

DOI: 10.7868/S2658655X26060071  
УДК 616.853

Экспериментальная статья

## Особенности экспрессии глюкокортикоидных рецепторов в гипоталамусе и гиппокампе крыс линии Крушинского–Молодкиной

Е.Л. Горбачева<sup>1,2</sup>, Е.В. Черниговская<sup>1</sup>, С.Д. Николаева<sup>1</sup>,  
А.А. Куликов<sup>1</sup>, В.Т. Бахтеева<sup>1</sup>, Л.С. Никитина<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,  
Санкт-Петербург, Российская Федерация

<sup>2</sup>German Center for Neurodegenerative Diseases (DZNE), Bonn, Germany

\*E-mail: lubasun@gmail.com

**Аннотация.** Целью данной работы было оценить особенности экспрессии глюкокортикоидных рецепторов (GR) у крыс линии Крушинского–Молодкиной (КМ), предрасположенных к аудиогенной эпилепсии. GR опосредуют отрицательную обратную связь в гипоталамо-гипофизарно-адренортикальной системе (ГТАКС), обеспечивая завершение стрессорного ответа, однако их длительная активация может способствовать патологической пластичности структур лимбической системы. Мы предположили, что дефект экспрессии или функции GR лежит в основе фенотипа крыс КМ. У интактных крыс КМ по сравнению с крысами Вистар иммобилизационный стресс вызывал более выраженное и пролонгированное повышение кортикостерона при отсутствии различий в уровне адренортикотропного гормона, что указывает на ослабление GR-зависимого ингибирования ГТАКС. В мелкоклеточной зоне паравентрикулярного ядра гипоталамуса у крыс КМ обнаружено меньше клеток с GR-иммунореактивными ядрами. В гиппокампе не было выявлено различий в уровне мРНК гена *Nr3c1* и содержании GR. Таким образом, у крыс КМ выявлен дефицит GR-опосредованной регуляции в ключевом центре ГТАКС, но не в гиппокампе. В настоящем исследовании установлено, что многократные стимуляции судорожных припадков (24 предьявления) не влияют на содержание мРНК *Nr3c1* в гиппокампе, но приводят к повышению уровня белка GR в этой структуре. Это свидетельствует о возрастании чувствительности гиппокампа к кортикостероидам на фоне хронически повышенного уровня глюкокортикоидов при повторяющихся приступах, что может вносить вклад в механизмы вовлечения гиппокампа в эпилептическую сеть при развитии аудиогенного киндинга.

**Ключевые слова:** аудиогенная рефлекторная эпилепсия, вторичный эпилептогенез, гипоталамо-гипофизарно-адренортикальная система

**Финансирование.** Исследование финансировалось за счет средств бюджета Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН в рамках государственного задания № 075–00264–26–00.

*Соблюдение этических стандартов.* Все экспериментальные процедуры проводились в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета по защите животных, используемых в экспериментах для научных целей, и были одобрены Комиссией по биоэтике Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН (протокол № 3-5/2024 заседания № 3 от 28.03.2024 г.).

*Конфликт интересов.* Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

*Вклад авторов в публикацию.* ГЕЛ – планирование экспериментов, изготовление и иммуногистохимическое окрашивание срезов, проведение ИФА, написание статьи; ЧЕВ – обсуждение результатов, интерпретация данных, редактирование текста; НСД – подготовка проб, проведение ПЦР с обратной транскрипцией в реальном времени, редактирование текста; КАА – работа с животными, вестерн-блот анализ, редактирование текста; БВТ – статистическая обработка результатов, редактирование текста; НЛС – постановка задачи, статистическая обработка результатов, планирование экспериментов, написание статьи.

*Благодарности.* Часть работы была выполнена на оборудовании ЦКП Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН (441590).

*Ссылка для цитирования:* Горбачева Е.Л., Черниговская Е.В., Николаева С.Д., Куликов А.А., Бахтеева В.Т., Никитина Л.С. Особенности экспрессии глюкокортикоидных рецепторов в гипоталамусе и гиппокампе крыс линии Крушинского–Молодкиной. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова / Russian Journal of Physiology.* 2026. Т. 112. № 6. С. 1510–1536. <https://doi.org/10.7868/S2658655X26060071>

DOI: 10.7868/S2658655X26060071

Experimental Article

## Characteristics of Glucocorticoid receptor Expression in the Hypothalamus and Hippocampus of Krushinsky–Molodkina Rats

E.L. Harbachova<sup>1,2</sup>, E.V. Chernigovskaya<sup>1</sup>, S.D. Nikolaeva<sup>1</sup>,  
A.A. Kulikov<sup>1</sup>, V.T. Bakhteeva<sup>1</sup>, L.S. Nikitina<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>*I.M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, RAS,  
Saint Petersburg, Russian Federation*

<sup>2</sup>*German Center for Neurodegenerative Diseases, Bonn, Germany*  
*\*E-mail: lubasun@gmail.com*

*Abstract.* The aim of this study was to evaluate the glucocorticoid receptor (GR) expression in Krushinsky–Molodkina (KM) rats predisposed to audiogenic epilepsy. GRs mediate negative feedback in the hypothalamic–pituitary–adrenocortical axis (HPA axis), ensuring the termination of the stress response; however, their prolonged activation may contribute to pathological plasticity in limbic system structures. We hypothesized that a defect in GR expression or function

underlies the phenotype of KM rats. In intact KM rats, compared to Wistar rats, immobilization stress induced a more pronounced and prolonged increase in corticosterone with no differences in adrenocorticotropic hormone levels, indicating impaired GR-dependent inhibition of the HPA axis. In the parvocellular region of the hypothalamic paraventricular nucleus, fewer cells with GR-immunoreactive nuclei were found in KM rats. In the hippocampus, we detected no differences in Nr3c1 gene mRNA levels or GR content. Thus, KM rats exhibit a deficit in GR-mediated regulation in the key center of the HPA axis, but not in the hippocampus. The present study established that repeated seizure stimulation (24 presentations) also does not alter Nr3c1 mRNA levels in the hippocampus but leads to an increase in GR protein levels in this structure. This indicates an increased sensitivity of the hippocampus to corticosteroids against the background of chronically elevated glucocorticoid levels during recurrent seizures, which may contribute to the mechanisms of hippocampal recruitment into the epileptic network during the development of audiogenic kindling.

*Keywords:* audiogenic reflex epilepsy, secondary epileptogenesis, hypothalamic–pituitary–adrenocortical axis

*Funding.* The study was funded by the budget of the Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, within the framework of state assignment No. 075-00264-26-00.

*Ethics declarations.* All experimental procedures were carried out in accordance with Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council on the protection of animals used for scientific purposes and were approved by the Bioethics Commission of the Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences (Protocol No. 3-5/2024 of Meeting No. 3 dated March 28, 2024).

*Conflict of interests.* The authors declare no conflict of interest.

*Authors contribution.* HEL – experimental design, preparation and immunohistochemical staining of sections, ELISA, writing of the manuscript; ChEV – discussion of results, data interpretation, text editing; NSD – sample preparation, real-time reverse transcription PCR, text editing; KAA – animal handling, western blot analysis, text editing; BVT – statistical processing of results, text editing; NLS – problem formulation, statistical processing of results, experimental design, writing of the manuscript.

*Acknowledgements.* Part of the work was performed using the equipment of the Shared Research Facility of the Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences (441590).

*For Citation:* Harbachova E.L., Chernigovskaya E.V., Nikolaeva S.D., Kulikov A.A., Bakhteeva V.T., Nikitina L.S. Characteristics of glucocorticoid receptor expression in the hypothalamus and hippocampus of Krushinsky–Molodkina rats. *Rossiiskij fiziologicheskij zhurnal im. I.M. Sechenova / Russian Journal of Physiology*. 2026;112(6):1510–1536. (In Russ.) <https://doi.org/10.7868/S2658655X26060071>

## ВВЕДЕНИЕ

Гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальная система (ГГАКС) играет ключевую роль в регуляции защитно-адаптивных реакций организма на стресс, обеспечивая мобилизацию ресурсов и сохранение гомеостаза [1, 2]. Важнейшей особенностью ГГАКС является ее способность к саморегуляции по принципу отрицательной обратной связи. Этот механизм реализуется преимущественно через активацию глюкокортикоидных рецепторов (GR) в гипоталамусе и гипофизе, что приводит к ингибированию дальнейшей секреции кортиколиберина и адренкортикотропного гормона (АКТГ) и, как следствие, к снижению активности всей системы [3, 4].

Нарушение регуляции ГГАКС связано с развитием различных патологических состояний. В частности, при эпилепсии нередко наблюдается дисфункция ГГАКС [5, 6]. Однако механизмы, лежащие в основе нарушения работы ГГАКС при эпилепсии, до сих пор остаются неизученными.

Стресс является часто упоминаемым триггером или фактором, усугубляющим эпилептические припадки [5, 7]. У пациентов с височной парциальной эпилепсией отмечается повышенный уровень кортизола в крови [8], а циркадианный ритм его секреции положительно коррелирует с вероятностью возникновения приступов [9]. Несмотря на то что в целом стресс усугубляет эпилепсию, эффекты компонентов этой системы на эпилептические судороги различны [10]. Кортиколиберин и кортикостерон чаще всего усугубляют судорожный припадок [11, 12]. АКТГ обладает антиэпилептическим действием и используется в терапии инфантильных спазмов [13].

Адекватной экспериментальной моделью для изучения эпилепсии служат линии грызунов с генетической предрасположенностью к аудиогенным судорогам. Звуковая стимуляция у таких животных вызывает рефлекторный генерализованный судорожный припадок, моделирующий один из типов идиопатической рефлекторной эпилепсии у человека. При многократных стимуляциях наблюдается распространение исходно стволовой эпилептиформной активности на передний мозг [14], что позволяет реализовать феномен киндлинга лимбических структур (амигдалы, гиппокамп, коры) без инвазивных вмешательств.

Одной из старейших линий крыс, демонстрирующих аудиогенную эпилепсию, являются крысы линии Крушинского–Молодкиной (КМ). Для крыс КМ характерно раннее постнатальное созревание стресс-реакции ГГАКС [15] и ее более выраженный ответ на акустический и иммобилизационный стресс по сравнению с крысами линии Вистар [15, 16]. Хотя в базальных условиях активность центрального звена ГГАКС у интактных крыс КМ изменена незначительно, а секреция АКТГ и кортикостерона не отличается, однократная звуковая стимуляция вызывает выброс гормонов гипоталамуса и гипофиза уже на клонико-тонической стадии судорожного припадка [17]. При этом уровень кортикостерона остается повышенным даже через 24 ч после приступа, создавая потенциальный субстрат для долгосрочных изменений при повторных стимуляциях. Важно отметить, что звуковой стимул вызывает генерализованный судорожный припадок и достоверное повышение концентрации кортикостерона у крови у крыс линии КМ, тогда как у крыс линии Вистар на этот же стимул не наблюдается ни судорожного припадка, ни увеличения уровня кортикостерона [17].

Многократная звуковая стимуляция, сопровождающаяся у крыс КМ распространением эпилептиформной активности на передний мозг [18], приводит также к развитию длительной функциональной гиперкортизолемии [19]. Повышения интенсивности синтеза мРНК кортиколиберина и белка кортиколиберина, а также

изменений в количестве нейронов с GR иммунопозитивными ядрами в мелкоклеточной зоне паравентрикулярного ядра (мкПВЯ) гипоталамуса у крыс линии КМ при этом не наблюдается, равно как и повышения концентрации АКТГ в крови [20]. Вероятно, что как и в условиях хронического стресса, при многократной стимуляции судорожного припадка может происходить диссоциация центральных и периферических механизмов регуляции активности ГГКС [21]: происходит гиперплазия коры надпочечников [22] и повышение ее чувствительности к АКТГ, а также снижение тормозной регуляции активности мкПВЯ гиппокампом [23].

Поскольку как острое, так и хроническое повышение кортикостерона оказывает мощное модулирующее действие на структуры мозга с высокой плотностью GR, ключевое внимание при изучении роли ГГКС в эпилептогенезе традиционно уделяется гиппокампу [11]. GR-зависимая сигнализация способна напрямую модулировать возбудимость [24, 25] и пластичность гиппокампа [26, 27], а ее нарушение может лежать в основе как предрасположенности к судорожным состояниям, так и прогрессирования эпилепсии. Это особенно актуально для модели крыс линии КМ, у которых генетическая готовность к аудиогенным судорогам при повторных приступах трансформируется во вторичную эпилептизацию лимбических структур (аудиогенный киндлинг) [18] – процесс, при котором гиппокамп из мишени становится активным участником патологической сети. Мы предполагаем, что особенности экспрессии или функционирования GR в гиппокампе могут лежать в основе высокой склонности крыс КМ как к первичным стволовым судорожным припадкам, так и к последующему лимбическому киндлингу.

Предметом данного исследования стало сравнение экспрессии GR в гипоталамусе и гиппокампе крыс линии КМ и Вистар. Для оценки межлинейных различий в чувствительности кортиколиберинергических нейронов гипоталамуса к стресс-индуцированному выбросу кортикостероидов мы оценили экспрессию GR в нейронах мкПВЯ у крыс линии КМ и линии Вистар. Эффективность работы этой системы мы проанализировали, сравнив динамику активации и подавления активности ГГКС в ответ на иммобилизационный стресс. Для этого мы сравнили концентрацию АКТГ и кортикостерона в крови крыс линии КМ и Вистар сразу и через 60 мин после завершения 30-минутной иммобилизации. Для оценки возможности участия GR-зависимой регуляции гиппокампа в реализации предрасположенности к аудиогенным судорожным припадкам и при развитии аудиогенного киндлинга была проанализирована экспрессия мРНК *Nr3c1* и белка GR в гиппокампе у интактных крыс линии Вистар и крыс КМ в интактном состоянии и после многократной стимуляции аудиогенных судорожных припадков.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### *Животные*

В экспериментах использовали взрослых самцов инбредных крыс линии КМ и Вистар в возрасте 4,0–4,5 месяцев. Изначально крысы линии КМ были получены из Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова (биологический факультет, кафедра высшей нервной деятельности), затем линия поддерживалась путем близкородственного скрещивания в виварии Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН. Животных содержали группами по 4–5 особей в клетке в стандартных условиях ( $20 \pm 2$  °C, 12-часовой цикл свет/темнота) со свободным доступом к воде и стандартному корму для крыс.

*Дизайн экспериментов*

Для изучения чувствительности центрального звена ГТАКС к GR-зависимой негативной обратной связи была проанализирована экспрессия GR в ПВЯ у наивных (ранее не подвергавшихся звуковым стимуляциям) крыс КМ с предрасположенностью к аудиогенным судорогам ( $n = 9$ ) и устойчивых к звуку крыс линии Вистар ( $n = 10$ ). У 5 крыс каждой линии был взят мозг для последующей фиксации и дальнейшей проводки для иммуногистохимического анализа. У 4 крыс каждой линии были иссечены фрагменты гипоталамуса, содержащие ПВЯ, и гиппокампа для исследований методом ОТ-ПЦР в реальном времени.

Для оценки эффективности GR-зависимого торможения ГТАКС при остром стрессе мы сравнили влияние 30-минутного иммобилизационного стресса на концентрации гормонов АКТГ и кортикостерона в крови у крыс обеих линий. Во второй серии экспериментов проанализированы 6 групп: интактные крысы линии Вистар (W,  $n = 4$ ), крысы линии Вистар через 30 мин иммобилизации (W RS30',  $n = 4$ ), крысы линии Вистар через 2 ч после завершения 30-минутной иммобилизации (W RS30'+2h,  $n = 4$ ), интактные крысы линии КМ (KM,  $n = 4$ ), крысы линии КМ через 30 мин иммобилизации (KM RS30',  $n = 4$ ), крысы линии КМ через 2 ч после завершения 30-минутной иммобилизации (KM RS30'+2h,  $n = 4$ ). У крыс всех групп забор крови был проведен при декапитации в один день с 9:00 до 12:00 для получения сыворотки и плазмы и оценки концентрации гормонов с помощью коммерческих наборов для иммуноферментного анализа.

Для исследования чувствительности гиппокампа к GR-зависимой регуляции с предрасположенностью к аудиогенной эпилепсии и развитию аудиогенного киндлинга структур переднего мозга мы сравнили транскрипцию *Nr3c1* и экспрессию GR в пробах гиппокампа наивных крыс линии Вистар ( $n = 4$ ), наивных крыс линии КМ ( $n = 4$ ) и крыс линии КМ, подвергнутых 24 ежедневным звуковым стимуляциям судорожного припадка ( $n = 4$ ). В наших экспериментах аудиогенный киндлинг индуцировался 24 предъявлениями звукового сигнала частотой 10 кГц и интенсивностью 50 Дб (по 1 стимулу в день). Крысы КМ, подвергнутые 25 звуковым стимуляциям, были выведены из эксперимента через 24 ч после последней звуковой стимуляции. Все животные были декапитированы в один и тот же день. Из половинок гиппокампов были приготовлены пробы для вестерн-блот-анализа. Вторые половинки мозга крыс из групп КМ и КМ kindl\_24+1 были использованы для выделения РНК для оценки транскрипции мРНК с помощью ОТ-ПЦР в реальном времени. Материал для проведения сравнительного анализа уровня мРНК в гиппокампе крыс Вистар и наивных крыс линии КМ забирали в независимом эксперименте, выполненном по идентичному протоколу. В каждой группе было также по 4 крысы.

*Анализ мРНК с помощью ОТ-ПЦР в реальном времени*

Тотальную РНК выделяли из образцов гипоталамуса и гиппокампа с помощью реагента для выделения РНК PureZOL™ (BioRad, #732-6890). Концентрацию РНК определяли на спектрофотометре CLARIOstar Plus (BMG LABTECH) по стандартной методике. Чистоту образцов РНК проверяли по соотношению оптической плотности A260/A280 > 1,8. Два мкг тотальной РНК использовали для синтеза кДНК с помощью набора RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Scientific, #K1622). Количественную ОТ-ПЦР в реальном времени проводили

с использованием Evrogen 5x qPCR mix-HS SYBR (Evrogen, #PK147L). Праймеры (табл. 1) были сконструированы с помощью программы Primer-BLAST (NCBI, США).

**Таблица 1.** Используемые праймеры

**Table 1.** Primers used

Ген	Номер в базе данных NCBI	Последовательность левого праймера	Стартовая позиция левого праймера	Последовательность правого праймера	Стартовая позиция правого праймера
<i>Nr3c1</i>	M14053.1	ctaatacaccatctcttcaa	3365	agagaagtacttctgtctga	3526
<i>Rsp18</i>	NM_213557.1	cctgcgagtactcaacacca	81	ctgettctcaacaccaca	190
<i>Gapdh</i>	NM_017008.4	tcctcaagattgtcagcaa	496	agatccacaacggatacatt	803

Для ПЦР в реальном времени использовали систему LightCycler 96 (Roche). Параметры ПЦР были следующими: начальная денатурация – один цикл при 95 °С в течение 5 мин; 45 циклов денатурации, амплификации и количественной оценки (95 °С в течение 10 с, 53 °С в течение 15 с и 72 °С в течение 30 с); кривая плавления – начало при 65 °С и постепенное повышение до 95 °С. Пороговые значения циклов нормировали по отношению к среднему геометрическому референсных генов *Rsp18* и *Gapdh*. Экспрессия в контрольных пробах гипоталамуса или гиппокампа оценивалась как «1». Относительную кратность экспрессии генов рассчитывали по методу  $2^{-\Delta\Delta C_t}$ . Результаты представлены в виде столбчатых диаграмм. Каждое значение было объединено из 3 независимых ПЦР-реплик для каждого образца кДНК.

### Иммуногистохимический анализ

Мозг фиксировали в 4%-ном параформальдегиде в 0,1 М фосфатном буфере (PBS) при 4 °С в течение 7 суток, затем инкубировали в 20%-ном растворе сахарозы в PBS и замораживали погружением в охлажденный до –45 °С изопентан. Мозг нарезали на фронтальные срезы толщиной 8 мкм с помощью криомикротомы.

Иммуногистохимическое окрашивание проводили методом стрептавидин–биотин по стандартному протоколу. Срезы гипоталамуса инкубировали с первичными антителами против GR (1 : 100, Cell Signaling Technology, #12041). Затем срезы инкубировали с биотинилированными вторичными антителами (1 : 500, Vector Laboratories, Inc., BA-1000 или BA-9200), после чего – со стрептавидин–пероксидазой (1 : 700; Sigma-Aldrich, #S2438). Пероксидазная реакция проявлялась в PBS, содержащем 3,3'-диаминобензидин (DAB; 0,05%) и перекись водорода (0,01%).

Для контроля специфичности окрашивания в каждой иммуногистохимической реакции проводили инкубацию без первичных антител. Анализ результатов иммуногистохимического окрашивания выполняли под микроскопом Zeiss Axio Imager A1.

Срезы обрабатывали в стандартных условиях, что позволяло провести полуколичественный анализ белков на срезах путем подсчета числа иммунопозитивных

ядер в мелкоклеточной зоне ПВЯ. Подсчитывали все ядра с четкой GR-иммунореактивностью независимо от интенсивности окрашивания, включая как нейроны, так и потенциальные глиальные элементы. Из каждого животного анализировали по пять срезов на одном уровне ПВЯ.

### *Вестерн-блот-анализ*

Гиппокампы быстро изолировали, гомогенизировали в буфере для лизиса, содержащем ингибиторы протеаз и коктейль ингибиторов фосфатаз (оба от Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, США), с помощью тканевого гомогенизатора при 4 °С. Лизат инкубировали при 4 °С в течение 60 мин, затем осадок удаляли центрифугированием при 12 000 g в течение 15 мин при комнатной температуре. Концентрацию общего белка определяли с помощью BioRad protein assay (BioRad Laboratories Inc., Hercules, CA, США). Равные количества образцов (10 мкг белка на дорожку) наносили на 10%-ный SDS-ПАГ, подвергали электрофорезу и переносили на нитроцеллюлозную мембрану (Santa Cruz Biotechnology). После переноса белка мембраны окрашивали 0,1%-ным раствором Ponceau S в 1%-ной уксусной кислоте в течение 5 мин, затем мембрану отмывали дистиллированной водой (3–4 смены по 10 с) до появления четких полос и фотографировали для контроля равномерности загрузки. Далее мембраны отмывали от Ponceau S 3–4 сменами Tris-буфера с Tween (TBST; 0,1% Tween 20, 20 mM Tris, 137 mM NaCl; pH 7,4) и блокировали в 5%-ном обезжиренном молоке в TBST в течение 60 мин, затем инкубировали в течение ночи с первичными антителами против GR (1 : 1000, Cell Signaling Technology, #12041). Далее мембраны инкубировали со вторичными антителами, выработанными в козле против иммуноглобулинов кролика (1 : 10000, Sigma-Aldrich, #A5420) 1 ч при комнатной температуре. Специфические белковые полосы визуализировали хемилюминесцентной реакцией с использованием SuperSignal™ West Dura Extended Duration Substrate (ThermoFisher Scientific, #34075). Оптическую плотность измеряли с помощью программного обеспечения NIH ImageJ.

### *Имуноферментный анализ*

Для получения плазмы кровь собирали в пробирки с K<sub>2</sub>EDTA (лавандовая крышка), центрифугировали 15 мин при 1500 g и 4 °С. Для получения сыворотки кровь собирали в пробирки без антикоагулянта (красная крышка), после образования сгустка центрифугировали 25 мин при 1800 g и 4 °С. Супернатант (плазму) или сыворотку отбирали, аликвотировали и хранили при –80 °С.

Концентрацию АКТГ в плазме определяли с помощью иммуноферментного анализа (Phoenix Pharmaceuticals Inc., #ЕКЕ-001-21) по инструкции производителя. Набор предназначен для определения АКТГ крысы и обладает 100%-ной перекрестной реактивностью с АКТГ, 0% – с β-эндорфином, 0% – с α-MSH и 0% – с LH-RH. Минимальная определяемая концентрация – 0,08 нг/мл.

Концентрацию кортикостерона в сыворотке определяли с помощью конкурентного иммуноферментного анализа (Хема, # K210R) по инструкции производителя. Набор предназначен для определения кортикостерона крысы и обладает 100%-ной перекрестной реактивностью с кортикостероном, 1,8% – с кортизолом, 2,2% – с прогестероном и <0,10% – с 11-дезоксикортикостероном и дегидроэпиандростероном. Минимальная определяемая концентрация – 5 нмоль/л.

Концентрацию АКТГ в плазме и кортикостерона в сыворотке измеряли в дубликатах (25 мкл) для каждой крысы и сравнивали со стандартной кривой известных концентраций калибровочных образцов. Оптическую плотность измеряли при 450 нм на ридере Anthos 2020 (Biochrom, Великобритания). Концентрации рассчитывали по стандартной кривой в Curve Expert 1.3.

### *Статистический анализ*

*Общий подход.* Ввиду малого объема выборок в экспериментальных группах ( $n = 4-5$ ) и для обеспечения устойчивости анализа к возможным отклонениям от предпосылок параметрических тестов приоритет отдавался непараметрическим и робастным методам. Все данные на рисунках представлены в виде индивидуальных значений, медиан и интерквартильного размаха (25-й и 75-й перцентили). Уровень статистической значимости устанавливали при  $p < 0,05$ .

*1. Сравнение двух независимых групп.* Для сравнения двух независимых групп применяли непараметрический U-критерий Манна–Уитни. Величину эффекта для статистически значимых различий оценивали с помощью непараметрического показателя Cliff's Delta ( $\delta$ ), интерпретируя  $|\delta| > 0,147$  как малый эффект,  $|\delta| > 0,33$  как средний,  $|\delta| > 0,474$  как большой (в соответствии с условными порогами, аналогичными критериям Коэна).

*2. Сравнение трех независимых групп.* Для сравнения трех независимых групп применяли непараметрический критерий Краскела–Уоллиса. При обнаружении статистически значимых различий проводили post-hoc попарные сравнения с использованием критерия Данна (Dunn's test) с коррекцией на множественные сравнения (метод Бонферрони); при этом анализировали только заранее определенные пары: Вистар vs KM (интактные) и KM (интактные) vs KM (киндлинг). Величину эффекта для статистически значимых попарных различий оценивали с помощью Cliff's Delta ( $\delta$ ) (интерпретация пороговых значений аналогична описанной для U-критерия Манна–Уитни).

*3. Факторный анализ влияния линии и стресса на гормональный ответ.* Для оценки влияния двух факторов – фенотипа крыс (межгрупповой фактор: Wistar, KM) и условий стресс-теста (внутригрупповой/несбалансированный фактор: Контроль, Стресс – 30 мин, Восстановление – 2 ч) – на уровни АКТГ и кортикостерона использовали двухфакторный дисперсионный анализ на выровненных рангах (Aligned Rank Transform ANOVA, ART ANOVA). Этот метод позволяет корректно анализировать сложные факторные дизайны с взаимодействиями, преобразуя исходные данные в ранги. Для значимых эффектов рассчитывали парциальную эта-квадрат ( $\eta^2_p$ ) как меру величины эффекта. Значения интерпретировали как малый ( $\geq 0,01$ ), средний ( $\geq 0,06$ ) и большой ( $\geq 0,14$ ) эффект.

Post-hoc-анализ: при обнаружении статистически значимого главного эффекта или взаимодействия факторов попарные сравнения проводили с использованием функции `art.con()` (пакет ARTool для R) с поправкой Холма для контроля над множественными сравнениями. Это включало сравнения между условиями внутри каждой линии и сравнения линий внутри каждого условия (анализ простых эффектов).

*4. Программное обеспечение.* Описательная статистика, построение графиков, U-критерий Манна–Уитни, критерий Краскела–Уоллиса выполнены в GraphPad Prism 10.0 (GraphPad Software, США). ART ANOVA, расчет величины эффекта Cliff's  $\delta$  и пост-хок-тесты выполнялись в среде R (версия 4.3.1, R Foundation for

Statistical Computing) с использованием пакетов: ARTool, emmeans, effsize (функция cliff.delta()).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### *Межлинейные различия в экспрессии GR в мкПВЯ гипоталамуса интактных крыс линии КМ и линии Вистар*

Мы показали, что количество GR-иммунопозитивных ядер на срезе с мкПВЯ гипоталамуса было на 40% ниже у интактных крыс линии КМ ( $n = 4$ ), чем у крыс линии Вистар ( $n = 5$ ) (рис. 1б); непараметрический критерий Манна–Уитни подтвердил статистическую значимость различий с исключительно большой величиной эффекта ( $U = 0, p = 0,02$ ; Cliff's  $\delta = -1$ ). Не было выявлено статистически значимых межлинейных различий в уровне мРНК *Nr3c1* в гипоталамусе крыс линии КМ ( $n = 4$ ) и линии Вистар ( $n = 4$ ) ( $U = 3, p = 0,2$ , Cliff's  $\delta = -0,625$ ; рис. 1а). Таким образом, у крыс линии КМ обнаружено значительное снижение количества белка GR в нейронах мкПВЯ на фоне неизменного уровня мРНК *Nr3c1* в гипоталамусе в целом. Мы предполагаем, что это рассогласование может быть связано с нарушениями посттранскрипционных процессов (трансляции, стабильности белка). Выявленный дефицит белка GR в ключевом центре регуляции стресс-ответа теоретически может ослаблять GR-зависимую отрицательную обратную связь, что требует прямой функциональной проверки в дальнейших исследованиях.

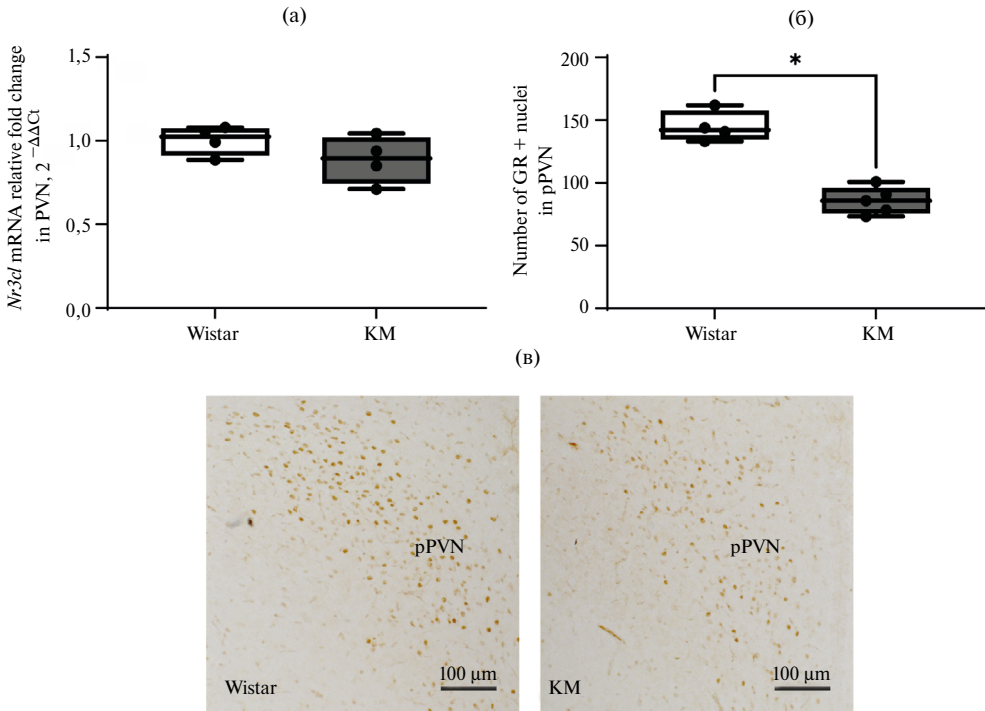
### *Влияние острого стресса на секрецию гормонов ГПАКС*

**АКТГ.** Влияние иммобилизационного стресса на уровень АКТГ оценивали с помощью непараметрического дисперсионного анализа (ART ANOVA). Обнаружен значимый главный эффект фазы стресса ( $F(2,18) = 16,80, p < 0,001, \eta^2p = 0,65$ ). Эффект фенотипа ( $F(1,18) = 0,22, p = 0,64, \eta^2p = 0,01$ ) и взаимодействие факторов ( $F(2,18) = 1,18, p = 0,33, \eta^2p = 0,12$ ) были статистически незначимы. Post-hoc-анализ с поправкой Холма показал достоверное повышение уровня гормона через 30 мин иммобилизации по сравнению с контролем ( $p < 0,001$ ) и его снижение после 30 мин восстановления по сравнению с уровнем в конце 30-минутной иммобилизации ( $p < 0,001$ ). Различия между контролем и восстановлением были незначимы ( $p = 0,30$ ). Статистически значимых различий между линиями крыс на отдельных этапах стресс-теста выявлено не было.

**Кортикостерон.** Анализ уровня кортикостерона (ART ANOVA) выявил значимые главные эффекты как фазы стресса ( $F(2,18) = 17,11, p < 0,001, \eta^2p = 0,66$ ), так и фенотипа ( $F(1,18) = 16,35, p < 0,001, \eta^2p = 0,48$ ). Взаимодействие факторов не достигло уровня значимости ( $F(2,18) = 2,58, p = 0,10$ ). Post-hoc-анализ для главного эффекта фенотипа подтвердил, что общий уровень кортикостерона (усредненный по всем фазам) у крыс линии КМ достоверно выше, чем у Вистар ( $p < 0,001$ ). Однако попарное сравнение в контроле не выявило значимой разницы между линиями ( $p = 0,48$ ). При этом в конце 30-минутной иммобилизации и в фазе восстановления у крыс КМ наблюдались численно и визуально существенно более высокие уровни гормона (рис. 1б). Анализ главного эффекта фазы стресса показал достоверное повышение уровня кортикостерона через 30 мин стресса по сравнению с контролем ( $p < 0,001$ ) и его значимое снижение после восстановления по сравнению с пиком стресса ( $p < 0,001$ ). У крыс Вистар уровень кортикостерона в фазе восстановления

не отличался от контроля ( $p = 0,26$ ), тогда как у КМ он оставался статистически

неотличим от контроля, но демонстрировал большую вариабельность.



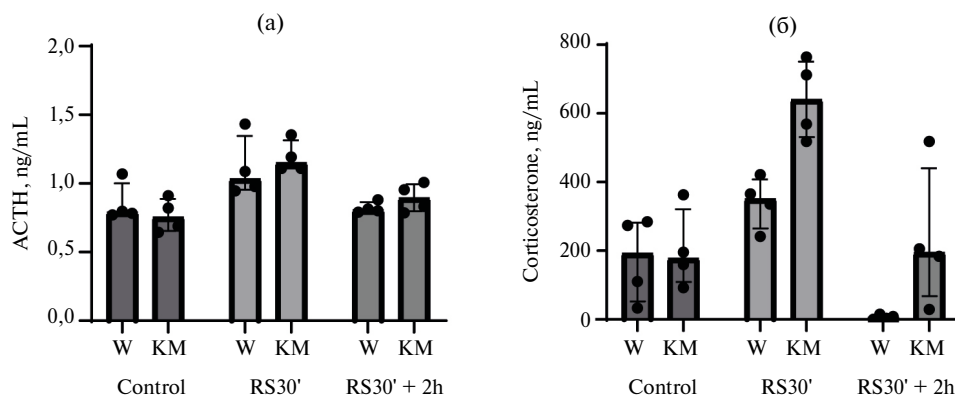
**Рис. 1.** Межлинейные различия в транскрипции *Nr3c1* и экспрессии глюкокортикоидных рецепторов (GR) в гипоталамусе крыс линии КМ (КМ) и линии Вистар (Wistar). (а) – ОТ-ПЦР в реальном времени не выявил статистически значимых межлинейных различий в уровне мРНК *Nr3c1* у крыс КМ и Вистар. График результатов показывает относительную экспрессию (нормирована на среднее геометрическое генов сравнения (*Rsp18/Gapdh*)); (б) – иммуногистохимический анализ показал, что у крыс линии КМ число GR-иммунопозитивных ядер в мкПВЯ (pPVN) ниже, чем у крыс линии Вистар. На графике представлено количество GR-позитивных клеточных ядер на мкПВЯ. На графиках все данные представлены в виде медианы  $\pm$  интерквартильный размах (коробчатые диаграммы), минимальное и максимальное значение (усы), \* –  $p < 0,05$ , критерий Манна–Уитни; (в) – репрезентативные микрофотографии GR-иммунопозитивного вещества в мкПВЯ интактных крыс линии КМ и Вистар

**Fig. 1.** Interstrain differences in glucocorticoid receptor (GR) expression in the hypothalamus of КМ (Krushinsky–Molodkina) and Wistar rats. (a) – real-time qRT-PCR revealed no statistically significant interstrain differences in *Nr3c1* mRNA levels between КМ and Wistar rats. The plot shows relative expression data normalized to the geometric mean of reference genes (*Rsp18/Gapdh*); (б) – immunohistochemical analysis demonstrated that the number of GR-immunopositive nuclei in the parvocellular part of the paraventricular nucleus (pPVN) was lower in КМ rats compared to Wistar rats. The graph presents the count of GR-positive cell nuclei per parvocellular zone of the PVN. In the graphs, all data are presented as median  $\pm$  interquartile range (box plots), with minimum and maximum values (whiskers) (\* –  $p < 0.05$ , Mann–Whitney U test). (в) – representative microphotographs of GR-immunopositive in the PVN of intact КМ and Wistar rats. Scale bar: 100 μm

*Межлинейные различия в экспрессии GR в гиппокампе у интактных крыс линии KM и линии Вистар. Влияние многократной стимуляции аудиогенного судорожного припадка на экспрессию GR в гиппокампе крыс линии KM*

Высокая экспрессия GR в гиппокампе [28] делает эту область особенно уязвимой для глюкокортикоид-зависимых структурно-функциональных изменений, возникающих при хроническом стрессе и эпилепсии [27, 28]. Мы не выявили межлинейных различий в уровне мРНК *Nr3c1* в гиппокампе крыс линии KM и линии Вистар ( $U = 6, p = 0,07$ ; Cliff's  $\delta = -0,250$ , малый эффект; рис. 3а). 24-дневная ежедневная стимуляция судорожных припадков, приводящих к эпилептизации гиппокампа у крыс KM, также не повлияла на уровень мРНК *Nr3c1* ( $U = 6, p = 0,66$ ; Cliff's  $\delta = -0,250$ , малый эффект; рис. 3б).

Для анализа экспрессии белка было проведено сравнение трех групп: интактных крыс линии Вистар, интактных крыс KM и крыс KM через 4 ч после 24-дневного аудиогенного киндлинга. Непараметрический критерий Краскела–Уоллиса выявил статистически значимые различия между группами ( $H = 6,038, df = 2, p < 0,05$ ). При попарном сравнении с использованием критерия Данна (Dunn's test) и поправки Бонферрони на два запланированных сравнения (Wistar vs KM и KM vs KM\_kindl\_24+1) установлено, что содержание белка GR в группе KM\_kindl\_24+1 достоверно выше, чем в группе KM ( $z = 2,45, p < 0,05, Cliff's \delta = 1,0$  (максимальный отрицательный эффект, полное отсутствие перекрытия); рис. 3в, г). Вестерн-блот-анализ выявил тенденцию к снижению уровня белка GR у интактных крыс KM по сравнению с Вистар (Cliff's  $\delta = 0,75$ , большой эффект), однако



**Рис. 2.** Влияние 30-минутной иммобилизации на концентрацию гормонов в сыворотке крови крыс линий Вистар (W) и KM (KM). (а) – концентрация АКТГ (ACTH); (б) – концентрация кортикостерона (Corticosterone). Животных анализировали в базальном состоянии (Control), через 30 мин иммобилизации (RS30') и через 2 ч восстановления (RS30' + 2h). Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха

**Fig. 2.** Effect of restraint stress on serum hormone concentrations in Wistar (W) and Krushinsky–Molodkina (KM) rat lines. (а) – adrenocorticotrophic hormone (ACTH) concentration; (б) – corticosterone concentration. Animals were analyzed at baseline (Control), after 30 minutes of immobilization stress (RS30'), and after a 2-hour recovery period (RS30' + 2h). Data are presented as median and interquartile range

различие не достигло статистической значимости после коррекции на множественные сравнения ( $p > 0,05$ ).

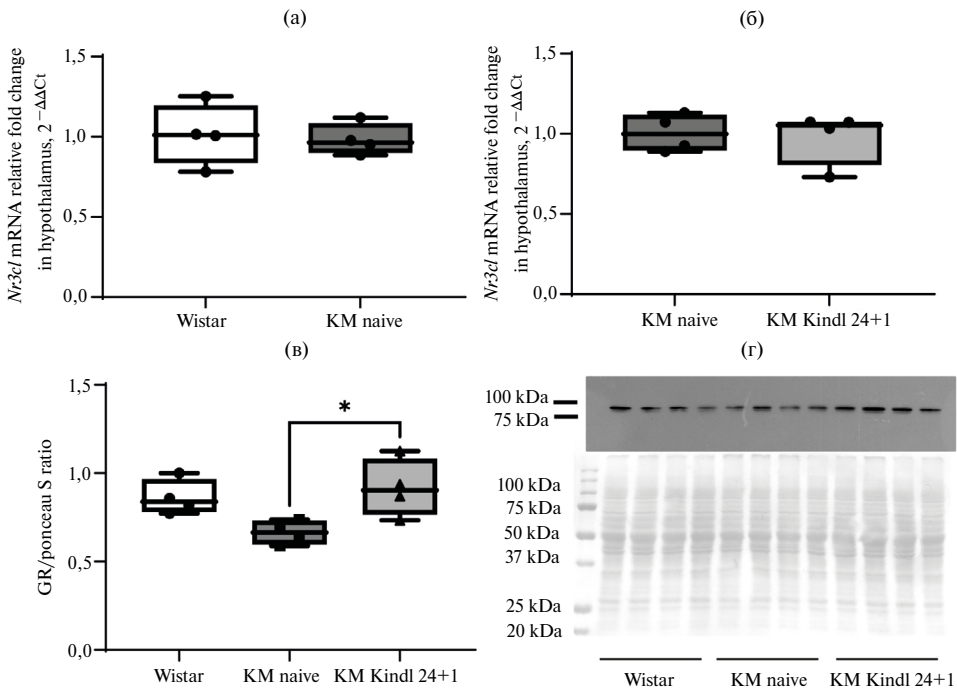
Таким образом, на уровне мРНК значимых различий не обнаружено ни между линиями, ни при аудиогенном киндлинге. На посттрансляционном уровне повторяющиеся судорожные припадки приводят к значимому повышению содержания белка GR у крыс линии КМ. Различие между исходными уровнями белка GR у крыс Wistar и КМ после коррекции на множественные сравнения не достигло статистической значимости, однако большая величина эффекта (Cliff's  $\delta = 0,75$ ) указывает на выраженную биологическую разницу, требующую подтверждения на выборке большего объема. Мы предполагаем, что выявленный дефицит белка GR (требующий дальнейшей верификации) может ослаблять GR-опосредованное отрицательное влияние глюкокортикоидов на нейрональную возбудимость, способствуя вовлечению гиппокампа в эпилептическую сеть, тогда как его значимое повышение после киндлинга может модулировать чувствительность гиппокампа к циркулирующим глюкокортикоидам, что требует отдельной экспериментальной верификации.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

### *Оценка межлинейных различий в экспрессии GR в нейронах ПВЯ и в гиппокампе крыс линии КМ и линии Вистар*

Целью настоящего исследования был сравнительный анализ GR-зависимой регуляции в гипоталамусе и гиппокампе у крыс линии КМ с наследственной предрасположенностью к аудиогенной эпилепсии. Мы показали, что в мкПВЯ гипоталамуса в базальном состоянии у крыс линии КМ число GR-иммунопозитивных ядер снижено по сравнению с крысами линии Вистар (рис. 1б–г). Несмотря на то что в мкПВЯ GR экспрессируются преимущественно в кортиколиберинергических нейронах [29], вклад глиальных клеток (микроглии, астроцитов) в общее число GR-позитивных ядер полностью исключать нельзя. Показанное нами снижение числа клеток мкПВЯ, содержащих GR-иммунопозитивные ядра, может указывать на снижение чувствительности нейронов (и, возможно, глиальных клеток) мкПВЯ к GR-опосредованному торможению активности по механизму отрицательной обратной связи [2, 3] и таким образом может приводить к повышению активности ГГКС у крыс линии КМ.

Ранее нами было показано, что у крыс КМ экспрессия кортиколиберина в гипоталамусе понижена по сравнению с крысами линии Вистар, а секреция АКТГ и кортикостерона не отличается у крыс обеих линий [17]. Показанное в данном исследовании снижение числа GR-иммунореактивных нейронов в мкПВЯ (рис. 1б), свидетельствующее о снижении тонического ингибирования этих нейронов, по-видимому, компенсирует повышение содержания GAD67 – ключевого фермента синтеза тормозного медиатора ГАМК в волокнах, иннервирующих мкПВЯ, показанное ранее [17]. В данном исследовании мы показали, что у крыс линии КМ иммобилизационный стресс приводит к численно более выраженному повышению в крови концентрации кортикостерона через 30 мин после начала стресса и более позднему затуханию его секреции у крыс линии КМ по сравнению с крысами линии Вистар (рис. 2б). Полученная динамика указывает на сниженную способность к быстрому динамическому торможению стресс-реакции, что хорошо согласуется с выявленной пониженной чувствительностью нейронов мкПВЯ к кортикостерону. Высокая стресс-реактивность надпочечников отмечена также у другой линии крыс



**Рис. 3.** Содержание мРНК *Nr3c1* (а, б) и GR (в, г) в гиппокампе крыс линии Вистар (Wistar), интактных крыс KM (KM naïve) и крыс KM через 24 ч после завершения 24-кратной стимуляции аудиогенных судорожных припадков (Kindl 24+1). (а) – ОТ-ПЦР в реальном времени не выявил статистически значимых межлинейных различий в уровне мРНК *Nr3c1* в гиппокампе у крыс KM и Вистар; (б) – многократная стимуляция аудиогенного судорожного припадка также не повлияла на относительную экспрессию *Nr3c1* в гиппокампе крыс линии KM. Графики результатов ОТ-ПЦР в реальном времени показывают относительную экспрессию (нормировано на среднее геометрическое референсных генов (*Rsp18/Gapdh*)); (в) – вестерн-блотт-анализ не выявил межлинейных различий в уровне GR в гиппокампе у крыс линии Вистар и крыс KM. Многократная стимуляция аудиогенного судорожного припадка у крыс KM привела к повышенной экспрессии GR в гиппокампе; (г) – репрезентативный иммуноблот GR и мембрана, окрашенная Понсеау (для контроля загрузки) в гиппокампе интактных крыс линии Вистар, наивных крыс KM и крыс KM после 24-дневного аудиогенного киндлинга. Данные представлены в виде медианы  $\pm$  интерквартильный размах (коробчатые диаграммы), минимальное и максимальное значение (усы), \* –  $p < 0,05$  (критерий Манна–Уитни)

**Fig. 3.** Levels of *Nr3c1* mRNA (а, б) and GR protein (в, г) in the hippocampus of Wistar rats, naïve KM rats (KM naïve), and KM rats 24 hours after completion of 24-time stimulation of audiogenic seizures (Kindling 24+1). (а) – real-time qRT-PCR revealed no statistically significant interstrain differences in *Nr3c1* mRNA levels in the hippocampus between KM and Wistar rats; (б) – repeated stimulation of audiogenic seizures also did not affect the relative expression of *Nr3c1* mRNA in the hippocampus of KM rats. The real-time qRT-PCR result plots show relative expression normalized to the geometric mean of reference genes (*Rsp18/Gapdh*); (в) – western blot analysis revealed no interstrain differences in hippocampal GR protein levels between Wistar and KM rats. Repeated audiogenic seizure stimulation in KM rats led to increased GR protein expression in the hippocampus. Repeated stimulation of audiogenic seizures in KM rats led to an increased expression of GR protein in the hippocampus (г) – representative immunoblots of GR and Ponceau-stained membrane (for loading control) in the hippocampus of intact Wistar rats, naïve KM rats, and KM rats after 24-day audiogenic kindling. Data are presented as median  $\pm$  interquartile range (box plots), with minimum and maximum values (whiskers); \* –  $p < 0.05$  (Mann–Whitney U test)

с генетической предрасположенностью к аудиогенной эпилепсии — у крыс линии WAR [30]. Таким образом, в целом полученные данные свидетельствуют о том, что для крыс линии КМ характерен дефицит ингибирования нейронов мкПВЯ гипоталамуса по принципу отрицательной обратной связи, что может обуславливать повышение стресс-реактивности ГГКС.

*Оценка межлинейных различий в экспрессии GR в гиппокампе крыс линии КМ и линии Вистар*

Вторым ключевым предметом нашего исследования стал гиппокамп — структура, критически важная как для регуляции активности ГГКС [2, 23], так и для формирования очага вторичной эпилептизации у крыс линии КМ [31, 32]. Раньше считалось, что предрасположенность к аудиогенным судорожным припадкам у грызунов связана с нарушением развития преимущественно стволовых отделов мозга, задействованных в работе слуховой системы [33]. К настоящему времени очевидно, что для отделов переднего мозга также характерны базовые биохимические нарушения [34–36] и изменения в электрической активности мозга [37, 38], и они вовлекаются в аудиогенный судорожный припадок уже при первом предъявлении соответствующего звукового сигнала [39].

Мы не выявили межлинейных различий в транскрипции гена *Nr3c1* в гиппокампе (рис. 3а), как и белка GR в гиппокампе крыс КМ по сравнению с крысами Вистар (рис. 3в, г). В гиппокампе GR отвечают за подавление возбудимости нейронов гиппокампа (из-за повышения внутриклеточного уровня кальция) и синаптической пластичности (нарушение долговременной потенциации), предположительно, для нормализации активности гиппокампа после стресса и защиты информации, полученной во время стресса [40].

Несмотря на отсутствие различий в экспрессии GR между линиями в наших условиях, гиппокамп остается ключевым звеном регуляции стрессорного ответа [23]. Ранее в этой работе было показано снижение числа GR+ ядер в ПВЯ гипоталамуса, а также более выраженное повышение уровня кортикостерона у крыс КМ при иммобилизационном стрессе — как через 30 мин воздействия, так и через 2 ч после его завершения. Можно предположить, что наблюдаемые межлинейные различия в стресс-реактивности ГГКС связаны, по крайней мере частично, с нарушением отрицательной обратной связи на уровне ПВЯ вследствие снижения экспрессии GR [3, 4]. Отсутствие межлинейных различий в содержании GR в гиппокампе указывает на то, что данный механизм не вносит вклад в повышенную стресс-реактивность у крыс линии КМ. В то же время нельзя исключить участие других молекулярных или функциональных особенностей гиппокампа [11], а также нарушений в иных отделах лимбической системы (миндалины, префронтальной коры) и других структурах мозга, задействованных в регуляции ГГКС [2, 27] при формировании повышенной стресс-реактивности у крыс линии КМ.

*Влияние многократной стимуляции аудиогенного судорожного припадка на экспрессию GR в гиппокампе крыс линии КМ*

Результаты исследований влияния эпилептических судорог на экспрессию GR в гиппокампе разнятся. В ряде работ показано, что судороги вызывают снижение экспрессии *Nr3c1* в гиппокампе [41, 42]. Также показано повышение экспрессии *Nr3c1* в зубчатой извилине через 4 ч после последней судороги, вызванной

киндлингом амигдалы [43]. Результаты исследований, в которых изучали эффекты манипуляций с экспрессией GR на структурно-функциональное состояние гиппокампа и распространение эпилептиформной активности за пределы гиппокампа также весьма противоречивы [28, 44, 45]. Разнообразие данных может быть связано с различиями в моделях, временной динамике эффектов и исследуемых субрегионах гиппокампа.

В данной работе мы показали, что многократные судорожные припадки вызвали повышение содержания белка GR в гиппокампе через сутки после 24-го аудиогенного судорожного припадка (рис. 3в, г). Ранее было показано, что через сутки после завершения 21-дневного аудиогенного киндлинга происходит активация продукции глутамата в нейронах гиппокампа, а также увеличение экспрессии рецепторов глутамата, сохраняющееся через сутки после последнего судорожного припадка [46]. Можно предположить, что повышение экспрессии GR в гиппокампе на фоне повышенного содержания кортикостерона в крови через сутки после 24-го аудиогенного судорожного припадка представляет собой компенсаторную реакцию, направленную на активацию GR-опосредованного торможения и ограничение глутаматергической гиперактивации. Однако активации GR-опосредованного торможения, по-видимому, оказывается недостаточно, чтобы снизить активность глутаматергических нейронов гиппокампа, повысившуюся в ходе многократных аудиогенных судорожных припадков [47]. Также показанное нами повышение экспрессии GR в гиппокампе в условиях хронически повышенной концентрации кортикостерона в крови может быть одним из механизмов нейродегенерации этой зоны мозга при аудиогенном киндлинге крыс КМ, показанной ранее [18].

Интересно, что через 24 ч после завершения аудиогенного киндлинга, сопровождающегося повышением кортикостерона в крови [19], ни транскрипция, ни синтез кортиколиберина, ни экспрессия GR в нейронах мкПВЯ гипоталамуса крыс КМ не отличаются от таковых у наивных животных [20]. Это указывает на то, что механизм устойчивого повышения глюкокортикоидов в крови в модели аудиогенного киндлинга в большей степени связан с повышением активности коры надпочечников, чем с гиперфункцией центрального звена ГГКС. Обнаруженная стабильность биохимических показателей активности нейронов гипоталамуса в условиях аудиогенного киндлинга хорошо согласуется с результатами классических электрофизиологических экспериментов, декларирующих чрезвычайно высокую устойчивость гипоталамуса к электрическому киндлингу по сравнению с гиппокампом, миндалиной и т. д. [48].

Таким образом, многократная стимуляция судорожных припадков приводит к устойчивым изменениям ГГКС, при которых фокус дисрегуляции смещается с гипоталамического звена на периферическое (кора надпочечников). В то же время гиппокамп отвечает на повторяющиеся приступы и хроническое повышение глюкокортикоидов в крови повышением экспрессии GR, что, с одной стороны, парадоксально на фоне его классической даунрегуляции при стрессе [49]. С другой стороны, данный процесс может выполнять компенсаторно-адаптивную функцию, направленную на подавление избыточной глутаматергической сигнализации и сопутствующей эпилептиформной активности [50]. Однако в условиях продолжающегося стресса и высокого уровня кортикостерона повышенная экспрессия GR может приобретать патологический характер, способствуя чрезмерной возбудимости, нарушениям синаптической пластичности и в конечном итоге – нейродегенеративным изменениям [51, 52]. Формирующийся в гиппокампе склероз и функциональное разобщение нейронных сетей [18], в свою очередь, создают

субстрат для иррадиации и автономизации эпилептиформной активности. Таким образом, избыточная экспрессия GR в гиппокампе может быть ключевым звеном в цепи событий, ведущих от генетической предрасположенности к реализованному эпилептогенезу.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У крыс линии КМ выявлено снижение числа GR иммунопозитивных ядер в мкПВЯ по сравнению с крысами линии Вистар, что указывает на снижение чувствительности этих зон к торможению по механизму отрицательной обратной связи и хорошо согласуется с повышенной стресс-реактивностью ГГАКС. В отличие от ПВЯ, в гиппокампе межлинейных различий в экспрессии GR белка не обнаружено. Это позволяет предположить, что в основе гиперреактивности ГГАКС у крыс КМ лежит первичное нарушение GR-зависимого торможения на уровне гипоталамуса, а не недостаточность GR-опосредованного контроля со стороны гиппокампа. При многократном воспроизведении аудиогенных судорожных припадков, приводящем к развитию аудиогенного киндлинга гиппокампа и коры, на фоне уже существующей гиперреактивности ГГАКС происходит дальнейшее нарастание уровня кортикостерона и, как показано в данной работе, повышение содержания GR в гиппокампе. Повышение чувствительности гиппокампа к глюкокортикоидам, вероятно, носит компенсаторный характер и направлено на ограничение чрезмерной активации этой структуры, однако этого усиления оказывается недостаточно для предотвращения прогрессирования эпилептиформной активности. Более того, длительная гиперстимуляция GR-опосредованных сигнальных путей на фоне высокого уровня кортикостерона может способствовать реорганизации гиппокампальных сетей и облегчению распространения эпилептиформной активности. Таким образом, исходные межлинейные различия в ГГАКС обусловлены преимущественно гипоталамическим звеном, тогда как изменения GR в гиппокампе возникают вторично, на фоне хронической гиперкортизолемии и повторной судорожной активности, и могут вносить вклад в поддержание и прогрессию эпилептиформного процесса.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Smith S.M., Vale W.W. The role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in neuroendocrine responses to stress. *Dialogues Clin. Neurosci.* 2006. Vol. 8. No. 4. Pp. 383–395. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2006.8.4/ssmith>
2. Herman J.P., McKlveen J.M., Ghosal S. et al. Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical stress response. *Compr. Physiol.* 2016. Vol. 6. No. 2. Pp. 603–621. <https://doi.org/10.1002/cphy.c150015>
3. Herman J.P., Tasker J.G. Paraventricular hypothalamic mechanisms of chronic stress adaptation. *Front. Endocrinol.* 2016. Vol. 7. 137. <https://doi.org/10.3389/fendo.2016.00137>
4. Keller-Wood M. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis – feedback control. *Compr. Physiol.* 2015. Vol. 5. No. 3. Pp. 1161–1182. <https://doi.org/10.1002/cphy.c140065>

5. Maguire J., Salpekar J.A. Stress, seizures, and hypothalamic-pituitary-adrenal axis targets for the treatment of epilepsy. *Epilepsy Behav.* 2013. Vol. 26. No. 3. Pp. 352–362. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2012.09.040>
6. Bian X., Yang W., Lin J. et al. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis and epilepsy. *J. Clin. Neurol.* 2024. Vol. 20. No. 2. Pp. 131–139. <https://doi.org/10.3988/jcn.2023.0308>
7. Lai C-W., Trimble M.R. Stress and epilepsy. *J. Epilepsy.* 1997. Vol. 10. No. 4. Pp. 177–186. [https://doi.org/10.1016/S0896-6974\(97\)00017-0](https://doi.org/10.1016/S0896-6974(97)00017-0)
8. Druzhkova T.A., Yakovlev A.A., Rider F.K. et al. Elevated serum cortisol levels in patients with focal epilepsy, depression, and comorbid epilepsy and depression. *Int. J. Mol. Sci.* 2022. Vol. 23. No. 18. 10414. <https://doi.org/10.3390/ijms231810414>
9. van Campen J.S., Valentijn F.A., Jansen F.E. et al. Seizure occurrence and the circadian rhythm of cortisol: a systematic review. *Epilepsy Behav.* 2015. Vol. 47. Pp. 132–137. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2015.04.071>
10. Basu T., Maguire J., Salpekar J.A. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis targets for the treatment of epilepsy. *Neurosci. Lett.* 2021. Vol. 746. 135618. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2020.135618>
11. Joels M. Stress, the hippocampus, and epilepsy. *Epilepsia.* 2009. Vol. 50. No. 4. Pp. 586–597. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2008.01902.x>
12. Marrosu F., Fratta W., Carcangiu P. et al. Localized epileptiform activity induced by murine CRF in rats. *Epilepsia.* 1988. Vol. 29. No. 4. Pp. 369–373. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1988.tb03733.x>
13. Brunson K.L., Avishai-Eliner S., Baram T.Z. ACTH treatment of infantile spasms: mechanisms of its effects in modulation of neuronal excitability. *Int. Rev. Neurobiol.* 2002. Vol. 49. Pp. 185–197. [https://doi.org/10.1016/s0074-7742\(02\)49013-7](https://doi.org/10.1016/s0074-7742(02)49013-7)
14. Garcia-Cairasco N. A critical review on the participation of inferior colliculus in acoustic-motor and acoustic-limbic networks involved in the expression of acute and kindled audiogenic seizures. *Hear. Res.* 2002. Vol. 168. No. 1–2. Pp. 208–222. [https://doi.org/10.1016/s0378-5955\(02\)00371-4](https://doi.org/10.1016/s0378-5955(02)00371-4)
15. Шаляпина В.Г., Гарина И.А., Ракицкая В.В. и др. О линейных различиях в реактивности гипофизарно-адренокортикальной системы у крыс. *Физиологический журнал СССР им. И.М. Сеченова.* 1982. Т. 68. № 5. С. 616–620.
16. Nikitina M.M., Romanova L.G. Blood corticosterone level in Krushinskii-Molodkina and Wistar rats after short exposure to acoustic stimulation. *Bull. Exp. Biol. Med.* 1981. Vol. 92. No. 5. Pp. 1510–1511. <https://doi.org/10.1007/BF00829885>
17. Gorbacheva E., Kulikov A., Chernigovskaya E. et al. Characteristics of the functional state of the hypothalamo-hypophyseal-adrenocortical system in Krushinskii-Molodkina rats. *Neurosci. Behav. Physiol.* 2020. Vol. 50. No. 4. Pp. 459–467. <https://doi.org/10.1007/s11055-020-00921-2>
18. Kulikov A.A., Naumova A.A., Dorofeeva N.A. et al. Dynamics of neurodegeneration in the hippocampus of Krushinsky-Molodkina rats correlates with the progression of limbic seizures. *Epilepsy Behav.* 2022. Vol. 134. 108846. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2022.108846>

19. Harbachova E.L., Chernigovskaya E.V., Glazova M.V. et al. Audiogenic kindling activates expression of vasopressin in the hypothalamus of Krushinsky-Molodkina rats genetically prone to reflex epilepsy. *J. Neuroendocrinol.* 2020. Vol. 32. No. 4. e12846. <https://doi.org/10.1111/jne.12846>
20. Harbachova E.L., Chernigovskaya E.V., Kulikov A.A. et al. Effect of audiogenic kindling on the central component of hypothalamic–pituitary–adrenal axis in Krushinsky–Molodkina rats. *J. Evol. Biochem. Physiol.* 2026. Vol. 62. No. 1. Pp. 132–146.
21. Armario A., Restrepo C., Castellanos J.M. et al. Dissociation between adrenocorticotropin and corticosterone responses to restraint after previous chronic exposure to stress. *Life Sci.* 1985. Vol. 36. No. 22. Pp. 2085–2092. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(85\)90304-2](https://doi.org/10.1016/0024-3205(85)90304-2)
22. Ulrich-Lai Y.M., Figueiredo H.F., Ostrander M.M. et al. Chronic stress induces adrenal hyperplasia and hypertrophy in a subregion-specific manner. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2006. Vol. 291. No. 5. Pp. E965–E973. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00070.2006>
23. Sapolsky R.M., Krey L.C., McEwen B.S. Glucocorticoid-sensitive hippocampal neurons are involved in terminating the adrenocortical stress response. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1984. Vol. 81. No. 19. Pp. 6174–6177. <https://doi.org/10.1073/pnas.81.19.6174>
24. Moghaddam B., Bolinao M.L., Stein-Behrens B. et al. Glucocorticoids mediate the stress-induced extracellular accumulation of glutamate. *Brain Res.* 1994. Vol. 655. No. 1–2. Pp. 251–254. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(94\)91622-5](https://doi.org/10.1016/0006-8993(94)91622-5)
25. de Kloet E.R., Joels M., Holsboer F. Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nat. Rev. Neurosci.* 2005. Vol. 6. No. 6. Pp. 463–475. <https://doi.org/10.1038/nrn1683>
26. Sapolsky R.M., Krey L.C., McEwen B.S. Prolonged glucocorticoid exposure reduces hippocampal neuron number: implications for aging. *J. Neurosci.* 1985. Vol. 5. No. 5. Pp. 1222–1227. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.05-05-01222.1985>
27. Wulsin A.C., Solomon M.B., Privitera M.D. et al. Hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis dysfunction in epilepsy. *Physiol. Behav.* 2016. Vol. 166. Pp. 22–31. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.05.015>
28. Kraus K.L., Nawreen N., Godale C.M. et al. Hippocampal glucocorticoid receptors modulate status epilepticus severity. *Neurobiol. Dis.* 2023. Vol. 178. 106014. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2023.106014>
29. Liposits Z., Uht R.M., Harrison R.W. et al. Ultrastructural localization of glucocorticoid receptor (GR) in hypothalamic paraventricular neurons synthesizing corticotropin releasing factor (CRF). *Histochemistry.* 1987. Vol. 87. Pp. 407–412. <https://doi.org/10.1007/BF00496811>
30. Umeoka E.H., Garcia S.B., Antunes-Rodrigues J. et al. Functional characterization of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis of the Wistar Audiogenic Rat (WAR) strain. *Brain Res.* 2011. Vol. 1381. Pp. 141–147. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2011.01.042>
31. Naritoku D.K., Mecozzi L.B., Aiello M.T. et al. Repetition of audiogenic seizures in genetically epilepsy-prone rats induces cortical epileptiform activity and additional

- seizure behaviors. *Exp. Neurol.* 1992. Vol. 115. No. 3. Pp. 317–324. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(92\)90197-x](https://doi.org/10.1016/0014-4886(92)90197-x)
32. Garcia-Cairasco N., Umeoka E.H.L., Cortes de Oliveira J.A. The Wistar Audiogenic Rat (WAR) strain and its contributions to epileptology and related comorbidities: history and perspectives. *Epilepsy Behav.* 2017. Vol. 71. Pt B. Pp. 250–273. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2017.04.001>
33. Faingold C.L. Brainstem networks: reticulo-cortical synchronization in generalized convulsive seizures. В сб.: J.L. Noebels, M. Avoli, M.A. Rogawski et al. (eds.) *Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies*. 4th ed. Bethesda, 2012.
34. Kulikov A.A., Dorofeeva N.A., Naumova A.A. et al. Impaired postnatal development of the hippocampus of Krushinsky-Molodkina rats genetically prone to audiogenic seizures. *Epilepsy Behav.* 2020. Vol. 113. 107526. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2020.107526>
35. Ivlev A.P., Naumova A.A. Postnatal development of the hippocampal GABAergic system in rats genetically prone to audiogenic seizures. *Int. J. Dev. Neurosci.* 2023. Vol. 83. No. 8. Pp. 703–714. <https://doi.org/10.1002/jdn.10298>
36. Aleksandrova E.P., Ivlev A.P., Kulikov A.A. et al. Aging of Krushinsky-Molodkina audiogenic rats is accompanied with pronounced neurodegeneration and dysfunction of the glutamatergic system in the hippocampus. *Brain Res.* 2025. Vol. 1846. 149294. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2024.149294>
37. Litvinova S.A., Yakovleva A.A., Voronina T.A. et al. Ontogeny of the epileptic system in the Krushinsky–Molodkina rat strain with genetically determined audiogenic epilepsy. *Dokl. Biol. Sci.* 2025. Vol. 521. No. 1. Pp. 95–101. <https://doi.org/10.1134/S0012496624600489>
38. Медведев А.В. Спектральный анализ ЭЭГ крыс в норме и при генетически обусловленной судорожной готовности. *Нейрофизиология.* 1987. Т. 19. С. 171–179.
39. Vinogradova L.V., Grinenko O.A. Ictal electrographic pattern of focal subcortical seizures induced by sound in rats. *Brain Res.* 2016. Vol. 1635. Pp. 161–168. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2016.01.027>
40. Myers B., McKlveen J.M., Herman J.P. Glucocorticoid actions on synapses, circuits, and behavior: implications for the energetics of stress. *Front. Neuroendocrinol.* 2014. Vol. 35. No. 2. Pp. 180–196. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2013.12.003>
41. Kalynchuk L.E., Meaney M.J. Amygdala kindling increases fear responses and decreases glucocorticoid receptor mRNA expression in hippocampal regions. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 2003. Vol. 27. No. 8. Pp. 1225–1234. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2003.09.016>
42. Bao G.S., Cheng X.Q., Hua Y. et al. Changes of glucocorticoid receptor mRNA expression in basolateral amygdale-kindled rats. *Chin. Med. J. (Engl).* 2011. Vol. 124. No. 17. Pp. 2622–2627. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0366-6999.2011.17.011>
43. Clark M., Smith M.A., Weiss S.R. et al. Modulation of hippocampal glucocorticoid and mineralocorticoid receptor mRNA expression by amygdaloid kindling. *Neuroendocrinology.* 1994. Vol. 59. No. 5. Pp. 451–456. <https://doi.org/10.1159/000126691>

44. Wulsin A.C., Kraus K.L., Gaitonde K.D. et al. The glucocorticoid receptor specific modulator CORT108297 reduces brain pathology following status epilepticus. *Exp. Neurol.* 2021. Vol. 341. 113703. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2021.113703>
45. Gass P., Kretz O., Wolfer D.P. et al. Genetic disruption of mineralocorticoid receptor leads to impaired neurogenesis and granule cell degeneration in the hippocampus of adult mice. *EMBO Rep.* 2000. Vol. 1. No. 5. Pp. 447–451. <https://doi.org/10.1093/embo-reports/kvd088>
46. Aleksandrova E.P., Ivlev A.P., Kulikov A.A. et al. Audiogenic kindling activates glutamatergic system in the hippocampus of rats with genetic predisposition to audiogenic seizures. *Brain Res.* 2024. Vol. 1829. 148792. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2024.148792>
47. Aleksandrova E.P., Ivlev A.P., Kulikov A.A. et al. Chronic dysregulation of glutamatergic transmission in the hippocampus of Krushinsky–Molodkina rats induced by repeated epileptiform seizures. *J. Evol. Biochem. Physiol.* 2023. Vol. 59. No. 5. Pp. 1551–1565. <https://doi.org/10.1134/S0022093023050083>
48. Goddard G.V., McIntyre D.C., Leech C.K. A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *Exp. Neurol.* 1969. Vol. 25. No. 3. Pp. 295–330. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(69\)90128-9](https://doi.org/10.1016/0014-4886(69)90128-9)
49. Sapolsky R.M., Krey L.C., McEwen B.S. Stress down-regulates corticosterone receptors in a site-specific manner in the brain. *Endocrinology.* 1984. Vol. 114. No. 1. Pp. 287–292. <https://doi.org/10.1210/endo-114-1-287>
50. Sapolsky R.M. Stress and plasticity in the limbic system. *Neurochem. Res.* 2003. Vol. 28. No. 11. Pp. 1735–1742. <https://doi.org/10.1023/a:1026021307833>
51. Joels M., Sarabdjitsingh R.A., Karst H. Unraveling the time domains of corticosteroid hormone influences on brain activity: rapid, slow, and chronic modes. *Pharmacol. Rev.* 2012. Vol. 64. No. 4. Pp. 901–938. <https://doi.org/10.1124/pr.112.005892>
52. Kumar G., Couper A., O'Brien T.J. et al. The acceleration of amygdala kindling epileptogenesis by chronic low-dose corticosterone involves both mineralocorticoid and glucocorticoid receptors. *Psychoneuroendocrinology.* 2007. Vol. 32. No. 7. Pp. 834–842. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2007.05.011>

## REFERENCES

1. Smith S.M., Vale W.W. The role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in neuroendocrine responses to stress. *Dialogues Clin. Neurosci.* 2006;**8**(4):383–395. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2006.8.4/ssmith>
2. Herman J.P., McKlveen J.M., Ghosal S. et al. Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical stress response. *Compr. Physiol.* 2016;**6**(2):603–621. <https://doi.org/10.1002/cphy.c150015>
3. Herman J.P., Tasker J.G. Paraventricular hypothalamic mechanisms of chronic stress adaptation. *Front. Endocrinol.* 2016;**7**:137. <https://doi.org/10.3389/fendo.2016.00137>
4. Keller-Wood M. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis – feedback control. *Compr. Physiol.* 2015;**5**(3):1161–1182. <https://doi.org/10.1002/cphy.c140065>

5. Maguire J., Salpekar J.A. Stress, seizures, and hypothalamic-pituitary-adrenal axis targets for the treatment of epilepsy. *Epilepsy Behav.* 2013;**26**(3):352–362. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2012.09.040>
6. Bian X., Yang W., Lin J. et al. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis and epilepsy. *J. Clin. Neurol.* 2024;**20**(2):131–139. <https://doi.org/10.3988/jcn.2023.0308>
7. Lai C-W., Trimble M.R. Stress and epilepsy. *J. Epilepsy.* 1997;**10**(4):177–186. [https://doi.org/10.1016/S0896-6974\(97\)00017-0](https://doi.org/10.1016/S0896-6974(97)00017-0)
8. Druzhkova T.A., Yakovlev A.A., Rider F.K. et al. Elevated serum cortisol levels in patients with focal epilepsy, depression, and comorbid epilepsy and depression. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;**23**(18):10414. <https://doi.org/10.3390/ijms231810414>
9. van Campen J.S., Valentijn F.A., Jansen F.E. et al. Seizure occurrence and the circadian rhythm of cortisol: a systematic review. *Epilepsy Behav.* 2015;**47**:132–137. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2015.04.071>
10. Basu T., Maguire J., Salpekar J.A. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis targets for the treatment of epilepsy. *Neurosci. Lett.* 2021;**746**:135618. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2020.135618>
11. Joels M. Stress, the hippocampus, and epilepsy. *Epilepsia.* 2009;**50**(4):586–597. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2008.01902.x>
12. Marrosu F., Fratta W., Carcangiu P. et al. Localized epileptiform activity induced by murine CRF in rats. *Epilepsia.* 1988;**29**(4):369–373. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1988.tb03733.x>
13. Brunson K.L., Avishai-Eliner S., Baram T.Z. ACTH treatment of infantile spasms: mechanisms of its effects in modulation of neuronal excitability. *Int. Rev. Neurobiol.* 2002;**49**:185–197. [https://doi.org/10.1016/s0074-7742\(02\)49013-7](https://doi.org/10.1016/s0074-7742(02)49013-7)
14. Garcia-Cairasco N. A critical review on the participation of inferior colliculus in acoustic-motor and acoustic-limbic networks involved in the expression of acute and kindled audiogenic seizures. *Hear. Res.* 2002;**168**(1–2):208–222. [https://doi.org/10.1016/s0378-5955\(02\)00371-4](https://doi.org/10.1016/s0378-5955(02)00371-4)
15. Shaliapina V.G., Garina I.A., Rakitskaia V.V. et al. Linear differences in the reactivity of the hypophyseal-adrenocortical system in rats. O lineynykh razlichiyakh v reaktivnosti gipofizarno-adrenokortikal'noy sistemy u krysa [Linear differences in the reactivity of the hypophyseal-adrenocortical system in rats]. *Fiziologicheskii zhurnal SSSR im. I.M. Sechenova.* 1982;**68**(5):616–620. (In Russ.)
16. Nikitina M.M., Romanova L.G. Blood corticosterone level in Krushinskii-Molodkina and Wistar rats after short exposure to acoustic stimulation. *Bull. Exp. Biol. Med.* 1981;**92**(5):1510–1511. <https://doi.org/10.1007/BF00829885>
17. Gorbacheva E., Kulikov A., Chernigovskaya E. et al. Characteristics of the functional state of the hypothalamo-hypophyseal-adrenocortical system in Krushinskii-Molodkina rats. *Neurosci. Behav. Physiol.* 2020;**50**(4):459–467. <https://doi.org/10.1007/s11055-020-00921-2>
18. Kulikov A.A., Naumova A.A., Dorofeeva N.A. et al. Dynamics of neurodegeneration in the hippocampus of Krushinsky-Molodkina rats correlates with the progression of limbic seizures. *Epilepsy Behav.* 2022;**134**:108846. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2022.108846>

19. Harbachova E.L., Chernigovskaya E.V., Glazova M.V. et al. Audiogenic kindling activates expression of vasopressin in the hypothalamus of Krushinsky-Molodkina rats genetically prone to reflex epilepsy. *J. Neuroendocrinol.* 2020;**32**(4):e12846. <https://doi.org/10.1111/jne.12846>
20. Harbachova E.L., Chernigovskaya E.V., Kulikov A.A. et al. Effect of audiogenic kindling on the central component of hypothalamic–pituitary–adrenal axis in Krushinsky–Molodkina rats. *J. Evol. Biochem. Physiol.* 2026;**62**(1):132–146.
21. Armario A., Restrepo C., Castellanos J.M. et al. Dissociation between adrenocorticotropin and corticosterone responses to restraint after previous chronic exposure to stress. *Life Sci.* 1985;**36**(22):2085–2092. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(85\)90304-2](https://doi.org/10.1016/0024-3205(85)90304-2)
22. Ulrich-Lai Y.M., Figueiredo H.F., Ostrander M.M. et al. Chronic stress induces adrenal hyperplasia and hypertrophy in a subregion-specific manner. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2006;**291**(5):E965–E973. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00070.2006>
23. Sapolsky R.M., Krey L.C., McEwen B.S. Glucocorticoid-sensitive hippocampal neurons are involved in terminating the adrenocortical stress response. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1984;**81**(19):6174–6177. <https://doi.org/10.1073/pnas.81.19.6174>
24. Moghaddam B., Bolinao M.L., Stein-Behrens B. et al. Glucocorticoids mediate the stress-induced extracellular accumulation of glutamate. *Brain Res.* 1994;**655**(1–2):251–254. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(94\)91622-5](https://doi.org/10.1016/0006-8993(94)91622-5)
25. de Kloet E.R., Joels M., Holsboer F. Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nat. Rev. Neurosci.* 2005;**6**(6):463–475. <https://doi.org/10.1038/nrn1683>
26. Sapolsky R.M., Krey L.C., McEwen B.S. Prolonged glucocorticoid exposure reduces hippocampal neuron number: implications for aging. *J. Neurosci.* 1985;**5**(5):1222–1227. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.05-05-01222.1985>
27. Wulsin A.C., Solomon M.B., Privitera M.D. et al. Hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis dysfunction in epilepsy. *Physiol. Behav.* 2016;**166**:22–31. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.05.015>
28. Kraus K.L., Nawreen N., Godale C.M. et al. Hippocampal glucocorticoid receptors modulate status epilepticus severity. *Neurobiol. Dis.* 2023;**178**:106014. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2023.106014>
29. Liposits Z., Uht R.M., Harrison R.W. et al. Ultrastructural localization of glucocorticoid receptor (GR) in hypothalamic paraventricular neurons synthesizing corticotropin releasing factor (CRF). *Histochemistry.* 1987;**87**:407–412. <https://doi.org/10.1007/BF00496811>
30. Umeoka E.H., Garcia S.B., Antunes-Rodrigues J. et al. Functional characterization of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis of the Wistar Audiogenic Rat (WAR) strain. *Brain Res.* 2011;**1381**:141–147. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2011.01.042>
31. Naritoku D.K., Mecozzi L.B., Aiello M.T. et al. Repetition of audiogenic seizures in genetically epilepsy-prone rats induces cortical epileptiform activity and additional seizure behaviors. *Exp. Neurol.* 1992;**115**(3):317–324. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(92\)90197-x](https://doi.org/10.1016/0014-4886(92)90197-x)
32. Garcia-Cairasco N., Umeoka E.H.L., Cortes de Oliveira J.A. The Wistar Audiogenic Rat (WAR) strain and its contributions to epileptology and related

- comorbidities: history and perspectives. *Epilepsy Behav.* 2017;**71 Pt B**:250–273. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2017.04.001>
33. Faingold C.L. Brainstem networks: reticulo-cortical synchronization in generalized convulsive seizures. In: J.L. Noebels, M. Avoli, M.A. Rogawski et al. (eds.) *Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies*. 4th ed. Bethesda; 2012.
  34. Kulikov A.A., Dorofeeva N.A., Naumova A.A. et al. Impaired postnatal development of the hippocampus of Krushinsky-Molodkina rats genetically prone to audiogenic seizures. *Epilepsy Behav.* 2020;**113**:107526. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2020.107526>
  35. Ivlev A.P., Naumova A.A. Postnatal development of the hippocampal GABAergic system in rats genetically prone to audiogenic seizures. *Int. J. Dev. Neurosci.* 2023;**83**(8):703–714. <https://doi.org/10.1002/jdn.10298>
  36. Aleksandrova E.P., Ivlev A.P., Kulikov A.A. et al. Aging of Krushinsky-Molodkina audiogenic rats is accompanied with pronounced neurodegeneration and dysfunction of the glutamatergic system in the hippocampus. *Brain Res.* 2025;**1846**:149294. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2024.149294>
  37. Litvinova S.A., Yakovleva A.A., Voronina T.A. et al. Ontogeny of the epileptic system in the Krushinsky–Molodkina rat strain with genetically determined audiogenic epilepsy. *Dokl. Biol. Sci.* 2025;**521**(1):95–101. <https://doi.org/10.1134/S0012496624600489>
  38. Medvedev A.V. Spektral'nyy analiz EEG krysa v norme i pri geneticheski obuslovlennoy sudorozhnoy gotovnosti [Spectral analysis of the EEG of the healthy rat and the rats with genetically determined seizure susceptibility]. *Neyrofiziolgiya.* 1987;**19**(2):171–179. (In Russ.)
  39. Vinogradova L.V., Grinenko O.A. Ictal electrographic pattern of focal subcortical seizures induced by sound in rats. *Brain Res.* 2016;**1635**:161–168. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2016.01.027>
  40. Myers B., McKlveen J.M., Herman J.P. Glucocorticoid actions on synapses, circuits, and behavior: implications for the energetics of stress. *Front. Neuroendocrinol.* 2014;**35**(2):180–196. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2013.12.003>
  41. Kalynchuk L.E., Meaney M.J. Amygdala kindling increases fear responses and decreases glucocorticoid receptor mRNA expression in hippocampal regions. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 2003;**27**(8):1225–1234. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2003.09.016>
  42. Bao G.S., Cheng X.Q., Hua Y. et al. Changes of glucocorticoid receptor mRNA expression in basolateral amygdala-kindled rats. *Chin. Med. J. (Engl).* 2011;**124**(17):2622–2627. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0366-6999.2011.17.011>
  43. Clark M., Smith M.A., Weiss S.R. et al. Modulation of hippocampal glucocorticoid and mineralocorticoid receptor mRNA expression by amygdaloid kindling. *Neuroendocrinology.* 1994;**59**(5):451–456. <https://doi.org/10.1159/000126691>
  44. Wulsin A.C., Kraus K.L., Gaitonde K.D. et al. The glucocorticoid receptor specific modulator CORT108297 reduces brain pathology following status epilepticus. *Exp. Neurol.* 2021;**341**:113703. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2021.113703>

45. Gass P., Kretz O., Wolfer D.P. et al. Genetic disruption of mineralocorticoid receptor leads to impaired neurogenesis and granule cell degeneration in the hippocampus of adult mice. *EMBO Rep.* 2000;**1**(5):447–451. <https://doi.org/10.1093/embo-reports/kvd088>
46. Aleksandrova E.P., Ivlev A.P., Kulikov A.A. et al. Audiogenic kindling activates glutamatergic system in the hippocampus of rats with genetic predisposition to audiogenic seizures. *Brain Res.* 2024;**1829**:148792. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2024.148792>
47. Aleksandrova E.P., Ivlev A.P., Kulikov A.A. et al. Chronic dysregulation of glutamatergic transmission in the hippocampus of Krushinsky–Molodkina rats induced by repeated epileptiform seizures. *J. Evol. Biochem. Physiol.* 2023;**59**(5):1551–1565. <https://doi.org/10.1134/S0022093023050083>
48. Goddard G.V., McIntyre D.C., Leech C.K. A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *Exp. Neurol.* 1969;**25**(3):295–330. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(69\)90128-9](https://doi.org/10.1016/0014-4886(69)90128-9)
49. Sapolsky R.M., Krey L.C., McEwen B.S. Stress down-regulates corticosterone receptors in a site-specific manner in the brain. *Endocrinology.* 1984;**114**(1):287–292. <https://doi.org/10.1210/endo-114-1-287>
50. Sapolsky R.M. Stress and plasticity in the limbic system. *Neurochem. Res.* 2003;**28**(11):1735–1742. <https://doi.org/10.1023/a:1026021307833>
51. Joels M., Sarabdjitsingh R.A., Karst H. Unraveling the time domains of corticosteroid hormone influences on brain activity: rapid, slow, and chronic modes. *Pharmacol. Rev.* 2012;**64**(4):901–938. <https://doi.org/10.1124/pr.112.005892>
52. Kumar G., Couper A., O'Brien T.J. et al. The acceleration of amygdala kindling epileptogenesis by chronic low-dose corticosterone involves both mineralocorticoid and glucocorticoid receptors. *Psychoneuroendocrinology.* 2007;**32**(7):834–842. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2007.05.011>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Горбачева Евгения Леонидовна – канд. биол. наук; мл. науч. сотр., Институт эволюционной физиологии и биохимии имени И.М. Сеченова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Российская Федерация; Postdoc, German Center for Neurodegenerative Diseases (DZNE), Bonn, Germany  
E-mail: jengorbacheva@gmail.com  
<https://orcid.org/0000-0001-9639-4849>

Черниговская Елена Валерьевна – д-р биол. наук; гл. науч. сотр., Институт эволюционной физиологии и биохимии имени И.М. Сеченова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Российская Федерация  
E-mail: chem755@mail.ru  
<https://orcid.org/0000-0002-1041-5619>

Куликов Алексей Андреевич – канд. биол. наук; науч. сотр., Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Российская Федерация  
E-mail: alekskulikovaa95@gmail.com  
<https://orcid.org/0000-0002-1385-6903>

Бахтеева Вера Талгатовна – канд. биол. наук; ст. науч. сотр., Институт эволюционной физиологии и биохимии имени И.М. Сеченова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Российская Федерация  
E-mail: vera\_bach@mail.ru  
<https://orcid.org/0000-0001-6926-7748>

Николаева Светлана Дмитриевна – канд. биол. наук; ст. науч. сотр., Институт эволюционной физиологии и биохимии имени И.М. Сеченова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Российская Федерация  
E-mail: sveta.nikolaeva@gmail.com  
<https://orcid.org/0000-0003-1019-7188>

Никитина Любовь Сергеевна – канд. биол. наук; ст. науч. сотр., Институт эволюционной физиологии и биохимии имени И.М. Сеченова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Российская Федерация  
E-mail: lubasun@gmail.com  
<https://orcid.org/0000-0003-3386-4422>

Поступила в редакцию 10.02.2026  
После доработки 29.03.2026  
Принята к публикации 07.04.2026

ABOUT THE AUTHORS

Harbachova, Evgeniya L. – Cand. Sc. (Biology); Research Assistant, I.M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russian Federation; Postdoc, German Center for Neurodegenerative Diseases (DZNE), Bonn, Germany  
E-mail: jengorbacheva@gmail.com  
<https://orcid.org/0000-0001-9639-4849>

Chernigovskaya, Elena V. – Ph.D. (Biology); Chief Researcher, I.M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russian Federation  
E-mail: chern755@mail.ru  
<https://orcid.org/0000-0002-1041-5619>

Kulikov, Alexey A. – Cand. Sc. (Biology); Research Officer, I.M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russian Federation  
E-mail: alekskulikovaa95@gmail.com  
<https://orcid.org/0000-0002-1385-6903>

Bakhteeva, Vera T. – Cand. Sc. (Biology); Senior Research Officer, I.M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russian Federation  
E-mail: vera\_bach@mail.ru  
<https://orcid.org/0000-0001-6926-7748>

Nikolaeva, Svetlana D. – Cand. Sc. (Biology); Senior Research Officer, I.M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russian Federation  
E-mail: sveta.nikolaeva@gmail.com  
<https://orcid.org/0000-0003-1019-7188>

Nikitina, Liubov S. – Cand. Sc. (Biology); Senior Research Officer, I.M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russian Federation  
E-mail: lubasun@gmail.com  
<https://orcid.org/0000-0003-3386-4422>

Received February 10, 2026

Revised March 29, 2026

Accepted April 07, 2026