

---

---

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

---

---

**ИЗМЕНЕНИЯ НЕЙРОГУМОРАЛЬНОГО ОТВЕТА НА ОСТРЫЙ  
СТРЕСС У СПОНТАННО-ГИПЕРТЕНЗИВНЫХ КРЫС, ПЕРЕНЕСШИХ  
ДЛИТЕЛЬНУЮ ИЗОЛЯЦИЮ**

© 2025 г. Л. В. Третьякова, А. А. Квичанский, Ю. В. Моисеева,  
В. О. Овчинникова, Д. И. Мамедова, О. А. Недогреева, Н. А. Лазарева,  
М. В. Онуфриев, Н. В. Гуляева, М. Ю. Степаничев\*

*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия*  
*\*E-mail: m\_stepanichev@ihna.ru*

Поступила в редакцию 10.10.2024 г.

После доработки 03.11.2024 г.

Принята к публикации 06.11.2024 г.

Артериальная гипертензия – это серьезное заболевание, характеризующееся устойчивым или периодическим повышением артериального давления, которое может привести к различным осложнениям. В этой работе мы изучали влияние генетически обусловленной артериальной гипертензии у крыс на их адаптацию к длительной изоляции и последующую реакцию на острый стресс, вызванный ограничением подвижности. Самцов крыс линии SHR со спонтанной гипертензией содержали в индивидуальных клетках в течение 14 недель. В сыворотке крови исследовали уровень кортикостерона, глюкозы, про- и противовоспалительных цитокинов, а также оценивали экспрессию генов, связанных с регуляцией стероидогенеза, в надпочечниках. Существенных изменений показателей гипоталамо-гипофизарно-адренортикальной и симпат-адреналовой систем после изоляции выявлено не было. Тем не менее предварительное изолированное содержание значительно повлияло на реакцию на умеренный иммобилизационный стресс, включая экспрессию регуляторных генов *Fkbp5* и *Star* в надпочечниках и содержание провоспалительных цитокинов ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6 в крови, хотя изменения этих показателей были достаточно слабыми. Это может отражать предрасположенность животных, находившихся в условиях изоляции, к развитию умеренных изменений, связанных со стрессом.

*Ключевые слова:* социальная изоляция, гипоталамо-гипофизарно-адренортикальная система, симпат-адреналовая система, надпочечники, стресс, спонтанно-гипертензивная крыса

**DOI:** 10.31857/S0869813925020046, **EDN:** UIWJEU

## ВВЕДЕНИЕ

Гипертония – это состояние, характеризующееся устойчивым или периодическим повышением артериального давления, превышающим нормальный уровень. Это серьезное заболевание, которое может привести к различным осложнениям, включая болезни сердца, головного мозга, почек и печени. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), более 1.28 млрд человек в возрасте от 30 до 79 лет во всем

мире страдают от гипертонии. Сегодня гипертония является одной из ведущих причин смертности. Существует множество факторов риска, которые могут способствовать развитию гипертонии, таких как старение, генетическая предрасположенность, ожирение, малоподвижный образ жизни, диета с высоким содержанием соли, чрезмерное употребление алкоголя и курение табака. Однако точные причины гипертонии до конца не изучены.

Повышенное кровяное давление является нормальным признаком реакции по типу «борись или убегай» на острый стресс. Это повышение кровяного давления носит временный характер и возвращается к нормальному уровню после устранения стрессового раздражителя [1]. Длительный стресс или многократное воздействие стрессовых факторов могут привести к сбою физиологических механизмов, которые обычно позволяют вернуть кровяное давление к нормальному уровню [2]. Психологические стрессоры, такие как стресс на работе, особенности межличностных взаимоотношений, нестабильность жилья и отсутствие социальной поддержки/изоляция, также могут привести к повышению кровяного давления [3, 4].

Социальная изоляция, т.е. отсутствие контактов с другими представителями того же вида, является психологическим и социальным стрессором, который может возникать по разным причинам, например, проживание в одиночестве, одиночное заключение или отторжение индивидуума группой/сообществом [5]. Социальная изоляция – это объективно существующее явление, возникающее в результате ограничения количества контактов с особями того же вида. В то же время отсутствие социальных связей имеет и субъективное измерение, воспринимаемое как чувство одиночества, которое обычно порождает подавленное эмоциональное состояние. Важно отметить, что не всегда чувство одиночества вызвано социальной изоляцией, это подтверждается эпидемиологическими исследованиями [6]. Популяционное исследование показало, что одиночество с течением времени приводит к повышению кровяного давления независимо от возраста, пола, расы, этнической принадлежности или других факторов, таких как действие стресса [7]. Таким образом одиночество оказывает значительное влияние на физическое здоровье, даже если оно напрямую не связано с социальной изоляцией. Напротив, социальная поддержка и интеграция значительно снижали риск развития гипертонии [8].

В экспериментальных исследованиях было установлено, что чувство одиночества у людей среднего возраста связано с усилением реакции на острый стресс. В частности, величина диастолического артериального давления во время реакции на острый психический стресс положительно коррелировала с выраженностью ощущения одиночества у женщин, но не у мужчин [9]. Кроме того, у представителей обоих полов восстановление систолического артериального давления происходило медленнее после выполнения умственной задачи или психосоциального стрессора [10]. В исследовании, проведенном Steptoe с соавт. [11], уровень кортизола при пробуждении положительно коррелировал с выраженностью чувства одиночества у женщин. Однако в другом исследовании, проведенном той же группой, было обнаружено, что уровень кортизола при пробуждении и общая выработка кортизола в течение дня были выше у одиноких представителей обоих полов [12]. Кроме того, у студентов старших курсов уровень кортизола в слюне, измеряемый в течение дня, коррелировал с хроническим ощущением одиночества [13]. Ощущение одиночества положительно коррелировало с уровнем интерлейкина (ИЛ)-6 и антагониста рецептора ИЛ-1Ra при остром стрессе, в то время как с содержанием кортизола коррелировало отрицательно [11]. Интересно, что изменения в биомаркерах воспаления были более выражены у женщин. Хотя результаты этих исследований не вполне согласуются между собой, они свидетельствуют о дисбалансе нейрогуморальной регуляции ответа на стресс у людей, которые испытывают социальную изоляцию или одиночество.

Эксперименты на животных предоставляют уникальную возможность изучить последствия изоляции, которая относится к физическому нарушению социальных контактов между индивидуумами. Подробно исследованы последствия материнской депривации, которая не только влияет на становление различных регуляторных механизмов, но и имеет долгосрочные последствия, проявляющиеся у взрослых особей (подробнее см. [14–16]). Влияние социальной изоляции на взрослых и особенно старых животных изучено в меньшей степени. У самок и самцов степных полевок острая или повторяющаяся кратковременная изоляция в течение 4 недель приводила к значительному повышению уровня кортикостерона (КОРТ), в то время как непрерывная 4-недельная изоляция не вызывала такого эффекта [17]. Социальная изоляция степных полевок была связана с изменениями в экспрессии генов кортикотропин-рилизинг гормона (КРГ) и его рецепторов в гипоталамусе и гипофизе, но не в гиппокампе. Эти изменения не зависели от пола животных [18]. Исследования, проведенные в других лабораториях, также показали, что изоляция с использованием различных протоколов активирует гипоталамо-гипофизарно-адреноректорную реакцию на стресс у разных видов полевок [19–21]. Возможно, эти животные очень чувствительны к изоляции из-за моногамной природы половых отношений и стресса, вызванного разлукой со своим партнером. Таким образом, изоляция самцов или самок может стать серьезным стрессовым фактором.

Крыс и мышей также относят к социальным животным, которых в лабораторных условиях часто содержат небольшими группами по 4–6 особей. Подобно полевым, которых изолировали в возрасте 2–4-х месяцев, большинство экспериментов на взрослых крысах проводят на животных в возрасте 2–3 месяца. Было показано, что хроническая изоляция в течение 21 дня повышает уровень КОРТ и адреноректорного гормона (АКТГ) в плазме крови 3-месячных крыс линии Вистар [22]. Этот эффект связан с повышением уровня катехоламинов в плазме [22] и снижением уровня норадреналина в гипоталамусе и дофамина в гиппокампе [23]. Существует несколько исследований, в которых выявили значительное снижение уровней КОРТ и АКТГ в сыворотке крови, что было связано с гипертрофией надпочечников [24, 25], в то время как в других работах не было выявлено изменений содержания КОРТ в плазме крови после 21-дневного периода изоляции у 2–3-месячных крыс линии Вистар [26]. Златкович и Филипович [27] обнаружили, что уровень КОРТ в плазме крови у 2–3-месячных крыс линии Вистар повышался после 21-дневного периода изоляции. Однако эти изолированные крысы также реагировали повышением КОРТ на острые гетеротипичные стрессоры, такие как иммобилизация. У крыс, которые оставались в своих домашних клетках, удаление партнеров по клетке на ночь было связано с быстрым повышением уровня КОРТ, который достигал максимума через 15 мин и возвращался к исходному уровню через 90 мин [28]. У 1.5-месячных крыс Sprague-Dawley индивидуальное содержание в течение 10 недель приводило к небольшому, но значимому увеличению массы надпочечников, хотя ночная экскреция КОРТ снижалась как у крыс, содержащихся индивидуально, так и в группах [29]. У 18-месячных крыс Sprague-Dawley 12 недель индивидуального содержания были связаны с повышением уровня КОРТ в плазме крови [30]. Аналогичные результаты были получены и для других видов животных [31].

Хроническая изоляция может по-разному влиять на работу надпочечников. Три недели социальной изоляции не приводили к изменению уровня катехоламинов в крови или надпочечниках [22, 23]. При этом снижалась экспрессия генов, кодирующих ферменты, участвующие в биосинтезе катехоламинов, за исключением гена, кодирующего тирозингидроксилазу, экспрессия которого была повышена [32]. Также было повышено содержание белка тирозингидроксилазы, дофамин-β-гидроксилазы и фенилэтанол-амин-N-метилтрансферазы. Транскриптомные исследования, проведенные на молодых крысах в возрасте одного месяца, показали, что в надпочечниках гены, чувствительные к стрессу, были менее экспрессированы после 3 недель изоляции по

сравнению с более интенсивными стрессовыми процедурами, такими как электрошок или умеренный непредсказуемый стресс [33].

Артериальная гипертензия связана с дисфункцией надпочечников. У спонтанно-гипертензивных крыс линии SHR (модель генетически обусловленной эссенциальной гипертензии) аномалия надпочечников включает изменение функционирования хромаффинных клеток в мозговом веществе, обусловленное гиперактивностью областей мозга, которые контролируют симпатический тон, и адренергических преганглионарных нейронов симпатической нервной системы [34]. У крыс SHR с возрастом нарушается стероидогенез и секреция кортикостероидных гормонов [35]. Целью настоящей работы стало выяснение вопроса о том, вызывает ли хроническая социальная изоляция стресс-ответ у стареющих самцов крыс SHR и влияет ли изоляция на реакцию этих животных на действие острого гетеротипичного стрессора.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе использовано 27 самцов крыс линии SHR (питомник «Пушино», филиал Института биологической химии РАН, Пушкино, Московская обл., Россия). Крыс размещали по 3–4 особи в поликарбонатных прозрачных клетках вивария Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН. Животных содержали в условиях 12-часового светового цикла при свободном доступе к пище и воде. Эксперименты начинали по достижении крысами возраста 9–10 месяцев.

Крыс делили случайным образом на две группы. Для исследования последствий изоляции (ИЗО;  $n = 11$ ) их размещали в индивидуальных клетках из непрозрачного полипропилена. Контрольные крысы (СОЦ;  $n = 16$ ) оставались в домашних клетках в группах по 2–3 особи. Клетки с крысами находились в одном помещении у противоположных стен. В течение 14 недель изоляции пища и вода были доступны без ограничений. Массу тела измеряли до начала изоляции и использовали для распределения животных по группам так, чтобы средняя масса тела в группах не отличалась. Масса тела в группе СОЦ составила  $333 \pm 8$  г, а в группе ИЗО –  $348 \pm 8$  г ( $p > 0.2$ ).

До начала периода изоляции у крыс измеряли величину давления крови с использованием плетизмографического метода. Для этого крыс адаптировали к пластиковым домикам за 3 дня до начала измерения. Во время измерения домик с крысой помещали на подогреваемую платформу «Флогистон» (Нейроботикс, Россия) для поддержания стабильной температуры тела. На хвост надевали манжету с датчиком, который был соединен с измерителем давления «Систола» (Нейроботикс, Россия). Измерение проводили с помощью персонального компьютера и программного обеспечения производителя прибора. Проводили 3 измерения с интервалом 10 мин и рассчитывали усредненную величину давления и частоту сердечных сокращений. Средняя величина давления в группе СОЦ составила  $170 \pm 6$  мм рт. ст. при частоте пульса  $423 \pm 6$  уд/мин и в группе ИЗО –  $166 \pm 7$  мм рт. ст. и  $435 \pm 9$  уд/мин соответственно. Статистически значимых различий по этим показателям не было ( $p > 0.2$ ).

Оценку стресс-реактивности проводили по окончании периода изоляции. Для этого случайным образом выбирали 8 крыс из группы СОЦ и 6 из группы ИЗО. Крыс помещали в условия мягкой иммобилизации в тесные пластиковые домики на 60 мин. Для определения содержания КОРТ и глюкозы в крови проводили пункцию хвостовой вены. В течение острого стрессорного воздействия собирали образцы крови трижды: сразу (точка 0 мин) и через 30 и 60 мин после начала иммобилизации. По окончании иммобилизационного стресса животных анестезировали 3%-ным изофлураном и декапитировали.

Уровень глюкозы измеряли в свежей капле крови с помощью тест-полосок и глюкометра One-Touch Select Plus (LifeScan Europe GmbH, Швейцария).

Кровь, собранную из хвостовой вены (200 мкл) или после декапитации (5 мл), после образования сгустка центрифугировали при 1500 g в течение 15 мин. Сыворотку отбирали, аликвотировали, замораживали в жидком азоте и хранили при  $-85^{\circ}\text{C}$  до измерения.

Содержание КОРТ в сыворотке крови, полученной из хвостовой вены в течение стрессорного воздействия, определяли с помощью конкурентного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием наборов «Кортикостерон ИФА крыса» (ХЕМА, Россия) согласно инструкции производителя.

Для анализа провоспалительных и противовоспалительных цитокинов и факторов в крови, полученной после декапитации, измеряли содержание ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, трансформирующего ростового фактора (ТРФ- $\beta$ 1), а также С-реактивного белка. Анализ проводили методом твердофазного ИФА с помощью наборов реактивов #R6000B Rat IL-6 Quantikine ELISA Kit, #DY501 Rat IL-1 beta/IL-1F2 DuoSet ELISA, and #DY1744 Rat C-Reactive Protein/CRP DuoSet ELISA Kit (все Bio-Techne, США) и #SEA124Ra ELISA Kit for Transforming Growth Factor Beta 1 (TGF $\beta$ 1) (Cloud Clone Corp., КНР). Были использованы протоколы предварительной подготовки и измерения, рекомендованные производителями.

Для анализа активности  $\alpha$ -амилазы собирали слюну за две недели до острого стресса и сразу после завершения иммобилизации. Для этого крысам под легким изофлурановым наркозом помещали под язык фрагмент фильтровальной бумаги размером  $5 \times 5$  мм на 10 мин. Пропитанную слюной бумагу помещали в пробирку с 0.9%-ным раствором NaCl для экстракции. После центрифугирования при 1500 g в течение 15 мин в супернатантах определяли активность фермента кинетическим методом при 405 нм с помощью набора реактивов «Амилаза» (#B-8059; «Вектор Бест», Россия) по протоколу производителя. Концентрацию белка оценивали по методу Брэдфорда, используя реагент Coomassie (Bradford) Protein Assay kit (#103162, Thermo Fisher Scientific, США).

Для анализа экспрессии мРНК генов, связанных со стероидогенезом в надпочечниках, органы вынимали после декапитации, очищали, взвешивали, замораживали в жидком азоте и хранили при  $-85^{\circ}\text{C}$  до экстракции РНК. Общую РНК экстрагировали из надпочечников с помощью реактива Extract RNA (#BC032, Евроген, Россия) по протоколу производителя. До проведения синтеза кДНК 2 мкг РНК обрабатывали DNase I (Thermo Fisher Scientific, США) и половину продукта реакции использовали в качестве отрицательного контроля без обратной транскрипции. Вторую половину образца РНК использовали для синтеза кДНК с применением смеси случайных декапраймеров (#SB002, Евроген, Россия) и oligo(dT)-primer (#SB001, «Евроген», Россия). Синтез проводили с помощью набора MMLV RT Kit (#SK021, «Евроген») и RiboCare RNase Inhibitor (#EK005M, «Евроген») в соответствии с протоколом производителя. Продукты реакции обратной транскрипции разбавляли в отношении 1 : 7.

Содержание транскриптов мРНК оценивали с использованием реактивов qPCRMix-HS SYBR+LowROX (#PK156L, «Евроген») по протоколу производителя на амплификаторе нуклеиновых кислот CFX384 (Bio-Rad, США). Проводили анализ содержания мРНК генов *Hk1*, *Pik3c3*, *Mc2r*, *Star*, *Cyp11a1*, *Cyp11b1*, *Hsd11b1*, *Fkbp5*. Последовательности нуклеотидов приведены в табл. 1. Последовательности праймеров выбирали на основе данных, приведенных в базе NCBI, с помощью компьютерной программы Lasergene Primer Select Software Package. Относительное содержание мРНК (relative quantity, RQ) подсчитывали по методу  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ; в качестве генов домашнего хозяйства были использованы гены *Hk1* и *Pik3c3*.

Нормальность распределения переменных в выборках оценивали тестом Шапиро-Уилка. В абсолютном большинстве образцов распределение не соответствовало нормальному. Поэтому для анализа использовали непараметрические методы статистики. Изменение содержания глюкозы и КОРТ во время острого стресса оценивали с помощью дисперсионного анализа по Фридману с последующим множественным сравне-

**Таблица 1.** Нуклеотидные последовательности использованных праймеров

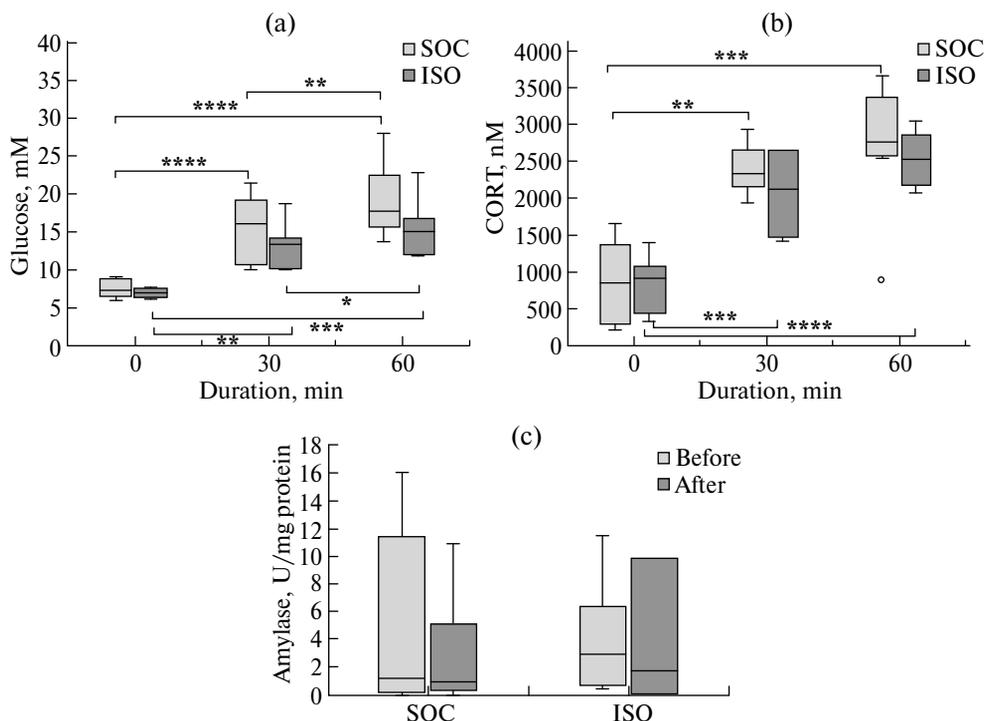
Название гена	5'-3' праймер	3'-5' праймер
<i>Hkl</i> NM_012734.2	TTATTCGAAGGGCGCATCACTC	TCAACATCAGACGGCTCCACT
<i>Pik3c3</i> NM_022958.2	CGATGACGAGGATTTGCTGATGTA	CCGGAGGAAGAGGGTTGGTTAT
<i>Mc2r</i> NM_001100491.1	CTGATGTAGTTGTGCCAGAAGAGAT	TGGCCAAACTGCAGATGAAAAAG
<i>Star</i> NM_031558.3	TGGCTGGAAGTCCCTCAAAGA	GTGGCTGGCGAACTCTATCTG
<i>Cyp11a1</i> NM_017286.3	GACGCATCAAGCAGCAAACTCT	GGTCCACGATCTCCTCCAACAT
<i>Cyp11b1</i> NM_012537.3	TGCTCAGCACTAAAGCACAAATCT	AGTAGGCACAACCCAGTAATCTCA
<i>Hsd11b1</i> NM_017080.2	GCCTGGGAGGTTGTAGAAAGAG	AATAGTAGTAACCCAGGCAGAGCAC
<i>Fkbp5</i> NM_001012174.2	GCCGGCAAGAAACACGAGAGT	GAGGAGGGCCGAGTTCATTAGGA

нием по тесту Даннета для связанных переменных и в этом случае различия считали значимыми при  $p < 0.05$ . Для сравнения независимых переменных использовали U-тест Манна-Уитни с поправкой Бонферрони на множественность сравнений, и различия считали значимыми при  $p < 0.012$ . Данные представлены в виде Q1, Me, Q3.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Крыс групп СОЦ и ИЗО случайным образом делили на подгруппы, одну из которых подвергали 60-минутной умеренной иммобилизации в пластиковых домиках. Следует отметить, что эти подгруппы не отличались по содержанию глюкозы и КОРТ в крови и активности  $\alpha$ -амилазы в слюне в исходной точке (рис. 1). Это может свидетельствовать о том, что предварительная социальная изоляция крыс не оказывала существенного влияния на эти показатели функционирования гипоталамо-гипофизарно-адреноренальной и симпатно-адреналовой систем. У крыс группы СОЦ иммобилизационный стресс вызывал значимое увеличение содержания глюкозы в крови (рис. 1а; Friedman ANOVA  $\chi^2$  (N = 8, df = 2) = 16.0,  $p = 0.0003$ ). Похожий эффект наблюдали и у животных группы ИЗО (рис. 1а; Friedman ANOVA  $\chi^2$  (N = 6, df = 2) = 12.0  $p = 0.002$ ). Принимая во внимание, что быстрое высвобождение глюкозы может рассматриваться как отражение активации симпатической нервной системы при стрессе, можно предположить, что длительная изоляция не влияла на этот показатель стресс-реактивности.

Содержание КОРТ оценивали в параллельных образцах крови. Через 30 мин иммобилизации уровень КОРТ значимо возрастал по сравнению с исходной точкой и продолжал увеличиваться до окончания воздействия (рис. 1б). Этот эффект наблюдался в обеих подгруппах крыс (Friedman ANOVA  $\chi^2$  (N = 8, df = 2) = 9.75  $p = 0.008$  и Friedman ANOVA  $\chi^2$  (N = 6, df = 2) = 9.33  $p = 0.009$  для групп СОЦ и ИЗО соответственно). Следует отметить, что рост КОРТ в интервале 30–60 мин не был статистически значимым. Таким образом, было установлено, что у самцов линии SHR изоляция не оказывала существенного влияния на показатели реактивности (уровень глюкозы и КОРТ) на действие гетеротипичного стрессора (острая умеренная иммобилизация в течение

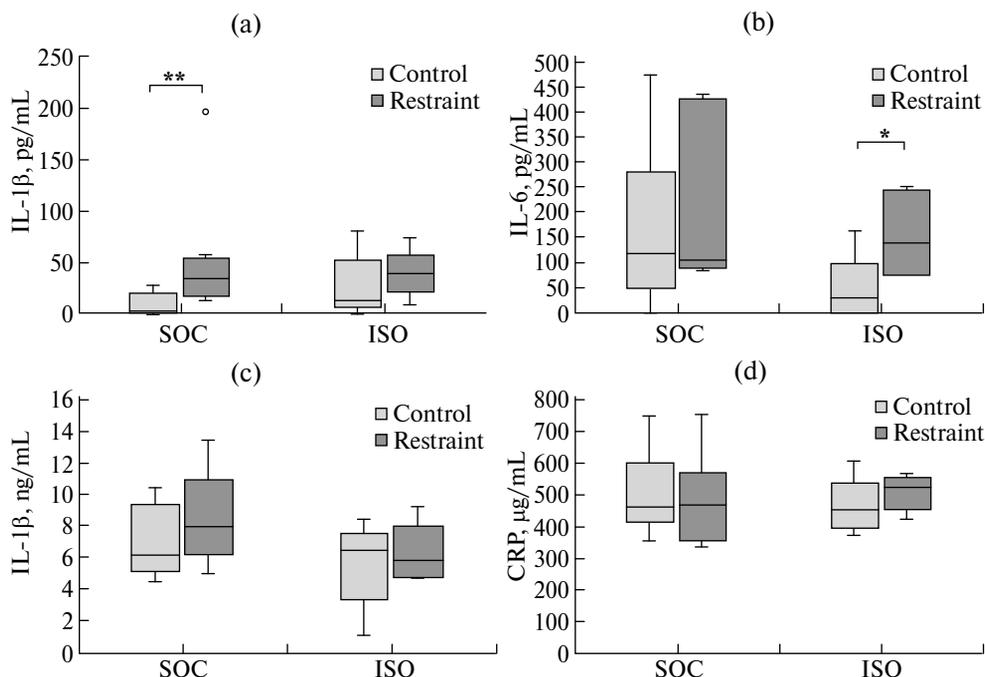


**Рис. 1.** Влияние социальной изоляции на биохимические показатели стресс-реактивности в крови и слюне: (а) и (б) – изменение содержания глюкозы и КОРТ в крови крыс SHR в течение 60 мин острого умеренного иммобилизационного стресса, (с) – активность  $\alpha$ -амилазы в слюне у крыс SHR до и после 60 мин острого умеренного иммобилизационного стресса. Данные представлены в виде боксов (Me [Q1–Q3]) с усами (размах мин – макс). \* –  $p < 0.05$ , \*\* –  $p < 0.01$ , \*\*\* –  $p < 0.001$  и \*\*\*\* –  $p < 0.0001$  по критерию Даннета для множественных сравнений.

60 мин). Кроме того, мы оценили активность  $\alpha$ -амилазы в слюне до и после стрессорного воздействия. Не было выявлено значимых различий в активности этого фермента как между подгруппами СОЦ и ИЗО, так и внутри каждой стрессированной подгруппы по сравнению с исходным уровнем (рис. 1с).

Мы определили содержание некоторых про- и противовоспалительных цитокинов в крови после острого стресса у контрольных животных и крыс, перенесших изоляцию. Уровень ИЛ-1 $\beta$  у контрольных крыс группы ИЗО был несколько выше, чем в группе СОЦ, хотя различия не были значимыми (рис. 2а). Острый стресс вызывал повышение содержания ИЛ-1 $\beta$  у крыс СОЦ и в группе ИЗО на уровне тенденции. В отличие от ИЛ-1 $\beta$ , содержание ИЛ-6 немного снижалось после изоляции, и именно у изолированных крыс острый стресс вызывал повышение уровня ИЛ-6 в крови (рис. 2б). Не было обнаружено влияния изоляции и острого стресса на содержание противовоспалительного цитокина ТРФ- $\beta$ 1 (рис. 2с) и защитного белка плазмы – С-реактивного белка (рис. 2д).

Далее мы оценили, способна ли длительная изоляция вызвать изменения экспрессии генов, кодирующих белки, которые участвуют в регуляции синтеза и секреции глюкокортикоидов в надпочечниках. Следует отметить, что относительная масса надпочечников не отличалась в контрольных подгруппах крыс СОЦ и ИЗО (рис. 3а). Острый стресс также не влиял на этот показатель.

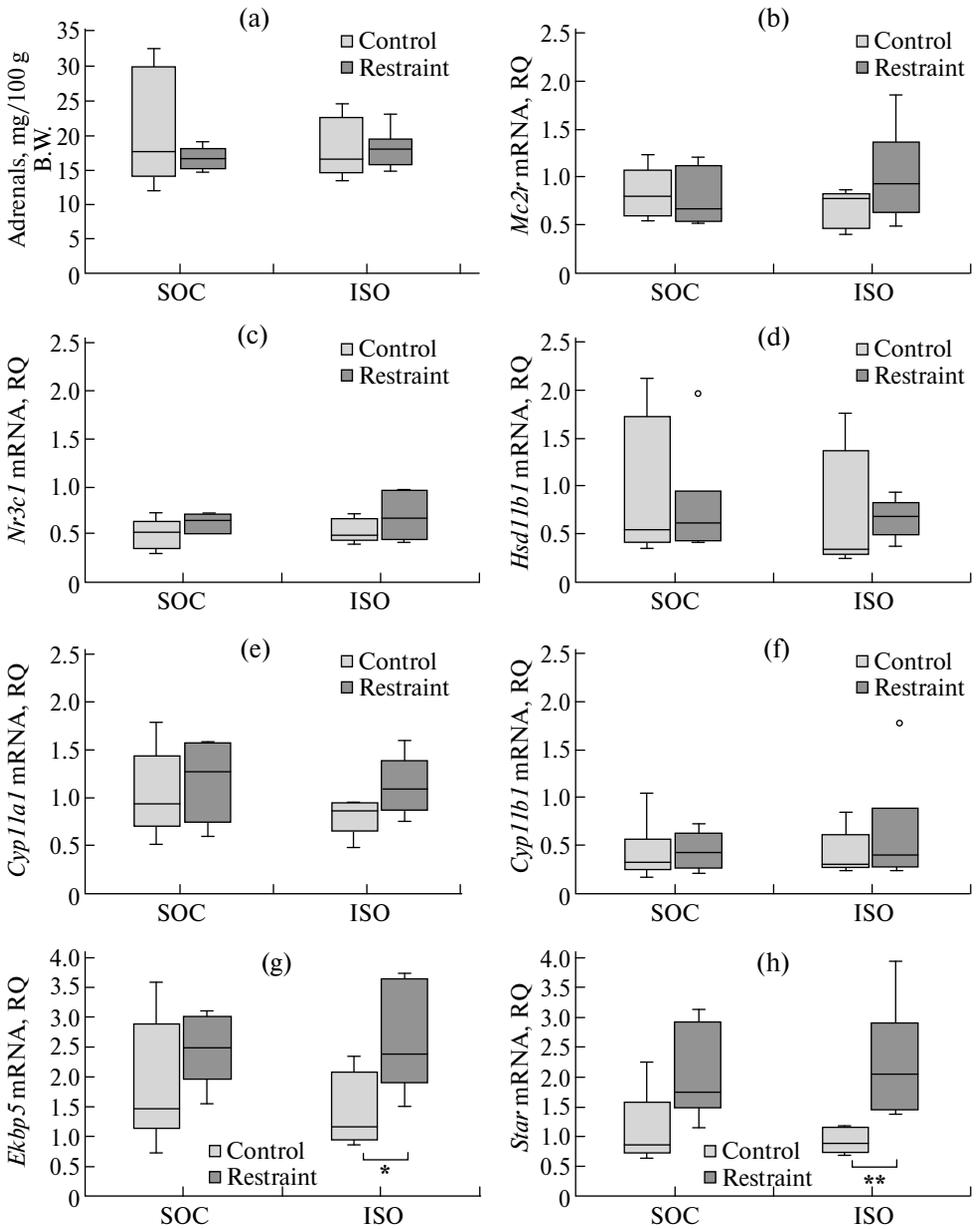


**Рис. 2.** Влияние острого умеренного иммобилизационного стресса на содержание провоспалительных и противовоспалительных цитокинов и С-реактивного белка в крови крыс групп СОЦ и ИЗО. «Контроль» – крысы, не подвергнутые острому стрессорному воздействию. Данные представлены в виде боксов (Me [Q1–Q3]) с усами (размах мин.–макс.). \* –  $p < 0.012$  и \*\* –  $p < 0.01$  по критерию Манна–Уитни для независимых переменных.

Длительная изоляция не оказывала влияния на содержание транскриптов мРНК гена *Mc2r*, кодирующего рецептор АКТГ, необходимый для стероидогенеза в надпочечниках (рис. 3b). Также на сходном уровне находилось содержание транскриптов мРНК гена *Nr3c1*, кодирующего рецептор глюкокортикоидов, в группах СОЦ и ИЗО (рис. 3с). Аналогичные результаты были получены для мРНК генов *Cyp11a1*, *Cyp11b1* и *Hsd11b1*, связанных с ферментами, отвечающими за синтез и метаболизм глюкокортикоидов (рис. 3d–f).

Изоляция не оказывала заметного влияния на уровень мРНК *Fkbp5*, однако после острого стресса ее содержание возрастало практически в два раза только в группе ИЗО (рис 3g). Интересно, что острый стресс также увеличивал экспрессию мРНК *Star* в обеих группах крыс, хотя сама по себе изоляция не влияла на уровень мРНК этого гена (рис. 3h). Это дает основания предположить активацию синтеза стероидов при остром стрессе в обеих группах крыс и активацию их рецепторов и связанных с ними сигнальных каскадов за счет действия ко-шаперона FKBP5, более выраженную в надпочечниках изолированных животных.

Таким образом, нам не удалось выявить изменений в исследованных биохимических показателях в крови крыс линии SHR после хронической изоляции. Характер реакции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы и симпаго-адрено-медуллярной системы на острый стресс (60 мин умеренная иммобилизация) практически не отличался у контрольных и изолированных животных, но по содержанию провоспалительных цитокинов в крови слегка различался. При этом увеличение экспрессии генов в надпочечниках в ответ на острый стресс было более выражено у изолированных крыс.



**Рис. 3.** Влияние острого умеренного иммобилизационного стресса на относительную массу надпочечников (а) и содержание транскриптов мРНК генов, кодирующих аденокортикотропиновый рецептор *Mc2r* (б) и глюкокортикоидный рецептор *Nr3c1* (с), ассоциированных с синтезом и метаболизмом кортикостероидов *Hsd11b1* (д), *Cyp11a1* (е), *Cyp11b1* (ф), фактор транскрипции *Fkbp5* (г) и регуляторный белок синтеза стероидных гормонов *Star* (h) в надпочечниках крыс групп СОЦ и ИЗО. «Контроль» – крысы, не подвергнутые острому стрессорному воздействию. Данные представлены в виде боксов (Ме [Q1–Q3]) с усами (размах мин.–макс.). \* –  $p < 0.012$  и \*\* –  $p < 0.01$  по критерию Манна–Уитни для независимых переменных.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты нашей работы показывают, что у самцов крыс линии SHR хронический социальный стресс, связанный с изолированным содержанием, не оказывал значительного влияния на показатели активации симпато-адреналовой системы, такие как уровень глюкозы в крови и активность  $\alpha$ -амилазы в слюне. Мы также не выявили существенного эффекта изоляции на уровень циркулирующего в крови КОРТ и массу надпочечников, что может свидетельствовать о достаточно хорошей адаптации гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы к длительной изоляции. Кроме того, сходный уровень КОРТ у крыс групп СОЦ и ИЗО был связан с отсутствием выраженных изменений в экспрессии генов, таких как *Cyp11a1*, *Cyp11b1* и *Hsd11b1*, кодирующих ферменты расщепления боковой цепи холестерина, стероид-11 $\beta$ -гидролазу и 11 $\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназу 1-го типа соответственно, участвующие на разных этапах в синтезе и метаболизме глюкокортикоидов.

Известно, что кратковременная изоляция у крыс других линий оказывала заметный эффект на показатели активности гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы. Так, изоляция 1.5-месячных крыс Wistar в течение 11 дней тормозила секрецию АКТГ и КОРТ в кровь [36]. Та же группа исследователей опубликовала другие данные, несколько противоречащие предыдущим. В частности, они обнаружили повышение АКТГ в крови при сниженном уровне КОРТ [37]. Djordjevic с соавт. [38] обнаружили, что изоляция крыс SHR и Wistar в возрасте 15 недель в течение 21-го дня не оказывала значительного влияния на уровень АКТГ и КОРТ. При экспозиции крыс SHR в течение 3 недель действию шума не было выявлено существенных изменений уровня КОРТ в периферической крови, полученной из хвостовой вены, но содержание КОРТ было более высоким у стрессированных крыс при анализе крови, собранной после декапитации [39]. Dong с соавт. [30] установили, что уровень КОРТ в плазме крови повышался у 18-месячных крыс Sprague-Dawley после содержания в индивидуальных клетках в течение 12 недель. Этот эффект купировался введением антагониста рецептора КРГ 1-го типа анталармина. Изменения активности  $\alpha$ -амилазы в слюне сильно зависят от времени экспозиции хроническому стрессу. Например, у самцов крыс линии Fisher 344 трехкратная иммобилизация вызывала рост активности  $\alpha$ -амилазы с последующим снижением до нормального уровня [40]. В то же время при использовании хронической иммобилизации (9 недель/3 раза в неделю) активность этого фермента в некоторых точках была даже ниже, чем у контрольных крыс. Таким образом, эффекты социальной изоляции на показатели стресс-реактивности могут зависеть от возраста и линии животных, использованных в эксперименте. Кроме того, они могут зависеть и от некоторых непредсказуемых факторов, поскольку даже проведение экспериментов в одинаковых условиях одними и теми же экспериментаторами может приводить к противоречивым результатам, как в работах [36, 37], обсуждавшихся выше.

В представленной работе изоляция самцов крыс линии SHR не влияла на ответ гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной и симпато-адреналовой систем на действие острого гетеротипичного стрессора. Умеренная иммобилизация в течение 60 мин вызывала сходное увеличение уровней глюкозы и КОРТ в крови крыс групп СОЦ и ИЗО, тогда как активность  $\alpha$ -амилазы в слюне не менялась. Известно, что при остром стрессе происходит выброс КОРТ из коркового вещества надпочечников в результате активации гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной оси и катехоламинов из мозгового вещества под действием сигналов симпатической нервной системы. КОРТ стимулирует секрецию глюкагона в кровь, и все три фактора – КОРТ, глюкагон и катехоламины, стимулируют процессы глюконеогенеза и гликогенолиза в печени, способствуя развитию гипергликемии при стрессе [41]. В нашем случае гипергликемия наблюдалась у крыс уже через 30 мин после начала острого стресса. Аналогичные данные были получены при использовании электрошока в качестве стрессирующего фактора [42]. Гипергликемический ответ на дей-

ствие стрессоров может быть более выражен у пациентов или животных с симптомами тревожности и депрессии [43], хотя изоляция крыс SHR не приводила к развитию у них депрессивно-подобного состояния [44]. Еще в середине 1980-х годов было показано, что крысы линии SHR более устойчивы к стрессу по сравнению с крысами линии Wistar-Kyoto (WKY), которые наиболее часто используются в качестве нормотензивного контроля для этих животных [45–47]. С другой стороны, крысы SHR демонстрируют более высокий по сравнению с WKY ответ КОРТ на 2-минутный хэндлинг при более низком уровне АКТГ [48]. Крысы линии SHR легче адаптируют работу сердечно-сосудистой системы к повторяющейся иммобилизации [49], что указывает на более эффективное функционирование автономной нервной системы у гипертензивных животных в условиях стресса. Эти более высокие адаптивные возможности автономной нервной системы могут быть причиной отсутствия ярких изменений активности  $\alpha$ -амилазы в слюне или, возможно, ее секреции из слюнных желез в ответ на острый стресс, что наблюдалось у наших животных.

У гипертензивных крыс линии SHR гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальная система сильно модифицирована [34, 50]. В раннем онтогенезе у этих крыс проявляется адренокортикальная гиперфункция [51], которая позднее сменяется гипофункцией, ассоциированной с гиперплазией надпочечников [35], после чего стероидогенез стабилизируется и наблюдается нормальная секреция гормонов по крайней мере до 4-месячного возраста [52]. В настоящей работе была проведена оценка изменений в экспрессии генов надпочечников при хронической изоляции и при действии острого стрессора у крыс с генетически обусловленной гипертензией. Как представлено выше, адаптация к действию хронической изоляции не сопровождалась изменениями в экспрессии мРНК генов, кодирующих рецепторы АКТГ (*Mc2r*) и глюкокортикоидов (*Nr3c1*), ферменты, связанные с метаболизмом глюкокортикоидов (*Hsd11b1*, *Cyp11a1* и *Cyp11b1*), стероидогенный острый регуляторный белок (*Star*) и транскрипционный фактор (*Fkbp5*). В ответ на острое стрессорное воздействие экспрессия мРНК *Fkbp5* и *Star* в надпочечниках быстро возрастала, и этот ответ был более выражен у крыс группы ИЗО. Ген *Fkbp5* кодирует белок, являющийся важным регулятором стресс-ответа, FK506-связывающий белок 51 (FKBP5/FKBP51), который действует как ко-шаперон, модулирующий активность глюкокортикоидных рецепторов [53]. В лимбических структурах мозга FKBP51 участвует в реализации провоспалительных эффектов глюкокортикоидов [54]. Ингибирование FKBP51 у мышей повышает их устойчивость к социальным стрессорам, таким как поражение в борьбе или перенаселение [55]. Полиморфизм гена *FKBP5* связан с чувствительностью к стрессу [56, 57]. Взаимодействуя с глюкокортикоидным рецептором, FKBP5 снижает его аффинность к лигандам и нарушает транслокацию лиганд-рецепторного комплекса в ядро [58]. Можно предположить, что взаимодействие эффектов социального стресса (изоляция) и острой иммобилизации приводит к быстрой активации транскрипции *Fkbp5* в отличие от эффектов только иммобилизационного стресса.

Белок StAR играет важную роль в инициации стероидогенеза в надпочечниках, способствуя транспорту холестерина через мембрану митохондрий. Активация сигнального каскада АКТГ-цАМФ-ПКА приводит к экспрессии гена *Star* [59]. Как работает белок StAR, доподлинно неизвестно, но транскрипция кодирующего его гена быстро растет при повышении секреции АКТГ [60, 61]. В настоящей работе мы не измеряли уровень АКТГ в крови, но, исходя из этих фактов, можем предположить, что повышенный уровень мРНК *Star* у крыс группы ИЗО, подвергнутых иммобилизации, отражает более высокий уровень секреции АКТГ у изолированных крыс в ответ на острый стресс. В то же время аналогичные изменения экспрессии *Star* наблюдались и у крыс, остававшихся на групповом содержании в течение эксперимента.

Мы ожидали, что длительная изоляция активирует провоспалительную сигнализацию у крыс SHR. Действительно, активация симпато-адреналовой системы при стрессе способствует высвобождению цитокинов, включая ИЛ-1 $\beta$ , фактор некроза опухоли- $\alpha$ , ИЛ-6, из разрушающейся жировой ткани [41, 62]. Имеются данные о повышении уров-

ня ИЛ-1 $\beta$  в крови самцов крыс линии Вистар после хронической изоляции [36, 37]. В настоящем исследовании мы не обнаружили влияния длительной изоляции на уровень провоспалительного ИЛ-1 $\beta$ , а также выявили тенденцию к снижению содержания ИЛ-6 в крови изолированных крыс. Кроме того, изоляция не влияла на уровень противовоспалительного цитокина ТРФ- $\beta$ 1 и С-реактивного белка. В исследовании [37] предварительная изоляция значительно снижала ответ ИЛ-1 $\beta$  на последующий стресс перенаселения, и этот эффект зависел от продолжительности пребывания в перенаселенной клетке [37] и типа используемого острого стрессора [36]. В нашей работе 14-недельная изоляция значительно ослабляла влияние острого иммобилизационного стресса на уровень сывороточного ИЛ-1 $\beta$ , но усиливала ответ ИЛ-6 на острый стресс.

Интерпретация полученных в настоящей работе данных имеет ряд ограничений. Учитывая, что работа проведена на крысах в 10-месячном возрасте, в дальнейшем было бы необходимо провести сравнение с данными, полученными на молодых животных, возможно, на стадии гипер- или гипофункции гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной системы. Работа проведена на самцах линии SHR, поэтому аналогичное исследование на самках представляется целесообразным, учитывая особенности нейрогуморальной регуляции, характерные для животных разного пола. Настоящее исследование проведено на крысах с гипертонией, которая стабильно проявляется, начиная с 4-месячного возраста. Было бы целесообразно провести сравнение эффектов изоляции у этих крыс с животными без артериальной гипертонии. Исходя из того, что у человека субъективное переживание одиночества зачастую приводит к довольно тяжелым последствиям как с точки зрения психического, так и общего состояния здоровья, гипотетически можно предположить, что физическое ограничение контактов с другими особями того же вида, которое мы можем объективно моделировать путем индивидуального содержания животных, оказывает менее выраженное воздействие на исследованные показатели.

Таким образом, социальная изоляция оказывала хотя и значимые, но на удивление слабовыраженные эффекты на показатели функционирования гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной и симпатно-адреналовой систем у самцов крыс линии SHR. Гетеротипичный стресс вызвал сходную реакцию исследованных систем независимо от предварительного содержания в условиях изоляции. В то же время после острого стресса в надпочечниках экспрессия генов, связанных со стресс-реактивностью, изменялась более выраженно у изолированных крыс.

#### ВКЛАДЫ АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента (Н. В. Г. и М. Ю. С.), сбор данных (Л. В. Т., А. А. К., Ю. В. М., Д. И. М., О. А. Н., В. О. О. и Н. А. Л.), обработка данных (О. А. Н., А. А. К., М. В. О. и М. Ю. С.), написание и редактирование рукописи (Н. В. Г. и М. Ю. С.). Все авторы ознакомились и одобрили финальную версию рукописи.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Настоящая работа финансировалась за счет средств бюджета Российского научного фонда (проект № 22-15-00132). Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты с животными проводились в соответствии с международными рекомендациями по проведению биомедицинских исследований с лабораторными животными и были одобрены Комиссией по этике Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН (протокол № 2 от 22.07.2022 г.).

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы настоящей работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *McEwen BS* (2007) Physiology and neurobiology of stress and adaptation: Central role of the brain. *Physiol Rev* 87(3): 873–904.  
<https://doi.org/10.1152/physrev.00041.2006>
2. *Elsaid N, Saied A, Kandil H, Soliman A, Taher F, Hadi M, Giridharan G, Jennings R, Casanova M, Keynton R, El-Baz A* (2021) Impact of stress and hypertension on the cerebrovasculature. *Front Biosci (Landmark Ed)* 26(12): 1643–1652.  
<https://doi.org/10.52586/5057>
3. *Cuffee Y, Ogedegbe C, Williams NJ, Ogedegbe G, Schoenthaler A* (2014) Psychosocial risk factors for hypertension: an update of the literature. *Curr Hypertens Rep* 16(10): 483.  
<https://doi.org/10.1007/s11906-014-0483-3>
4. *Liu MY, Li N, Li WA, Khan H* (2017) Association between psychosocial stress and hypertension: A systematic review and meta-analysis. *Neurol Res* 39(6): 573–580.  
<https://doi.org/10.1080/01616412.2017.1317904>
5. *Yadav RSP, Ansari F, Bera N, Kent C, Agrawal P* (2024) Lessons from lonely flies: Molecular and neuronal mechanisms underlying social isolation. *Neurosci Biobehav Rev* 156: 105504.  
<https://doi.org/10.1016/J.NEUBIOREV.2023.105504>
6. *Oken BS, Kaplan J, Klee D, Gallegos AM* (2024) Contributions of loneliness to cognitive impairment and dementia in older adults are independent of other risk factors and Alzheimer’s pathology: a narrative review. *Front Hum Neurosci* 18: 1380002.  
<https://doi.org/10.3389/FNHUM.2024.1380002>
7. *Hawkley LC, Thisted RA, Masi CM, Cacioppo JT* (2010) Loneliness predicts increased blood pressure: five-year cross-lagged analyses in middle-aged and older adults. *Psychol Aging* 25(1): 132.  
<https://doi.org/10.1037/A0017805>
8. *Yadav RSP, Ansari F, Bera N, Kent C, Agrawal P* (2024) Lessons from lonely flies: Molecular and neuronal mechanisms underlying social isolation. *Neurosci Biobehav Rev* 156: 105504.  
<https://doi.org/10.1016/J.NEUBIOREV.2023.105504>
9. *Oken BS, Kaplan J, Klee D, Gallegos AM* (2024) Contributions of loneliness to cognitive impairment and dementia in older adults are independent of other risk factors and Alzheimer’s pathology: a narrative review. *Front Human Neurosci* 18: 1380002.  
<https://doi.org/10.3389/FNHUM.2024.1380002>
10. *Yang YC, Li T, Ji Y* (2013) Impact of social integration on metabolic functions: evidence from a nationally representative longitudinal study of US older adults. *BMC Public Health* 13: 1210.  
<https://doi.org/10.1186/1471-2458-13-1210>
11. *Steptoe A, Owen N, Kunz-Ebrecht SR, Brydon L* (2004) Loneliness and neuroendocrine, cardiovascular, and inflammatory stress responses in middle-aged men and women. *Psychoneuroendocrinology* 29(5): 593–611.  
[https://doi.org/10.1016/S0306-4530\(03\)00086-6](https://doi.org/10.1016/S0306-4530(03)00086-6)
12. *Grant N, Hamer M, Steptoe A* (2009) Social isolation and stress-related cardiovascular, lipid, and cortisol responses. *Ann Behav Med* 37(1): 29–37.  
<https://doi.org/10.1007/s12160-009-9081-z>. Epub 2009 Feb 5
13. *Cacioppo JT, Ernst JM, Burleson MH, McClintock MK, Malarkey WB, Hawkley LC, Kowalewski RB, Paulsen A, Hobson JA, Hugdahl K, Spiegel D, Berntson GG* (2000) Lonely traits and concomitant physiological processes: The MacArthur social neuroscience studies. *Int J Psychophysiol* 35(2–3): 143–154.  
[https://doi.org/10.1016/s0167-8760\(99\)00049-5](https://doi.org/10.1016/s0167-8760(99)00049-5)
14. *Hackett RA, Hamer M, Endrighi R, Brydon L, Steptoe A* (2012) Loneliness and stress-related inflammatory and neuroendocrine responses in older men and women. *Psychoneuroendocrinology* 37(11): 1801–1809.  
<https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2012.03.016>
15. *Čater M, Majdič G* (2022) How early maternal deprivation changes the brain and behavior? *Eur J Neurosci* 55(9–10): 2058–2075.  
<https://doi.org/10.1111/ejn.15238>
16. *Ferreira de Sá N., Camarini R, Suchecki D* (2023) One day away from mum has lifelong consequences on brain and behaviour *Neuroscience* 525: 51–66.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2023.06.013>
17. *Pournajafi-Nazarloo H, Partoo L, Sanzenbacher L, Esmaeilzadeh M, Paredes J, Hashimoto K, Azizi F, Carter CS* (2009) Social isolation modulates corticotropin-releasing factor type 2 receptor, urocortin 1 and urocortin 2 mRNAs expression in the cardiovascular system of prairie voles. *Peptides* 30(5): 940–946.  
<https://doi.org/10.1016/j.peptides.2009.01.003>

18. Pournajafi-Nazarloo H, Partoo L, Yee J, Stevenson J, Sanzenbacher L, Kenkel W, Mohsenpour SR, Hashimoto K, Carter CS (2011) Effects of social isolation on mRNA expression for corticotrophin-releasing hormone receptors in prairie voles. *Psychoneuroendocrinology* 36(6): 780–789. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2010.10.015>
19. Klein SL, Hairston JE, Devries AC, Nelson RJ (1997) Social environment and steroid hormones affect species and sex differences in immune function among voles. *Horm Behav* 32(1): 30–39. <https://doi.org/10.1006/hbeh.1997.1402>
20. McNeal N, Scotti MA, Wardwell J, Chandler DL, Bates SL, Larocca M, Trahanas DM, Grippo AJ (2014) Disruption of social bonds induces behavioral and physiological dysregulation in male and female prairie voles. *Auton Neurosci* 180: 9–16. <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2013.10.001>
21. McNeal N, Anderson EM, Moenk D, Trahanas D, Matuszewich L, Grippo AJ (2018) Social isolation alters central nervous system monoamine content in prairie voles following acute restraint. *Soc Neurosci* 13(2): 173–183. <https://doi.org/10.1080/17470919.2016.1276473>
22. Gavrilovic L, Dronjak S (2005) Activation of rat pituitary-adrenocortical and sympatho-adrenomedullary system in response to different stressors. *Neuro Endocrinol Lett* 26(5): 515–520.
23. Dronjak S, Gavrilovic L (2006) Effects of stress on catecholamine stores in central and peripheral tissues of long-term socially isolated rats. *Braz J Med Biol Res* 39(6): 785–790. <https://doi.org/10.1590/s0100-879x2006000600011>
24. Djordjevic J, Djordjevic A, Adzic M, Radojic M (2012). Effects of chronic social isolation on Wistar rat behavior and brain plasticity markers. *Neuropsychobiology* 66(2): 112–119. <https://doi.org/10.1159/000338605>
25. Filipović D, Zlatković J, Inta D, Bjelobaba I, Stojiljkovic M, Gass P (2011) Chronic isolation stress predisposes the frontal cortex but not the hippocampus to the potentially detrimental release of cytochrome c from mitochondria and the activation of caspase-3. *J Neurosci Res* 89(9): 1461–1470. <https://doi.org/10.1002/JNR.22687>
26. Filipović D, Zlatković J, Pavičević I, Mandić L, Demajo M (2012) Chronic isolation stress compromises JNK/c-Jun signaling in rat brain. *J Neural Transmis* 119(11): 1275–1284. <https://doi.org/10.1007/s00702-012-0776-0>
27. Zlatković J, Filipović D (2013) Chronic social isolation induces NF-κB activation and upregulation of iNOS protein expression in rat prefrontal cortex. *Neurochem Int* 63(3): 172–179. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2013.06.002>
28. Ferland CL, Schrader LA (2011) Cage mate separation in pair-housed male rats evokes an acute stress corticosterone response. *Neurosci Lett* 489(3): 154–158. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2010.12.006>
29. Turner PV, Sunohara-Neilson J, Ovari J, Healy A, Leri F (2014) Effects of single compared with pair housing on hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity and low-dose heroin place conditioning in adult male Sprague-Dawley rats. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 53(2): 161–167.
30. Dong H, Keegan JM, Hong E, Gallardo C, Montalvo-Ortiz J, Wang B, Rice KC, Csernansky J (2018) Corticotrophin releasing factor receptor antagonists prevent chronic stress-induced behavioral changes and synapse loss in aged rats. *Psychoneuroendocrinology* 90: 92. <https://doi.org/10.1016/j.PSYNEUEN.2018.02.013>
31. Cacioppo JT, Cacioppo S, Capitanio JP, Cole SW (2015) The neuroendocrinology of social isolation. *Annu Rev Psychol* 66: 733–767. <https://doi.org/10.1146/annurev-psych-010814-015240>
32. Gavrilovic L, Spasojevic N, Tanic N, Dronjak S (2008) Chronic isolation of adult rats decreases gene expression of catecholamine biosynthetic enzymes in adrenal medulla. *Neuro Endocrinol Lett* 29(6): 1015–1020.
33. Jacobson ML, Kim LA, Patro R, Rosati B, McKinnon D (2018) Common and differential transcriptional responses to different models of traumatic stress exposure in rats. *Transl Psychiatry* 8(1): 165. <https://doi.org/10.1038/s41398-018-0223-6>
34. Vavřinová A, Behuliak M, Vaněčková I, Zicha J (2021) The abnormalities of adrenomedullary hormonal system in genetic hypertension: Their contribution to altered regulation of blood pressure. *Physiol Res* 70(3): 307–326. <https://doi.org/10.33549/physiolres.934687>
35. Moll D, Dale SL, Melby JC (1975) Adrenal steroidogenesis in the spontaneously hypertensive rat (SHR). *Endocrinology* 96(2): 416–420. <https://doi.org/10.1210/endo-96-2-416>
36. Gađek-Michalska A, Bugajski A, Tadeusz J, Rachwalska P, Bugajski J (2017) Chronic social isolation in adaptation of HPA axis to heterotypic stress. *Pharmacol Rep* 69(6): 1213–1223. <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2017.08.011>

37. *Gądek-Michalska A, Tadeusz J, Bugajski A, Bugajski J* (2019) Chronic isolation stress affects subsequent crowding stress-induced brain nitric oxide synthase (NOS) isoforms and hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis responses. *Neurotox Res* 36(3): 523–539.  
<https://doi.org/10.1007/s12640-019-00067-1>
38. *Djordjevic J, Vuckovic T, Jasic N, Cvijic G* (2007) Effect of various stressors on the blood ACTH and corticosterone concentration in normotensive Wistar and spontaneously hypertensive Wistar-Kyoto rats. *Gen Comp Endocrinol* 153(1–3): 217–220.  
<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2007.02.004>
39. *Konkle ATM, Keith SE, McNamee JP, Michaud D* (2017) Chronic noise exposure in the Spontaneously Hypertensive Rat. *Noise Health* 19(90): 213.  
[https://doi.org/10.4103/NAH.NAH\\_15\\_17](https://doi.org/10.4103/NAH.NAH_15_17)
40. *Matsuura T, Takimura R, Yamaguchi M, Ichinose M* (2012) Estimation of restraint stress in rats using salivary amylase activity. *J Physiol Sci* 62(5): 421–427.  
<https://doi.org/10.1007/s12576-012-0219-6>
41. *Yao M, Hao Y, Wang T, Xie M, Li H, Feng J, Feng L, Ma D* (2023) A review of stress-induced hyperglycaemia in the context of acute ischaemic stroke: Definition, underlying mechanisms, and the status of insulin therapy. *Front Neurol* 14: 1149671.  
<https://doi.org/10.3389/fneur.2023.1149671>
42. *Sim YB, Park SH, Kang YJ, Kim SM, Lee JK, Jung JS, Suh HW* (2010) The regulation of blood glucose level in physical and emotional stress models: Possible involvement of adrenergic and glucocorticoid systems. *Arch Pharmacol Res* 33(10): 1679–1683.  
<https://doi.org/10.1007/s12272-010-1018-3>
43. *Freiman SV, Onufriev MV, Druzhkova TA, Yakovlev AA, Pochigaeva KI, Chepelev AV, Grishkina MN, Gudkova AA, Gekht AB, Gulyaeva NV* (2015) The change in blood glucose level after a moderate stress as a parameter of stress reactivity in anxiety and depression: A pilot translational study. *Neurochem J* 9(2): 146–148.  
<https://doi.org/10.1134/S1819712415020051>
44. *Nedogreeva O, Mamedova D, Lazareva N, Novikova M, Moiseeva Y, Kostryukov P, Stepanichev M, Gulyaeva N* (2023) Social isolation does not affect the indices of stress-responsiveness in aged rats of SHR strain. *Proc XXIV Meeting IP Pavlov's Physiol Society*. 155–156.
45. *Paré WP, Schimmel GT* (1986) Stress ulcer in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Physiol Behav* 36(4): 699–705.  
[https://doi.org/10.1016/0031-9384\(86\)90357-4](https://doi.org/10.1016/0031-9384(86)90357-4)
46. *Paré WP* (1989) Stress ulcer and open-field behavior of spontaneously hypertensive, normotensive, and Wistar rats. *Pavlov J Biol Sci* 24(2): 54–57.  
<https://doi.org/10.1007/BF02964537>
47. *Paré WP* (1989) Stress ulcer susceptibility and depression in Wistar Kyoto (WKY) rats. *Physiol Behav* 46(6): 993–998.  
[https://doi.org/10.1016/0031-9384\(89\)90203-5](https://doi.org/10.1016/0031-9384(89)90203-5)
48. *Roman O, Seres J, Pometlova M, Jurcovicova J* (2004) Neuroendocrine or behavioral effects of acute or chronic emotional stress in Wistar Kyoto (WKY) and spontaneously hypertensive (SHR) rats. *Endocr Regul* 38(4): 151–155.
49. *Vavřínová A, Behuliak M, Vodička M, Bencze M, Ergang P, Vaněčková I, Zicha J* (2024) More efficient adaptation of cardiovascular response to repeated restraint in spontaneously hypertensive rats: The role of autonomic nervous system. *Hypertens Res* 47(9): 2377–2392.  
<https://doi.org/10.1038/s41440-024-01765-w>
50. *Stepanichev MY, Mamedova DI, Gulyaeva NV* (2024) Hippocampus under pressure: molecular mechanisms of development of cognitive impairments in SHR rats. *Biochemistry (Mosc)* 89(4): 711–725.  
<https://doi.org/10.1134/S0006297924040102>
51. *Kenyon CJ, Panarelli M, Holloway CD, Dunlop D, Morton JJ, Connell JMC, Fraser R* (1993) The role of glucocorticoid activity in the inheritance of hypertension: Studies in the rat. *J Steroid Biochem Mol Biol* 45(1–3): 7–11.  
[https://doi.org/10.1016/0960-0760\(93\)90115-D](https://doi.org/10.1016/0960-0760(93)90115-D)
52. *Komanicky P, Reiss DL, Dale SL, Melby JC* (1982) Role of adrenal steroidogenesis in etiology of hypertension in the spontaneously hypertensive rat. *Endocrinology* 111(1): 219–224.  
<https://doi.org/10.1210/ENDO-111-1-219>
53. *Zannas AS, Wiechmann T, Gassen NC, Binder EB* (2016) Gene–stress–epigenetic regulation of FKBP5: clinical and translational implications. *Neuropsychopharmacology* 41(1): 261–274.  
<https://doi.org/10.1038/npp.2015.235>
54. *Bolshakov AP, Tret'yakova LV, Kvichansky AA, Gulyaeva NV* (2021) Glucocorticoids: Dr. Jekyll and Mr. Hyde of hippocampal neuroinflammation. *Biochemistry (Mosc)* 86(2): 156–167.  
<https://doi.org/10.1134/S0006297921020048>

55. *Codagnone MG, Kara N, Ratsika A, Levone BR, van de Wouw M, Tan LA, Cunningham JJ, Sanchez C, Cryan JF, O'Leary OF* (2022) Inhibition of FKBP51 induces stress resilience and alters hippocampal neurogenesis. *Mol Psychiatry* 27(12): 4928–4938.  
<https://doi.org/10.1038/s41380-022-01755-9>
56. *Binder EB, Bradley RG, Liu W, Epstein MP, Deveau TC, Mercer KB, Tang Y, Gillespie CF, Heim CM, Nemeroff CB, Schwartz AC, Cubells JF, Ressler KJ* (2008) Association of FKBP5 polymorphisms and childhood abuse with risk of posttraumatic stress disorder symptoms in adults. *JAMA* 299(11): 1291–1305.  
<https://doi.org/10.1001/jama.299.11.1291>
57. *Binder EB, Salyakina D, Lichtner P, Wochnik GM, Ising M, Pütz B, Papiol S, Seaman S, Lucae S, Kohli MA, Nickel T, Künzel HE, Fuchs B, Majer M, Pfennig A, Kern N, Brunner J, Modell S, Baghai T, Muller-Myhsok B* (2004) Polymorphisms in FKBP5 are associated with increased recurrence of depressive episodes and rapid response to antidepressant treatment. *Nat Gen* 36(12): 1319–1325.  
<https://doi.org/10.1038/ng1479>
58. *Riggs DL, Cox MB, Cheung-Flynn J, Prapapanich V, Carrigan PE, Smith DF* (2004) Functional specificity of co-chaperone interactions with Hsp90 client proteins. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 39(5–6): 279–295.  
<https://doi.org/10.1080/10409230490892513>
59. *Clark BJ* (2016) ACTH action on StAR biology. *Front Neurosci* 10: 547.  
<https://doi.org/10.3389/fnins.2016.00547>
60. *Selvaraj V, Stocco DM, Clark BJ* (2018) Current knowledge on the acute regulation of steroidogenesis. *Biol Reproduct* 99(1): 13–26.  
<https://doi.org/10.1093/biolre/iy102>
61. *Stocco DM, Zhao AH, Tu LN, Morohaku K, Selvaraj V* (2017) A brief history of the search for the protein(s) involved in the acute regulation of steroidogenesis. *Mol Cell Endocrinol* 441: 7–16.  
<https://doi.org/10.1016/j.mce.2016.07.036>
62. *Raje V, Ahern KW, Martinez BA, Howell NL, Oenarto V, Granade ME, Kim JW, Tundup S, Bottermann K, Gödecke A, Keller SR, Kadl A, Bland ML, Harris TE* (2020) Adipocyte lipolysis drives acute stress-induced insulin resistance. *Sci Rep* 10(1): 18166.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-75321-0>

---

**Alterations of Neurohumoral Response to Acute Stress in Spontaneously Hypertensive Rats Subjected to Long-Term Isolation**

**L. V. Tret'yakova, A. A. Kvichansky, Yu. V. Moiseeva, V. O. Ovchinnikova,  
D. I. Mamedova, O. A. Nedogreeva, N. A. Lazareva, M. V. Onufriev,  
N. V. Gulyaeva, and M. Yu. Stepanichev\***

*Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology RAS, Moscow, Russia  
\*E-mail: m\_stepanichev@ihna.ru*

Hypertension is a serious disease characterized by a sustained or recurrent increase in blood pressure, which can lead to various complications. Here, we studied the effect of genetically determined arterial hypertension in rats on their adaptation to long-term isolation and subsequent response to acute restraint stress. Male SHR rats with spontaneous hypertension were maintained in individual cages for 14 weeks. The serum levels of corticosterone, glucose, and pro- and anti-inflammatory cytokines and salivary  $\alpha$ -amylase activity were studied, and the expression of genes associated with the regulation of steroidogenesis in the adrenal glands was evaluated. There were no significant changes in the parameters of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical and sympatho-adrenal systems after isolation. Nevertheless, the preliminary isolation significantly affected the response to moderate restraint stress, including the expression of the regulatory genes *Fkbp5* and *Star* in the adrenal glands and the content of proinflammatory cytokines IL-1 $\beta$  and IL-6 in the blood, although the changes in these indices were relatively subtle. This may reflect the predisposition of animals in isolation to develop quite specific stress-related changes.

*Keywords:* social isolation, hypothalamic-pituitary-adrenocortical system, sympatho-adrenal system, adrenals, stress, spontaneously hypertensive rats