reactivity during menstrual cycle. *Journal of Kurume Medical Association*, 69 (1), 14.
- Ansari T. L., Derakshan N. (2011). The neural correlates of cognitive effort in anxiety: Effects on processing efficiency. *Biological Psychology*, 86 (3), 337–348.
- Apfel B. A., Otte C., Inslicht S. S., McCaslin S. E., Henn-Haase C., Metzler T. J., Marmar C. R. (2011). Pretraumatic prolonged elevation of salivary MHPG predicts peritraumatic distress and symptoms of post-traumatic stress disorder. *Journal of Psychiatric Research*, 45 (6), 735–741.
- Aston-Jones G., Cohen J. D. (2005). An integrative theory of locus coeruleus-norepinephrine function: Adaptive gain and optimal performance. *Annual Reviews Neuroscience*, 28, 403–450.
- Bamberger C. M., Schulte H. M., Chrousos G. P. (1996). Molecular determinants of glucocorticoid receptor function and tissue sensitivity to glucocorticoids. *Endocrine Reviews*, 17 (3), 245–261.
- Bassett J. R., Marshall P. M., Spillane R. (1987). The physiological measurement of acute stress (public speaking) in bank employees. *International Journal of Psychophysiology*, 5 (4), 265–273.
- Berridge C. W. (2008). Noradrenergic modulation of arousal. *Brain Research Reviews*, 58 (1), 1–17.
- Berridge C. W., Foote S. L. (1991). Effects of locus coeruleus activation on electroencephalographic activity in neocortex and hippocampus. *The Journal of Neuroscience*, 11 (10), 3135–3145.
- Berridge C. W., Waterhouse B. D. (2003). The locus coeruleus – noradrenergic system: Modulation of behavioral state and state-dependent cognitive processes. *Brain Research Reviews*, 42 (1), 33–84.
- Berthoud H. R., Neuhuber W. L. (2000). Functional and chemical anatomy of the afferent vagal system. *Autonomic Neuroscience*, 85 (1), 1–17.
- Bezdjian S., Baker L. A., Lozano D. I., Raine A. (2009). Assessing inattention and impulsivity in children during the Go/NoGo task. *The British Journal of Developmental Psychology*, 27 (2), 365–83.
- Blennow K., Wallin A., Gottfries C. G., Karlsson I., Månsson J. E., Skoog I., Svennerholm L. (1993). Cerebrospinal fluid monoamine metabolites in 114 healthy individuals 18–88 years of age. *European Neuropsychopharmacology*, 3 (1), 55–61.
- Boyle S. H., Matson W. R., Velazquez E. J., Samad Z., Williams Jr R. B., Sharma S., Jiang W. (2014). Metabolomics analysis reveals insights into biochemical mechanisms of mental stress-induced left ventricular dysfunction. *Metabolomics*, 1–12.
- Cahill L., McGaugh J. L. (1998). Mechanisms of emotional arousal and lasting declarative memory. *Trends in Neurosciences*, 21 (7), 294–299.
- Dieleman G. C., van der Ende J., Verhulst F. C., Huizink A. C. (2010). Perceived and physiological arousal during a stress task: Can they differentiate between anxiety and depression? *Psychoneuroendocrinology*, 35 (8), 1223–1234.
- Dolcos F., LaBar K. S., Cabeza R. (2004). Dissociable effects of arousal and valence on prefrontal activity indexing emotional evaluation and subsequent memory: An event-related fMRI study. *Neuroimage*, 23 (1), 64–74.

- Drebing C. J., Freedman R., Waldo M., Gerhardt G. A. (1989). Unconjugated methoxylated catecholamine metabolites in human saliva. Quantitation methodology and comparison with plasma levels. *Biomedical chromatography*, 3 (5), 217–220.
- Eisenhofer G., Kopin I. J., Goldstein D. S. (2004). Catecholamine metabolism: A contemporary view with implications for physiology and medicine. *Pharmacological Reviews*, 56 (3), 331–349.
- Fairclough S. H., Houston K. (2004). A metabolic measure of mental effort. *Biological Psychology*, 66 (2), 177–190.
- Fan J., McCandliss B. D., Fossella J., Flombaum J. I., Posner M. I. (2005). The activation of attentional networks. *NeuroImage*, 26 (2), 471–9.
- Fibiger W., Evans O., Singer G. (1986). Hormonal responses to a graded mental workload. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 55 (4), 339–343.
- Field T., Hernandez-Reif M., Diego M., Schanberg S., Kuhn C. (2005). Cortisol decreases and serotonin and dopamine increase following massage therapy. *International Journal of Neuroscience*, 115 (10), 1397–1413.
- Frankenhaeuser M., Dunne E., Lundberg U. (1976). Sex differences in sympathetic-adrenal medullary reactions induced by different stressors. *Psychopharmacology*, 47 (1), 1–5.
- Frankenhaeuser M., von Wright M. R., Collins A., von Wright J., Sedvall G., Swahn C. G. (1978). Sex differences in psychoneuroendocrine reactions to examination stress. *Psychosomatic Medicine*, 40 (4), 334–343.
- Galatzer-Levy I. R., Steenkamp M. M., Brown A. D., Qian M., Inslicht S., Henn-Haase C., Otte C., Yehuda R., Neylan T. C., Marmar C. R. (2014). Cortisol response to an experimental stress paradigm prospectively predicts long-term distress and resilience trajectories in response to active police service. *Journal of Psychiatric Research*, 56, 36–42.
- Gerin W., Davidson K. W., Christenfeld N. J., Goyal T., Schwartz J. E. (2006). The role of angry rumination and distraction in blood pressure recovery from emotional arousal. *Psychosomatic Medicine*, 68 (1), 64–72.
- Goldstein D. S. (2010). Catecholamines 101. *Clinical Autonomic Research*, 20 (6), 331–352.
- Gruen R. J., Ehrlich J., Silva R., Schweitzer J. W., Friedhoff A. J. (2000). Cognitive factors and stress-induced changes in catecholamine biochemistry. *Psychiatry Research*, 93, 55–61.
- Hjemdahl P., Freyschuss U., Juhlin-Dannfelt A., Linde B. (1983). Differentiated sympathetic activation during mental stress evoked by the Stroop test. *Acta Physiologica Scandinavica*, 527, 25–29.
- Horiuchi S., Tsuda A., Okamura H., Yajima J., Steptoe A. (2010). Differential elicitation of the salivary 3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol (MHPG) responses by mental stress testing. *Japanese Journal of Behavioral Medicine*, 16, 31–38.
- Howells F. M., Stein D. J., Russell V. A. (2010). Research perceived mental effort correlates with changes in tonic arousal during attentional tasks. *Behavioral and Brain Functions*, 6, 39.
- Hou Y. P., Manns I. D., Jones B. E. (2002). Immunostaining of cholinergic pontomesencephalic neurons for α_1 versus α_2 adrenergic receptors suggests different sleep-wake state activities and roles. *Neuroscience*, 114 (3), 517–521.
- Januszewicz W., Sznajderman M., Wocial B., Feltynowski T., Klonowicz T. (1979). The effect of mental stress on catecholamines, their metabolites and plasma renin activity in patients with essential hypertension and in healthy subjects. *Clinical Science*, 57 (5), 229–231.
- Jennings J. R., Nebes R., Brock K. (1988). Memory retrieval in noise and psychophysiological response in the young and old. *Psychophysiology*, 25 (6), 633–644.
- Jørgensen L. S., Bönlokke L., Ristensen N. J. (1985). Plasma adrenaline and noradrenaline during mental stress and isometric exercise in man. The role of arterial sampling. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 45 (5), 447–452.
- Kennedy B., Dillon E., Mills P. J., Ziegler M. G. (2001). Catecholamines in human saliva. *Life Sciences*, 69 (1), 87–99.

- Kirschbaum C., Klauer T., Filipp S. H., Hellhammer D. H. (1995). Sex-specific effects of social support on cortisol and subjective responses to acute psychological stress. *Psychosomatic Medicine*, 57 (1), 23–31.
- Kuchel O. G., Kuchel G. A. (1991). Peripheral dopamine in pathophysiology of hypertension. Interaction with aging and lifestyle. *Hypertension*, 18 (6), 709–721.
- Lake C. R., Chernow B., Feuerstein G., Goldstein D. S., Ziegler M. G. (1984). The sympathetic nervous system in man: Its evaluation and the measurement of plasma NE. *Frontiers of Clinical Neuroscience*, 2, 1–26.
- LeBlanc J., Ducharme M. B. (2007). Plasma dopamine and noradrenaline variations in response to stress. *Physiology and Behavior*, 91 (2), 208–211.
- Leistad R. B., Stovner L. J., White L. R., Nilssen K. B., Westgaard R. H., Sand T. (2007). Noradrenaline and cortisol changes in response to low-grade cognitive stress differ in migraine and tension-type headache. *The Journal of Headache and Pain*, 8 (3), 157–166.
- Li G. Y., Ueki H., Kawashima T., Sugataka K., Muraoka T., Yamada S. (2004). Involvement of the noradrenergic system in performance on a continuous task requiring effortful attention. *Neuropsychobiology*, 50 (4), 336–340.
- McClelland D. C., Ross G., Patel V. (1985). The effect of an academic examination on salivary norepinephrine and immunoglobulin levels. *Journal of Human Stress*, 11, 52–59.
- McClelland D. C., Patel V., Stier D., Brown D. (1987). The relationship of affiliative arousal to dopamine release. *Motivation and Emotion*, 11 (1), 51–66.
- Mitome M., Shirakawa T., Kikuri T., Oguchi H. (1997). Salivary catecholamine assay for assessing anxiety in pediatric dental patients. *The Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 21, 255–259.
- Morilak D. A., Barrera G., Echevarria D. J., Garcia A. S., Hernandez A., Ma S., Petre C. O. (2005). Role of brain norepinephrine in the behavioral response to stress. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 29 (8), 1214–1224.
- Mueller S. T., Piper B. J. (2014). The Psychology Experiment Building Language (PEBL) and PEBL Test Battery. *Journal of Neuroscience Methods*, 222, 250–259.
- Nagy O., Kelemen O., Benedek G., Myers C. E., Shohamy D., Gluck M. A., Kéri S. (2007). Dopaminergic contribution to cognitive sequence learning. *Journal of Neural Transmission*, 114 (5), 607–612.
- Nelson R. J. (2005). *An introduction to behavioral endocrinology*. Sunderland: Sinauer Associates.
- Ng V., Koh D., Chia S. E. (2003). Examination stress, salivary cortisol, and academic performance. *Psychological Reports*, 93 (3f), 1133–1134.
- Okamura H., Tsuda A., Yajima J., Mark H., Horiuchi S., Toyoshima N., Matsuishi T. (2010). Short sleeping time and psychobiological responses to acute stress. *International Journal of Psychophysiology*, 78 (3), 209–214.
- Page M. E., Berridge C. W., Foote S. L., Valentino R. J. (1993). Corticotropin-releasing factor in the locus coeruleus mediates EEG activation associated with hypotensive stress. *Neuroscience Letters*, 164 (1), 81–84.
- Peters M. L., Godaert G. L., Ballieux R. E., van Vliet M., Willemsen J. J., Sweep F. C., Heijnen C. J. (1998). Cardiovascular and endocrine responses to experimental stress: Effects of mental effort and controllability. *Psychoneuroendocrinology*, 23 (1), 1–17.
- Revelle W., Loftus D. A. (2014). The implication of arousal effects for the study of affect and memory. [W:] Christianson S. A. (red.), *The Handbook of Emotion and Memory: Research and Theory* (s. 113–141). New York: Psychology Press.
- Rivier C., Vale W. (1983). Modulation of stress-induced ACTH release by corticotropin-releasing factor, catecholamines and vasopressin. *Nature*, 305, 325–327.
- Rudnicki K., Rutkowska A., Wiczorek M. (2015). *Salivary 3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol (MHPG) elevation after different types of cognitive effort*. Manuskrypt złożony do publikacji w *Applied Psychophysiology and Biofeedback*.

- Samuels E. R., Szabadi E. (2008). Functional neuroanatomy of the noradrenergic locus coeruleus: Its roles in the regulation of arousal and autonomic function part I: Principles of functional organisation. *Current Neuropharmacology*, 6 (3), 235–53.
- Sara S. J., Hervé-Minvielle A. (1995). Inhibitory influence of frontal cortex on locus coeruleus neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92, 6032–6036.
- Schommer N. C., Hellhammer D. H., Kirschbaum C. (2003). Dissociation between reactivity of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis and the sympathetic-adrenal-medullary system to repeated psychosocial stress. *Psychosomatic Medicine*, 65 (3), 450–460.
- Schwab K. O., Heubel G., Bartels H. (1992). Free epinephrine, norepinephrine and dopamine in saliva and plasma of healthy adults. *European Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry: Journal of the Forum of European Clinical Chemistry Societies*, 30 (9), 541–544.
- Smith S. M., Vale W. W. (2006). The role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in neuroendocrine responses to stress. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 8 (4), 383–391.
- Sothmann M. S., Hart B. A., Horn T. S., Gustafson A. B. (1988). Plasma catecholamine and performance associations during psychological stress: Evidence for peripheral noradrenergic involvement with an attention-demanding task. *Human Performance*, 1 (1), 31–43.
- Sugimoto K., Kanai A., Shoji N. (2009). The effectiveness of the Uchida-Kraepelin test for psychological stress: An analysis of plasma and salivary stress substances. *BioPsychoSocial Medicine*, 3 (5).
- Sumiyoshi T., Yotsutsuji T., Kurachi M., Itoh H., Kurokawa K., Saitoh O. (1998). Effect of mental stress on plasma homovanillic acid in healthy human subjects. *Neuropsychopharmacology*, 19 (1), 70–73.
- Szymczak W. (2008). Podstawy statystyki dla psychologów: podręcznik akademicki. Warszawa: Centrum Doradztwa i Informacji Difin.
- Thayer R. E. (1989). *The Biopsychology of Mood and Arousal*. New York: Oxford University Press.
- Thibodeau M. A., Gómez-Pérez L., Asmundson G. J. (2012). Objective and perceived arousal during performance of tasks with elements of social threat: The influence of anxiety sensitivity. *Journal of Behavior Therapy and Experimental Psychiatry*, 43 (3), 967–974.
- Tsuda A., Yajima J., Tsuda S. (2000). Experimental psychological approaches to stress. *Japanese Journal of Stress Science*, 15, 184–191.
- Urry H. L., van Reekum C. M., Johnstone T., Davidson R. J. (2009). Individual differences in some (but not all) medial prefrontal regions reflect cognitive demand while regulating unpleasant emotion. *Neuroimage*, 47 (3), 852–863.
- Weiner H. (1992). *Perturbing the organism: The biology of stressful experience*. Chicago: University of Chicago Press.
- Westphal N. J., Seasholtz A. F. (2006). CRH-BP: the regulation and function of a phylogenetically conserved binding protein. *Frontiers in Bioscience*, 11, 1878–1891.
- Wilkinson D. J., Thompson J. M., Lambert G. W., Jennings G. L., Schwarz R. G., Jefferys D., Esler M. D. (1998). Sympathetic activity in patients with panic disorder at rest, under laboratory mental stress, and during panic attacks. *Archives of General Psychiatry*, 55 (6), 511–520.
- Valentino R. J., Page M., Van Bockstaele E., Aston-Jones G. (1992). Corticotropin-releasing factor innervation of the locus coeruleus region: Distribution of fibers and sources of input. *Neuroscience*, 48 (3), 689–705.
- Yajima J., Tsuda A., Kuwahata T., Yamada S. (2002). Relationship between psychoneuroimmunological responses induced by mental stress testing and general health state in human volunteers. *Journal of Behavioral Medicine*, 8 (1), 17–22.
- Yamamoto T., Nishimura N., Tamiya S. (2010). MHPG measurement in saliva as an indicator of CNS activity. *Clinical Neurophysiology*, 121.

- Yang R. K., Yehuda R., Holland D. D., Knott P. J. (1997). Relationship between 3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol and homovanillic acid in saliva and plasma of healthy volunteers. *Biological Psychiatry*, 42 (9), 821–826.
- Zouhal H., Jacob C., Delamarche P., Gratas-Delamarche A. (2008). Catecholamines and the effects of exercise, training and gender. *Sports Medicine*, 38 (5), 401–423.

KONRAD RUDNICKI, ALEKSANDRA RUTKOWSKA, MAREK WIECZOREK

SALIVARY CATECHOLAMINES IN EXAMINATIONAL STRESS AND COGNITIVE EFFORT

Abstract. In order to determine utility of salivary catecholamines in stress studies, samples were collected from 30 students before an exam and on an ordinary day. Subsequently, to examine the effect of cognitive effort on catecholamines, 31 volunteers, on two days, performed two sets of different cognitive tasks. Noradrenaline, adrenaline and dopamine levels were examined with HPLC-ED. Stressed group shown alleviated levels of dopamine, while levels of other substances remained unchanged. In the second group cognitive effort elicited elevated excretion of all three catecholamines. Given conflicting results from previous literature it appears that salivary adrenaline and noradrenaline might be useful as non-invasive markers of sympathetic activity in psychological research.

Keywords: catecholamines, examinational stress, cognitive effort, salivary markers.