

УДК:612.824.6:636.2

Научный обзор

DOI: 10.32634/0869-8155-2024-381-4-35-43

И.П. Новгородова

Федеральный исследовательский центр
животноводства — ВИЖ им. академика
Л.К. Эрнста, пос. Дубровицы, г. о. Подольск,
Московская обл., Россия

✉ novg-inna2005@yandex.ru

Поступила в редакцию:
29.12.2023

Одобрена после рецензирования:
12.03.2024

Принята к публикации:
28.03.2024

Review

DOI: 10.32634/0869-8155-2024-381-4-35-43

Inna P. Novgorodova

L.K. Ernst Federal Research Center for Animal
Husbandry, Dubrovitsy village, Podolsk,
Moscow region, Russia

✉ novg-inna2005@yandex.ru

Received by the editorial office:
29.12.2023

Accepted in revised:
12.03.2024

Accepted for publication:
28.03.2024

Методы определения концентрации кортизола у животных

РЕЗЮМЕ

Стероидный гормон кортизол является конечным продуктом гипоталамо-гипофизонадпочечниковой оси (ГГНО). В последнее время кортизол рассматривают как потенциальный биомаркер для выявления стресса, так как он напрямую связан с реакцией организма на тревогу. Наиболее распространенными методами для определения эндокринного статуса, в том числе кортизола, являются иммуноферментный анализ (ИФА) и радиоиммуноанализ (РИА). Они являются наиболее надежными и обладают высокой чувствительностью. Уровень кортизола определяют в основном в крови, слюне, сыворотке и моче. Концентрация гормона в этих пробах связана с циркадным ритмом и колеблется в течение дня. Поэтому образцы биоматериала позволяют анализировать острые динамические изменения кортизола. Последствия хронического стресса требуют оценки его долгосрочных уровней. Концентрация кортизола в волосах (шерсти) всё чаще используется в качестве биомаркера длительного стресса. Анализ кортизола в волосах, таким образом, стал крупным методологическим достижением, поскольку обеспечивает ретроспективную оценку кумулятивных уровней в течение длительного периода времени — от нескольких дней до нескольких месяцев. За последнее десятилетие была установлена достоверность динамики уровня кортизола в волосах (шерсти) как показателя долгосрочного уровня. Кроме того, этот материал является наиболее стабильным в течение длительного времени и устойчивым к воздействию окружающей среды. Измерение уровня кортизола в волосах — это инновационный метод определения долгосрочного его повышения, не зависящего от многих методологических трудностей и не связанного с другими матрицами. Интерес к волосам как к объекту эндокринной активности обусловлен различными уникальными особенностями, которые дают много преимуществ по сравнению с другими биоматериалами.

Ключевые слова: кортизол, стресс, гипоталамо-гипофизонадпочечниковая ось, циркадный ритм, ИФА, животные

Для цитирования: Новгородова И.П. Методы определения концентрации кортизола у животных. *Аграрная наука*. 2024; 381(4): 35–43.

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2024-381-4-35-43>

© Новгородова И.П.

Methods for determining cortisol concentrations in animals

ABSTRACT

The steroid hormone cortisol is the end product of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis. Recently, cortisol has been considered as a potential biomarker for identifying stress, because it is directly related to the body's response. The most common methods for determining endocrine status, including cortisol, are enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and radioimmunoassay (RIA), as they are the most reliable and have high sensitivity. Cortisol levels are determined mainly in blood, saliva, serum and urine. The concentration of this hormone in these samples is related to the circadian rhythm and fluctuates throughout the day. Therefore, samples of this biomaterial allow the analysis of acute dynamic changes in cortisol. The effects of chronic stress require assessment of long-term stress levels. Hair (fur) cortisol concentrations are increasingly used as a biomarker of long-term stress. Hair cortisol analysis has thus been a major methodological advance because it provides retrospective assessment of cumulative levels over long periods of time (from days to months). Over the past decade, the validity of hair (fur) cortisol levels as an indicator of long-term levels has been established. In addition, this material is the most stable over time and resistant to environmental influences. Measuring hair cortisol levels is an innovative method for determining long-term increases in cortisol levels, independent of many methodological difficulties and not associated with other matrices. Interest in hair as an object of endocrine activity is due to various unique features that provide many advantages over other biomaterials.

Key words: cortisol, stress, Hypothalamus-pituitary gland adrenal axis, circadian rhythm, ELISA, animals

For citation: Novgorodova I.P. Methods for determining cortisol concentrations in animals. *Agrarian science*. 2024; 381(4): 35–43 (in Russian).

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2024-381-4-35-43>

© Novgorodova I.P.

Введение/Introduction

Отсутствие надежного метода для определения хронического стресса как у людей, так и у животных привело к необходимости поиска неинвазивного надежного способа, отражающего долгосрочные концентрации кортизола в организме. Исследования, направленные на сравнение традиционно используемых субстратов (кровь, фекалии, слюна) и волос (шерсти) с целью изучения влияния стрессовых состояний на концентрацию гормонов, позволили получить доказательства, что последние являются подходящей матрицей для анализа глюкокортикоидов в организме [1].

Во время активного роста волос волосяная луковица тесно связана с капиллярной системой, окружающей фолликулы, и гормоны, в том числе кортизол, пассивно перемещаются из капилляров в стержень волоса. Эти образцы не позволяют определять краткосрочные гормональные колебания, а затрагивают только изменения, происходящие в организме при хроническом стрессе и к подавлению неадаптивных функций (изменение иммунной, репродуктивной системы и т. д.) [2, 3].

Анализ определения концентрации кортизола с использованием волос (шерсти) стал достаточно широко применяемым для ретроспективной оценки активности гипоталамо-гипофизонадпочечниковой системы (ГГНС) как за рубежом, так и в России. Основные работы, связанные с использованием шерсти в качестве «индикатора» содержания этого гормона у многих видов млекопитающих (диких и домашних), были проведены иностранными исследователями.

Основное преимущество использования волос (шерсти) при определении содержания кортизола в организме — это то, что они являются своего рода «архивом» деятельности эндокринной системы. Эти образцы позволяют определять средний уровень гормона, накопленного за определенный срок жизни у людей или животных при хроническом стрессе [1]. В то время как при традиционных методах можно выявить только кратковременные колебания кортизола при остром стрессе (период от нескольких минут до нескольких дней), для получения информации за более длительный период времени необходимо собирать несколько образцов таких субстратов, как кровь, моча и т. д. Отбор проб крови, слюны является стрессом для организма, что затрудняет интерпретацию полученных данных. Измерение кратковременных колебаний кортизола полезно при изучении непосредственных реакций животных на внешние раздражители и связанные с ними физиологические изменения в организме [4].

Другим преимуществом использования волос (шерсти) для определения концентрации кортизола в организме является стабильная среда для стероидов [3, 5]. Поэтому эти образцы могут транспортироваться и храниться в условиях окружающей среды, оставаясь биологически значимыми в течение длительного периода времени. Их можно собирать с помощью минимально инвазивных методов (выстригание, бритье), что является очень важным для мониторинга долгосрочной активности ГГНС системы, а также сохранения и благополучия жизни и здоровья животных [1]. Определение концентрации кортизола из волос (шерсти) является относительно простым методом при использовании в основном стандартного метода ИФА.

Материалы и методы исследования / Materials and methods

В работе применяли аналитические методы сбора информации и анализа иностранных источников

литературы за последние 25 лет. Глубина поиска была проведена с использованием данных Scopus, Web of Science и других научных баз.

Результаты и обсуждение / Results and discussion

Анализ содержания кортизола в волосах (шерсти) является методологическим достижением, обеспечивающим ретроспективную оценку его кумулятивного уровня в течение длительного периода времени.

Использование кортизола. Кортизол является гормоном, секретируемым пучковой оболочкой коры надпочечников и связываемым с глюкокортикоидными рецепторами. Этот гормон обнаружен почти в каждой клетке позвоночных. Секретция кортизола в организме происходит по определенному циркадному ритму и может существенно повышаться в ответ на физиологический стресс. Он играет важную роль в метаболизме жиров, белков и углеводов [6] и участвует в широком спектре физиологических процессов организма человека и животных.

Считается, что лучший способ биологического измерения стресс-реакции заключается в оценке активности гипоталамо-гипофизонадпочечниковой системы (ГГНС) с определением уровня кортизола. Уровень этого стероидного гормона в биологических образцах является ценным биомаркером для диагностики стресса. Именно поэтому определение кортизола в биологических жидкостях (сыворотка крови, слюна, моча) имеет большое клиническое значение [7].

Примерно 80–90% гормона в плазме крови связано с кортикостероидсвязывающими белками, остальная часть циркулирует в связанном виде с альбумином, лишь небольшая часть (около 10%) циркулирует в свободном виде. Секретция кортизола происходит под контролем гипоталамо-гипофизонадпочечниковой оси (ГГНО).

К основным функциям кортизола в организме относятся иммунный ответ, реакцию на стресс, а также гомеостаз глюкозы и белка. Кортизол оказывает большое влияние на уровень сахара в крови, обмен веществ, воспалительные процессы. Высокий уровень этого гормона может быть связан с неблагоприятным состоянием организма (тревогой), низкий уровень диагностируется при первичной надпочечниковой недостаточности [8].

Работы многих авторов были направлены на изучение корреляции уровня кортизола со стрессом. Следует учитывать тот факт, что содержание этого гормона варьирует в зависимости от разных факторов, таких как окружающая среда, температура, влажность, других физиологических условий (возраст животного, репродуктивное состояние, статус, общее состояние) [9–11], а также половых различий.

Определение содержания кортизола является физиологической реакцией на стресс — как у людей [12], так и у разных млекопитающих [13]. Есть данные исследований, изучающих этот вопрос, на домашних животных (свиньях, овцах, козах, коровах и лошадях), а также диких млекопитающих (макаки, пумы) [14–16].

Кортизол играет регулируемую роль в скорости метаболизма, что связано с уменьшением массы. Кроме того, уровень кортизола различается в зависимости от полового признака у млекопитающих и от вида. У мужских особей концентрация гормона, как правило, более высокая по сравнению с самками, у мартишек эта закономерность не подтвердилась (у мужских особей наблюдался более низкий уровень кортизола, чем у женских), у собак не удалось обнаружить каких-либо существенных различий в зависимости от пола.

M. Sandri и другими учеными (2015 г.) были проведены исследования на собаках между интактными кобелями и суками, кастрированными кобелями и стерилизованными собаками разных видов, на основании результатов которых была выявлена существенная гетерогенность по полу как между видами, так и внутри видов [17].

Роль кортизола в ГГНО. ГГНО является основным эндокринным путем реакции млекопитающих на стресс. Активация этой оси происходит в течение нескольких секунд после идентификации организмом стрессовых стимулов, когда сигналы от высшего центра головного мозга стимулируют синтез и высвобождение кортикотропин-рилизинг-гормона и аргинин-вазопрессина в паравентрикулярном ядре гипоталамуса [18, 19]. Затем они проникают в гипофизарную портальную систему и транспортируются в переднюю долю гипофиза.

У большинства млекопитающих кортизол является основным гормоном, секретируемым клетками пучковой оболочки, а повышение его уровня является ключевым компонентом реакции на стресс. Необходимо учитывать, что острый стресс у животных, вызванный в том числе спариванием, охотой, уходом, рассматривается как «полезный» [9, 10, 19].

В течение нескольких секунд после события стресса происходят мобилизация и перераспределение энергии, которое способствует изменению физиологии и поведения, приводящему к повышению уровня кортизола через несколько минут после этого. Всё это помогает выживанию организма при неожиданном стрессе [13]. Эти изменения могут включать временные разрешительные эффекты, такие как увеличение сердечного ритма, выброс артериального давления, повышение мозгового кровообращения, печеночный глюконеогенез и т. д.

Наряду с этим происходят различные подавляющие эффекты накопления энергии, роста, иммунитета, репродуктивной функции, а также снижение аппетита. При хронической активации ГГНО, происходящей в течение нескольких недель и даже месяцев (длительный стресс), воздействие постоянно повышенного кортизола может отрицательно сказаться на многих системах организма. Эти изменения могут привести к развитию патологического синдрома — дистресса, характеризующегося плохим здоровьем и снижением физической формы у отдельных животных. Это может отразиться на снижении показателей выживаемости и воспроизводстве на ранних стадиях.

Взаимоотношения между иммунной системой и кортизолом сложны и оказывают как стимулирующее, так и подавляющее действие в зависимости от типа и продолжительности стресса. Практически все компоненты иммунной системы подавляются постоянной активностью ГГНО. Повышенный уровень циркулирующего кортизола может также влиять на желудочно-кишечную, пищеварительную, сердечно-сосудистую системы, снизить воспалительную реакцию, которая является жизненно важным компонентом эффективной иммунной функции. Долговременный стресс может снизить устойчивость к инфекционным, аутоиммунным, аллергическим заболеваниям, секрецию гормона роста, инсулина и т. д. [20].

Повышенный уровень кортизола может ингибировать секрецию или высвобождение основных половых гормонов (лютеинизирующего, фолликулостимулирующего, гонадотропин-рилизинг-гормона). Кроме того, длительный стресс может сделать ткань гонады резистентной к половым стероидам и вызвать их атрофию, что в свою очередь приводит к снижению восприимчивости репродуктивной функции, снижению уровня зачатия. При

наступлении беременности изменения могут отрицательно влиять на рост и развитие плода, а также на его последующее здоровье, долгосрочную жизнеспособность.

В нормальных условиях выброс кортизола соответствует циркадному ритму, но его уровень может повышаться на короткий период времени при остром стрессе, чтобы обеспечить глюкозой клетки организма для реагирования на стресс. Как только острая реакция на стресс утихает, уровень кортизола возвращается к нормальному (базовому) уровню. И наоборот, хронический стресс возникает, когда организм сталкивается с постоянными или периодическими внешними угрозами, что может привести к нарушению циркадных ритмов с высвобождением кортизола [21].

Стресс, перенесенный женскими особями в процессе жизни, может иметь последствия на потомство, отражающиеся даже на нескольких поколениях. Это в свою очередь проявляется у потомков самок, находящихся в хроническом стрессе. Последствия материнского стресса могут еще больше усиливаться за счет переноса кортизола с молоком в раннем неонатальном периоде развития и созревания ГГНО.

У сельскохозяйственных животных стрессовые реакции могут вызывать такие манипуляции, как обработка, транспортировка, обезроживание. Длительная или чрезмерная активация ГГНО может привести к хроническому стрессу, вызывающему поведенческие реакции и соматические расстройства. Так, у молочного скота долгосрочное повышение концентрации глюкокортикоидов связано с иммуносупрессией и снижением плодовитости.

A. Comin и другие исследователи (2013 г.) в своих работах указывают на то, что у коров с клиническими проявлениями заболеваний (ламинита, метрита, мастита) отмечались более высокие концентрации кортизола, чем у особей без проявления клинических симптомов [22].

Существует огромное количество внешних и внутренних факторов, вызывающих стресс. В зависимости от продолжительности их воздействия стресс может быть острым или хроническим. Кратковременный стресс является адаптивным и помогает индивидуумам справляться с возникающей ситуацией, а долгосрочный стресс вызывает дезадаптивные реакции.

Удержание животных является кратковременным стрессором, приводящим к довольно быстрому повышению уровня кортизола [23, 24]. В волосах (шерсти) такое колебание не наблюдается, в отличие от уровня кортизола в крови или слюне. Слюна и сыворотка предоставляют информацию о кратких точечных измерениях, тогда как при 24-часовом сборе мочи можно получить информацию о выработке кортизола, близкой к результатам анализа волос [12].

Определенные риски для организма могут возникнуть в результате травм, болезней, старения или врожденных заболеваний [25, 26]. Так, например, взаимосвязь между физическими нарушениями и уровнем кортизола у животных была выявлена у лошадей (с проблемами позвоночника), овец (при болезнях копыт), белых медведей (при плохом самочувствии).

Проводились исследования, связанные с изучением корреляции между ухудшением состояния животных и повышением уровня кортизола при паразитарных заболеваниях [27]. Изменение содержания этого гормона зависит от нескольких внешних факторов (холода, жары, влажности, ветра). Стоит отметить, что было

выявлено влияние экологических факторов на уровень кортизола в организме животных [28].

Концентрация глюкокортикоидов изменяется в зависимости от возраста. В основном наблюдается повышение их содержания при старении у многих видов животных. В то же время отмечены исключения. Так, например, у взрослых касаток-самцов более низкие показатели концентрации глюкокортикоидов, чем у более молодых. Более низкие значения кортизола наблюдались в волосах и плазме голштинских телок по сравнению с показателями лактирующих коров [29].

Следует учитывать, что результаты исследований могут отличаться в зависимости от методологических подходов, от типа образца, протокола сбора данных, обработки и метода анализа проб [11].

Методы определения кортизола. Обычно концентрацию кортизола оценивают путем отбора проб плазмы или сыворотки крови, слюны, мочи, фекалий и молока [30]. Измерение этого гормона в разных образцах имеет свои индивидуальные особенности и клиническую ценность. Применение надежных лабораторных исследований, позволяющих получать точные и надежные результаты, играет ключевую роль в диагностике кортизола [31] (рис. 1).

Гормон кортизола подвержен циркадным ритмам как у людей, так и у животных, его содержание может колебаться. Именно поэтому следует учитывать суточные закономерности секреторной активности глюкокортикоидов, изменяющиеся также в зависимости от вида животного [11]. Очень важно учитывать время отбора образцов на протяжении всего периода эксперимента.

Определение концентрации кортизола в течение недели или месяца является достаточно трудным при использовании традиционных методов измерения в сыворотке крови, слюне или моче, так как требует отбора проб в течение многих дней с использованием нескольких образцов в день для выявления циркадных и сезонных (время года) изменений [31].

Кроме того, традиционные методы измерения кортизола могут использоваться только при определенных условиях, в то время как анализ волос (шерсти) открывает возможность ретроспективного определения этого гормона (в течение более длительного периода времени с возможностью измерения секреции до начала исследования). Рост волос также следует циклическому ритму активного роста, чередующегося со спокойствием [32].

Для определения концентрации кортизола используют такие аналитические методы, как хроматография (жидкостная хроматография и спектрометрия) и традиционные иммуноанализы (радиоиммунный и иммуноферментный) [33–35]. Метод ИФА основан на использовании антител, распознающих кортизол. Он считается «золотым стандартом» за счет высокой чувствительности, достаточно низкой цены, относительно быстрого времени проведения и простоты исполнения, а также высокой пропускной способности образцов. Иммуноанализ используют для определения концентрации кортизола в сыворотке и плазме крови, но при этом нужно учитывать, что на показатели могут влиять изменения уровня альбумина. Наиболее часто этот метод используют для определения свободного кортизола в моче, а также в слюне, так как он позволяет определять достаточно низкие концентрации [36]. Метод ИФА для определения концентрации кортизола является наиболее предпочтительным из-за доступности и простоты использования [37, 38, 7].

Несмотря на множество исследований, проведенных в большинстве случаев как на людях, так и на животных, используемые аналитические методы могут

Рис. 1. Схема образцов проб, используемых для определения концентрации кортизола

Fig. 1. Diagram of sample samples used to determine cortisol concentrations



значительно различаться в разных лабораториях [12]. Оценка доступности, простоты и точности измерения кортизола имеет большое значение [31], а выбор метода зависит от интересующего временного периода и проблем исследования.

Кровь является наиболее предпочтительным материалом для определения гормонов у животных. В научной литературе описан ряд работ, проведенных на позвоночных. Особое внимание в них уделено таким диким животным, как черные медведи, морские черепахи, пингвины, змеи, мыши и приматы. Определение концентрации кортизола в крови используется в качестве стандартной процедуры для оценки стресса у сельскохозяйственных животных, так как избыток кортизола синтезируется и высвобождается в системный кровоток в условиях стресса. При сборе крови основные преимущества — простота и скорость сбора образцов, а также безопасность исследования [39].

В то же время необходимо учитывать, что это инвазивный метод. Измерение кортизола в плазме крови сопровождается стрессовой процедурой при обращении с животными при отлове, удерживании и фиксации животных и непосредственно при венепункции или заборе крови [23, 24, 31].

Таким образом, эти процедуры могут повлиять на содержание гормона, в результате чего показатели могут отличаться. Общеизвестное время при отборе проб этим способом — 3 мин. [16]. Особенно это важно при исследовании стресса, так как сам процесс может вызвать повышение уровня глюкокортикоидов у птиц через 2–5 мин., у мелкого и крупного рогатого скота через 4 мин., у ламантинов через 20 мин., у кошачьих через 30 мин. Кровь позволяет получить данные о содержании гормона в данный момент.

Слюна считается наиболее подходящим биоматериалом для диагностики кортизола в организме [40], так как имеет определенные преимущества, связанные с минимальным вторжением, позволяет избежать стресс, который в свою очередь может повлиять на уровень кортизола [33]. Но недостаток этого метода в том, что уровень гормона во многом зависит от времени и ситуации сбора проб (колебания в естественном пульсирующем режиме, изменения в течение дня), а также влиянии различных ситуаций или физических факторов, способных повышать уровень кортизола в течение часа после начала процедуры до исходного состояния [41].

Измерение уровня кортизола в слюне считается надежной альтернативой измерению свободного

кортизола в сыворотке (плазме) крови, так как существует высокая корреляция между уровнем кортизола в слюне, уровнем несвязанного кортизола в сыворотке (плазме), поэтому считают, что кортизол в слюне позволяет определить изменения уровня свободного кортизола в сыворотке (плазме) [33, 42].

Определение кортизола в слюне отражает его свободную фракцию (свободный кортизол), его концентрация при этом ниже, чем сывороточного кортизола (примерно 50–70%). Кортизол в слюне стабилен при комнатной температуре до 7 дней, что позволяет взять пробу в любое время дня и ночи и анализировать циркадные ритмы кортизола [43, 44]. Образцы слюны и сыворотки представляют возможность для измерения уровня кортизола в момент взятия образцов. Поэтому их можно использовать для тестирования острых изменений, но подверженных серьезным физиологическим суточным колебаниям, что делает оценку общего долгосрочного системного воздействия кортизола затрудненной [12]. Данные о концентрации кортизола в слюне хорошо коррелируют с его уровнем в сыворотке.

Образцы кортизола в плазме и слюне отражают «ментальные показатели» активности ГГНО, отражающие активность в течение нескольких секунд или минут до сбора.

Измерение метаболитов кортизола в фекалиях животных используют для оценки высвобождения глюкокортикоидов и, следовательно, выявления активности надпочечников у различных видов животных [10, 7]. Концентрация метаболитов кортизола в фекалиях отражает общее количество выведенного вещества, следовательно, секреция кортизола при этом лучше, чем в крови. Образцы фекалий являются наиболее распространенным неинвазивным биологическим образцом для измерения глюкокортикоидов при исследованиях на животных. Преимущество этого метода заключается в том, что образцы можно легко собрать, не подвергая животных стрессу (без нарушения распорядка дня животного, не требуют отлова). При исследованиях этим способом необходимо учитывать временные изменения организма. Циркулирующий кортизол изменяется в зависимости от времени суток, что в свою очередь приводит к существенным индивидуальным изменениям. В образцах фекалий концентрация циркулирующего кортизола отражает его содержание за 10–12 час. до сбора образцов. Данный метод практически невозможно использовать для долгосрочных изменений, характерных для хронического стресса. К ограничениям этого метода относят

время, прошедшее между дефекацией и сбором, так как воздействие бактериального метаболизма может изменить показатели. Необходимо учитывать, что содержание нескольких животных в одном помещении требует использования пищевого красителя, для того чтобы можно было различать образцы [10].

Кортизол в моче отражает несвязанный и биологически активный кортизол. Образцы кортизола в моче дают представление о временном периоде сбора данных, варьирующих от ночи до 24 час. (суточной дозе из-за суточного ритма его экскреции). Использование мочи для определения концентрации кортизола довольно затруднительно в полевых условиях. В то же время были определены видоспецифические временные значения интервалов для некоторых животных. Ранее свободный кортизол в моче считался основным тестом для определения кортизола, сейчас данный анализ рассматривается в качестве дополнительного.

Кортизол также может быть обнаружен в выделяемом молоке. Существенным недостатком при этом является то, что молоко можно отбирать только у лактирующих самок животных или людей [45].

В нескольких публикациях описана тесная связь между кортизолом в сыворотке крови и кортизолом слюны. По данным других ученых, корреляция кортизола с концентрацией в крови, моче или слюне оценивалась как умеренная или слабая, в то время как L. Cieszynski с коллегами (2020 г.) не была выявлена корреляция между этими жидкостями [44].

Эти результаты согласуются с работами ряда исследователей, в которых корреляция была слабой или отсутствовала [46, 47]. Определение долгосрочного уровня кортизола в таких матрицах, как кровь, кал, слюна и моча, затруднено, так как они подвержены влиянию циркадных изменений, факторам окружающей среды и внезапным колебаниям.

Каждый из этих образцов имеет свои преимущества и ограничения, а также требует наличия нескольких образцов для оценки уровня кортизола в течение длительного периода времени. Более того, из-за суточных колебаний пробы либо необходимо брать в определенное время суток (слюна и сыворотка), либо требуют трудоемкого метода сбора (для сбора мочи 24 час.), что делает их непригодными для популяционного анализа. В то же время суточный сбор мочи отражает содержание кортизола в последний день, а не изменения, которые могут произойти в течение недель или месяцев (табл. 1).

Таблица 1. Краткая характеристика биоматериала, используемого для определения концентрации кортизола [10, 31, 33, 39, 40, 45, 48]

Table 1. Brief characteristics of the biomaterial used to determine cortisol concentration [10, 31, 33, 39, 40, 45, 48]

Материал	Преимущество	Недостатки	Время отбора проб
Кровь	Простота, безопасность	Инвазивный метод (может вызвать стресс)	Концентрация зависит от циркадных ритмов (времени суток) — от нескольких секунд до нескольких минут
Слюна	Простота	Менее инвазивный	Концентрация зависит от циркадных ритмов (времени суток) — от нескольких секунд до нескольких минут*
Моча	Неинвазивный	Достаточно трудно провести отбор проб в полевых условиях, трудоемкий	Подвержены суточным изменениям, необходимо 24 час. для сбора проб
Фекалии	Неинвазивный, отражает концентрацию за 12 час. до сбора проб	Затруднителен отбор в стадах (актуален при клеточном содержании или с использованием приемников для кала), обсеменение микрофлорой при увеличении времени забора материала	Подвержены суточным изменениям
Молоко	Простота, безопасность, неинвазивный	Возможность отбора только у самок	Концентрация зависит от циркадных ритмов (времени суток)
Шерсть	Простота, безопасность, биодоступность, комплексная диагностика от недели до 6 мес., неинвазивный (не подвергает животных стрессу при отборе проб), не требует подготовки, результаты не подвержены циркадным ритмам, долгосрочный	При сильном загрязнении шерсти требует дополнительной очистки, не позволяет получить информацию о суточных изменениях гормона	Достаточно быстро

Примечание: * приравнивается к крови.

Все эти матрицы подвержены основным ежедневным изменениям, физиологическим колебаниям, и по этой причине оценка экспозиции общего долгосрочного системного кортизола затруднена.

Оценка долгосрочных концентраций глюкокортикоидов в исследованиях включает различные кератинизированные ткани, такие как волосы (шерсть) [48], копыта [49], когти [50] и перья [51].

В перьях измеряют кортикостерон, концентрация которого коррелирует со стрессом, испытываемым птицей во время оперения [51]. У млекопитающих когти содержат ороговевший эпителий с васкуляризированным внутренним корнем, где кортизол пассивно накапливается из кровотока.

Шерсть (волосы). С конца 1990-х годов стало известно, что в волосах людей можно обнаружить ряд кортикостероидов. Считается, что кортизол попадает в стержень волоса прямо пропорционально его биологически доступной концентрации в крови. Этот процесс ограничивается фазой активного роста волос в отдельных волосяных фолликулах [14]. Таким образом, измерение кортизола на всей длине волос (шерсти) должно представлять собой комплексный показатель ГГНО в период их роста, который может отражать временные рамки — от недель до месяцев. Кроме того, концентрация кортизола в волосах (шерсти), возможно, не так чувствительна к кратковременному стрессу, как другие показатели активности ГГНО в сыворотке крови, слюне, моче и фекалиях.

Наличие кортизола в волосах (шерсти) можно объяснить пассивной диффузией свободного кортизола из крови, питающей фолликулы или из окружающих сальных желез. Существует гипотеза, что волосяные фолликулы сами производят кортизол (местно). Также учитывают тот факт, что определенное количество этого гормона может откладываться из пота и подкожного жира. Доказано, что концентрация кортизола в волосах (шерсти) отражает эндокринные закономерности [52]. Как и слюнные железы, волосяные фолликулы окружены капиллярной сетью, за счет которой происходит пассивная диффузия веществ из крови. Кортизол, полученный из волос головы, представляет собой липофильное вещество, попадающее в волосы из кровоснабжения, питающее их, а также из стволовых фолликулярных клеток. Уровень кортизола в волосах (шерсти) измеряют с помощью стандартной промывки (если это необходимо), измельчения и экстракции, отражающей свободный, а не связанный стероид [53].

В литературе представлено достаточно много работ, в которых описано определение концентрации кортизола в волосах человека, а также шерсти домашних животных (собак, кошек, коров) и диких животных (белок, шимпанзе и медведей) [48].

У медведей гризли содержание кортизола в шерсти зависит от типа волос на теле (самая низкая концентрация в остевых волосах), области тела и метода отбора проб. Известно, что у самок белых медведей уровень кортизола в волосах выше, чем у самцов белых медведей, тогда как у медведей гризли такой разницы не было обнаружено. Возможно, это можно объяснить разницей в физиологическом состоянии, так как уровень кортизола в волосах у людей и приматов увеличивается с беременностью, однако информация о состоянии беременности в этих исследованиях не была предоставлена авторами в исследовании.

Существует гипотеза, что гигиена людей влияет на концентрацию кортизола вследствие того, что мытье

волос изменяет содержание гормона. A. F. Hamel и коллеги (2011 г.) описывали, что у макак-резусов многократное мытье шампунем или водой снижает уровень кортизола в шерсти [54]. Было проведено многократное мытье (10–30 раз) отобранных образцов шерсти в шампуни. Анализ непромытых (контрольных) образцов позволил выявить значительно большую концентрацию кортизола по сравнению с шерстью, подвергавшуюся любой из промывок. Кроме того, концентрация образцов, вымытых шампунем 30 раз, имела значительно меньшие показатели, чем при другом количестве промывания [12].

Концентрация кортизола в волосах (шерсти) дает представление о его уровне (кумулятивной выработке до 6 мес.), что позволяет предположить, что этот гормон в волосах может быть уникальным биомаркером долгосрочной активности ГГНО. Имеются данные о количественном определении кортикостерона, прогестерона, эстрадиола, тестостерона и гормонов щитовидной железы в волосах.

Волосы (шерсть) являются источником биологической информации для решения генетических вопросов, при анализе питания или кормления, при изучении влияния на организм окружающей среды, нарушении здоровья и репродуктивного статуса [55]. Этот метод открывает возможности измерения концентрации гормонов в разных ситуациях, связанных с загрязнением окружающей среды или токсинами, попадающими в волосы, до измерения от нескольких лет до столетий после их осаждения [56].

Необходимо учитывать тот факт, что определение концентрации кортизола в волосах (шерсти) позволяет отбирать пробы при неинвазивном способе, не требующем особой подготовки, а также существует возможность хранения их при комнатной температуре в течение длительного периода времени. Кортизол в волосах (шерсти) отражает долгосрочную перспективу хронической реакции в течение нескольких месяцев, на которую не влияют циркадные вариации или стресс, вызванный сбором образцов [46].

Анализ кортизола в волосах или шерсти представляет собой большой потенциал для понимания долгосрочного воздействия стресса и дистресса на организм. Этот метод позволяет изучать не только среднюю выработку гормона в течение недель и месяцев, но и потенциально определить его уровень за несколько месяцев до того, как образцы были отобраны [57].

Измерение кортизола в шерсти животных является достаточно новой методикой, позволяющей выявлять стрессовое состояние у домашнего скота. Волосы (шерсть) являются относительно стабильной средой, их можно собирать оппортунистическим или дистанционным способом у многих видов животных, даже находящихся на свободном выгуле [56]. Этот метод безболезненный и позволяет легко и удобно проводить отбор образцов. Анализ вариации кортизола в шерсти был описан как на диких, так и на домашних животных в зависимости от стресса, роста и деградации.

Усредненные по времени показатели кортизола из образцов волос отличаются от образцов слюны, крови и кала, отражающих его кратковременные колебания [58, 59].

Стоит отметить, что при хранении волос (шерсти) в сухих бумажных конвертах в темноте содержание кортизола сохраняется более года. В волосах, хранящихся в измельченном виде, наблюдается значительное снижение гормона за более короткий период времени

(около 9 мес.). E. Webb и коллеги (2010 г.) измеряли закономерности отложения кортизола в человеческих волосах многовековой давности [56].

Стоит отметить, что в ходе археологических раскопок кортизол был идентифицирован и проанализирован в человеческих волосах, но необходимо помнить, что волосы сохраняют свои свойства для исследований с этой целью в определенных условиях [56, 60]. Отмечено, что из музейных образцов шерсти шкур медведей можно получить данные о долговременном стрессе.

Кортизол попадает в волосы (шерсть) по мере их роста, и измерение уровня кортизола в определенном сегменте отражает интегрированную, кумулятивную секрецию кортизола в течение этого периода их роста. Рост волос на коже головы человека варьирует, но общепринятой считается средняя скорость роста волос 1 см в месяц. Таким образом, проксимальный (приближающийся к коже головы) сегмент волос длиной 1 см отражает общую секрецию кортизола за последний месяц, второй проксимальный сегмент длиной 1 см представляет выработку кортизола за месяц до этого и так далее. Скорость роста волос варьирует не только между отдельными особями, но и между разными областями тела у одной и той же особи [16].

Волосы (шерсть) не растут постоянно, а следуют циклическому ритму чередующихся периодов активного роста и покоя, по мере того как матричные клетки в зоне прорастания размножаются и дифференцируются в три слоя. В этот период волосная луковица тесно связана с кровоснабжением кожного сплетения и дермальным сосочком. Соответственно, лекарства, метаболиты и гормоны, циркулирующие в крови, попадают в волосы (шерсть) в первую очередь во время этой активной фазы роста [14].

Одно из первых исследований, изучающих возможность обнаружения кортизола в организме при помощи волос (шерсти), было выполнено L. Koren и другими учеными (2008 г.) на диких даманах. Они обнаружили корреляцию между концентрацией кортизола в волосах и социальным рейтингом даманов. Позже анализ кортизола в волосах был использован для подтверждения гипотезы «доминирования стресса». У доминирующих особей даманов концентрация кортизола в шерсти указывала на большее социальное доминирование [15].

Первые исследования для определения кортизола в волосах людей были описаны в 2004 г. [44]. Учитывая, что средний рост волос у человека за месяц находится примерно на уровне 1 см, уровень кортизола в образце в зависимости от его длины может отражать его содержание за последние дни, недели или месяцы.

B. Sauve и коллеги (2007 г.) в своих исследованиях описывали незначительные различия концентрации кортизола в волосах, отобранных из разных частей головы человека [46]. Было сделано предположение, что текстура и рост волос у животных отличаются в зависимости от места отбора образцов и накопления этого гормона.

Экспериментальное исследование, проведенное M.D. Davenport и коллегами (2008 г.) на животных, позволило выявить, что концентрация кортизола в шерсти может изменяться [14]. Ими были изучены макаки-резусы,

переселенные из обычной жилищной среды, вследствие чего были отмечены изменения в проявлении поведения, характерные для повышенного стресса. Были отобраны образцы шерсти в разные периоды времени (через 13, 14 недель после переезда и через год). Полученные в ходе исследований результаты подтвердили, что стресс связан с увеличением концентрации кортизола в шерсти, а также что содержание кортизола при этом динамически реагирует на изменения с течением времени. При этом в эксперименте были детеныши макак, воспитывавшиеся матерями или животными, не имеющими родственных связей. В 8-месячном возрасте животных из эксперимента поселили без взрослых, после чего определяли содержание гормона в волосах на покрове. В ходе исследований было доказано, что уровень кортизола может варьировать в зависимости от возраста, тревожности и социальной ситуации.

Образцы волос (шерсти) не разлагаются по сравнению с жидкими образцами, что позволяет их хранить в течение длительного времени при комнатной температуре. Кортизол в волосах (шерсти), скорее всего, отражает свободный, несвязанный кортизол и, таким образом, является менее восприимчивым к типичным факторам по сравнению с кровью и слюной.

Было доказано, что кортизол чуть в меньшей степени, чем другие стероиды, обнаруживается в волосах человека или шерсти млекопитающих при использовании наборов для иммуноферментного анализа (ELISA) [46, 14, 61].

К отрицательным моментам этого метода можно отнести интерпретацию уровня кортизола из-за его кумулятивной секреции, так как он выполняет функцию множества потенциально взаимодействующих факторов, включая хронический стресс, генетическую предрасположенность; кумулятивные уровни гормона представляют собой средние значения во времени и, таким образом, не дают информации о регуляции суточных ритмов ГГНО (реакция пробуждения кортизола в ночное время) или пиковой реакции на стресс. Одним из основных ограничений является использование разных методологий анализа в разных лабораториях (в основном ИФА).

Измерение уровня кортизола в волосах оказалось эффективным как при исследованиях человека, так и других млекопитающих. Измерение уровня кортизола в волосах использовали для оценки стресса у людей [12], свиней [62] и лошадей [63].

B. Sauve (2007 г.) и коллеги были первыми, кто использовал протокол ИФА на людях, страдающих ожирением [46]. У макак-резусов была обнаружена значительная корреляция между концентрацией кортизола в слюне и волосах [14]. A. Bennett и V. Hayssen (2010 г.) обнаружили у собак корреляцию с кортизолом в слюне [64].

Выводы/Conclusions

Таким образом, определение концентрации кортизола в волосах (шерсти) является наиболее предпочтительным при исследовании длительного стресса и позволяет дать ретроспективную оценку кумулятивных уровней в течение длительного периода времени — от нескольких дней до нескольких месяцев.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания при финансовой поддержке фундаментальных научных исследований Министерства науки и высшего образования Российской Федерации FGGN-2024-0014, регистрационный номер 124020200127-7

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

- Fourie N.H., Brown J.L., Jolly C.J., Phillips-Conroy J.E., Rogers J., Bernstein R.M. Sources of variation in hair cortisol in wild and captive non-human primates. *Zoology*. 2016; 119(2): 119–125. <https://doi.org/10.1016/j.zool.2016.01.001>
- Fürtbauer I., Solman C., Fry A. Sheep wool cortisol as a retrospective measure of long-term HPA axis activity and its links to body mass. *Domestic Animal Endocrinology*. 2019; 68: 39–46. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2018.12.009>
- Dulude-de Broin F., Côté S.D., Whiteside D.P., Mastromonaco G.F. Faecal metabolites and hair cortisol as biological markers of HPA-axis activity in the Rocky mountain goat. *General and Comparative Endocrinology*. 2019; 280: 147–157. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2019.04.022>
- Binz T.M. *et al.* Endogenous cortisol in keratinized matrices: Systematic determination of baseline cortisol levels in hair and the influence of sex, age and hair color. *Forensic Science International*. 2018; 284: 33–38. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2017.12.032>
- Acker M., Mastromonaco G., Schulte-Hostedde A.I. The effects of body region, season and external arsenic application on hair cortisol concentration. *Conservation Physiology*. 2018; 6(1): coy037. <https://doi.org/10.1093/conphys/coy037>
- Kibe M. *et al.* Transition to a market economy and chronic psychosocial stress in northern Laos: An exploratory study of urinary free cortisol in rural residents. *American Journal of Human Biology*. 2024; 36(1): e23976. <https://doi.org/10.1002/ajhb.23976>
- Karachaliou C.-E. *et al.* Cortisol Immunosensors: A Literature Review. *Biosensors*. 2023; 13(2): 285. <https://doi.org/10.3390/bios13020285>
- Hadad M., Hadad N., Zestos A.G. Carbon Electrode Sensor for the Measurement of Cortisol with Fast-Scan Cyclic Voltammetry. *Biosensors*. 2023; 13(6): 626. <https://doi.org/10.3390/bios13060626>
- Bougea A., Stefanis L., Chrousos G. Stress system and related biomarkers in Parkinson's disease. *Advances in Clinical Chemistry*. 2022; 111: 177–215. <https://doi.org/10.1016/bs.acc.2022.07.004>
- Palme R. Non-invasive measurement of glucocorticoids: Advances and problems. *Physiology & Behavior*. 2019; 199: 229–243. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2018.11.021>
- Whitham J.C., Bryant J.L., Miller L.J. Beyond Glucocorticoids: Integrating Dehydroepiandrosterone (DHEA) into Animal Welfare Research. *Animals*. 2020; 10(8): 1381. <https://doi.org/10.3390/ani10081381>
- Russell E., Koren G., Rieder M., Van Uum S. Hair cortisol as a biological marker of chronic stress: Current status, future directions and unanswered questions. *Psychoneuroendocrinology*. 2012; 37(5): 589–601. <https://doi.org/10.1016/j.psychneuen.2011.09.009>
- Price E. *et al.* Individual, social and environmental factors affecting salivary and fecal cortisol levels in captive pied tamarins (*Saguinus bicolor*). *American Journal of Primatology*. 2019; 81(8): e23033. <https://doi.org/10.1002/ajp.23033>
- Davenport M.D., Lutz C.K., Tiefenbacher S., Novak M.A., Meyer J.S. A Rhesus Monkey Model of Self-Injury: Effects of Relocation Stress on Behavior and Neuroendocrine Function. *Biological Psychiatry*. 2008; 63(10): 990–996. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2007.10.025>
- Koren L., Mokady O., Geffen E. Social status and cortisol levels in singing rock hyraxes. *Hormones and Behavior*. 2008; 54(1): 212–216. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2008.02.020>
- Mesarcova L., Kottferova J., Skurkova L., Leskova L., Kmecova N. Analysis of cortisol in dog hair — a potential biomarker of chronic stress: a review. *Veterinární medicína*. 2017; 62(7): 363–376. <https://doi.org/10.17221/19/2017-VETMED>
- Sandri M., Colussi A., Perrotta M.G., Stefanon B. Salivary cortisol concentration in healthy dogs is affected by size, sex, and housing context. *Journal of Veterinary Behavior*. 2015; 10(4): 302–306. <https://doi.org/10.1016/j.jveb.2015.03.011>
- Sapolsky R.M., Romero L.M., Munck A.U. How Do Glucocorticoids Influence Stress Responses? Integrating Permissive, Suppressive, Stimulatory, and Preparative Actions. *Endocrine Reviews*. 2000; 21(1): 55–89. <https://doi.org/10.1210/edrv.21.1.0389>
- Papadimitriou A., Priftis K.N. Regulation of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis. *Neuroimmunomodulation*. 2009; 16(5): 265–271. <https://doi.org/10.1159/000216184>
- Shepherdson D.J., Carlstead K.C., Wielebnowski N. Cross-institutional assessment of stress responses in zoo animals using longitudinal monitoring of faecal corticoids and behaviour. *Animal Welfare*. 2004; 13(S1): S105–S113. <https://doi.org/10.1017/S0962728600014445>

FUNDING

The work was carried out within the framework of a state assignment with the financial support of fundamental scientific research from the Ministry of Science Higher Education of the Russian Federation FGGN-2024-0014, registration number 124020200127-7

- Ford J.L., Boch S.J., McCarthy D.O. Feasibility of Hair Collection for Cortisol Measurement in Population Research on Adolescent Health. *Nursing Research*. 2016; 65(3): 249–255. <https://doi.org/10.1097/NNR.000000000000154>
- Pochigaeva K. *et al.* Hair cortisol as a marker of hypothalamic-pituitary-adrenal Axis activity in female patients with major depressive disorder. *Metabolic Brain Disease*. 2017; 32(2): 577–583. <https://doi.org/10.1007/s11011-017-9952-0>
- Ghassemi Nejad J., Kim B.-W., Lee B.-H., Sung K.-I. Coat and hair color: hair cortisol and serotonin levels in lactating Holstein cows under heat stress conditions. *Animal Science Journal*. 2017; 88(1): 190–194. <https://doi.org/10.1111/asj.12662>
- Ghassemi Nejad J., Kim B.-W., Lee B.-H., Kim J.-Y., Sung K.-I. Effects of water addition to total mixed ration on water intake, nutrient digestibility, wool cortisol and blood indices in Corriedale ewes. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 2017; 30(10): 1435–1441. <https://doi.org/10.5713/ajas.16.0705>
- Thompson M.E., Rosati A.G., Snyder-Mackler N. Insights from evolutionarily relevant models for human ageing. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2020; 375(1811): 20190605. <https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0605>
- Espitia-Contreras J.P., Fedigan L.M., Turner S.E. Social grooming efficiency and techniques are influenced by manual impairment in free-ranging Japanese macaques (*Macaca fuscata*). *PLoS ONE*. 2020; 15(2): e0228978. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0228978>
- Narayan E. Physiological stress levels in wild koala sub-populations facing anthropogenic induced environmental trauma and disease. *Scientific Reports*. 2019; 9: 6031. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42448-8>
- Turner S.E. *et al.* Mothers of disabled infants had higher cortisol levels in a free-ranging group of Japanese macaques (*Macaca fuscata*). *American Journal of Primatology*. 2023; 85(7): e23500. <https://doi.org/10.1002/ajp.23500>
- Nedić S. *et al.* Cortisol concentrations in hair, blood and milk of Holstein and Busha cattle. *Slovenian Veterinary Research*. 2017; 54(4): 163–172. <https://doi.org/10.26873/SVR-398-2017>
- Zhang Q., Chen Z., Chen S., Xu Y., Deng H. Intraindividual stability of cortisol and cortisone and the ratio of cortisol to cortisone in saliva, urine and hair. *Steroids*. 2017; 118: 61–67. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2016.12.008>
- Nejad J.G., Park K.-H., Forghani F., Lee H.-G., Lee J.-S., Sung K.-I. Measuring hair and blood cortisol in sheep and dairy cattle using RIA and ELISA assay: a comparison. *Biological Rhythm Research*. 2020; 51(6): 887–897. <https://doi.org/10.1080/09291016.2019.1611335>
- Sergiel A. Do follicles matter? Testing the effect of follicles on hair cortisol levels. *Conservation Physiology*. 2020; 8(1): coaa003. <https://doi.org/10.1093/conphys/coaa003>
- Boolani A. *et al.* Trends in Analysis of Cortisol and Its Derivatives. Woods A.G., Darie C.C. (eds.). *Advancements of Mass Spectrometry in Biomedical Research*. Cham: Springer. 2019; 649–664. https://doi.org/10.1007/978-3-030-15950-4_39
- Giacomello G., Scholten A., Parr M.K. Current methods for stress marker detection in saliva. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2020; 191: 113604. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2020.113604>
- Kannankeril J. *et al.* Prospective Evaluation of Late-Night Salivary Cortisol and Cortisone by EIA and LC-MS/MS in Suspected Cushing Syndrome. *Journal of the Endocrine Society*. 2020; 4(10): bvaa107. <https://doi.org/10.1210/jendso/bvaa107>
- Casals G., Hanzu F.A. Cortisol Measurements in Cushing's Syndrome: Immunoassay or Mass Spectrometry? *Annals of Laboratory Medicine*. 2020; 40(4): 285–296. <https://doi.org/10.3343/alm.2020.40.4.285>
- Caruso B., Bovo C., Guidi G.C. Causes of preanalytical interferences on laboratory immunoassays — a critical review. *The Journal of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2020; 31(1): 70–84.
- Lopez A.-G., Fraissinet F., Lefebvre H., Brunel V., Ziegler F. Pharmacological and analytical interference in hormone assays for diagnosis of adrenal incidentaloma. *Annales d'Endocrinologie*. 2019; 80(4): 250–258. <https://doi.org/10.1016/j.ando.2018.11.006>
- Sheriff M.J., Dantzer B., Delehanty B., Palme R., Boonstra R. Measuring stress in wildlife: techniques for quantifying glucocorticoids. *Oecologia*. 2011; 166(4): 869–887. <https://doi.org/10.1007/s00442-011-1943-y>
- Boroumand M. *et al.* Saliva, a bodily fluid with recognized and potential diagnostic applications. *Journal of Separation Science*. 2021; 44(19): 3677–3690. <https://doi.org/10.1002/jssc.202100384>

41. Gonzalez D. *et al.* Hair Cortisol Measurement by an Automated Method. *Scientific Reports*. 2019; 9: 8213.
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-44693-3>
42. El Milili N., Ahabrach H., Cauli O. Hair Cortisol Concentration as a Biomarker of Sleep Quality and Related Disorders. *Life*. 2021; 11(2): 81.
<https://doi.org/10.3390/life11020081>
43. Cieszyński Ł., Jendrzewski J., Wiśniewski P., Owczarzak A., Sworczak K. Hair cortisol concentration in a population without hypothalamic-pituitary-adrenal axis disorders. *Advances in clinical and experimental medicine*. 2019; 28(3): 369–373.
<https://doi.org/10.17219/acem/90038>
44. Cieszyński Ł., Jendrzewski J., Wiśniewski P., Kłosowski P., Sworczak K. Correlation analysis of cortisol concentration in hair versus concentrations in serum, saliva and urine. *Endokrynologia Polska*. 2020; 71(6): 539–544.
<https://doi.org/10.5603/EP.a2020.0058>
45. Peric T. Hair: a tool to evaluate HPA axis activity. Dissertation thesis. Bologna. 2014; X: 61.
<https://doi.org/10.6092/unibo/amsdottorato/6253>
46. Sauvé B., Koren G., Walsh G., Tokmakejian S., Van Uum S.H.M. Measurement of cortisol in human hair as a biomarker of systemic exposure. *Clinical and Investigative Medicine*. 2007; 30(5): E183–E191.
<https://doi.org/10.25011/cim.v30i5.2894>
47. Vanaelst B. *et al.* Intercorrelations between serum, salivary, and hair cortisol and child-reported estimates of stress in elementary school girls. *Psychophysiology*. 2012; 49(8): 1072–1081.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8986.2012.01396.x>
48. Yamanashi Y. *et al.* Analysis of hair cortisol levels in captive chimpanzees: Effect of various methods on cortisol stability and variability. *MethodsX*. 2016; 3: 110–117.
<https://doi.org/10.1016/j.mex.2016.01.004>
49. Comin A., Peric T., Magrin L., Corazzin M., Cornacchia G., Prandi A. Study of progesterone and cortisol concentrations in the Italian Friesian claw. *Journal of Dairy Science*. 2014; 97(9): 5491–5496.
<https://doi.org/10.3168/jds.2014-7943>
50. Veronesi M.C., Comin A., Meloni T., Faustini M., Rota A., Prandi A. Coat and claws as new matrices for noninvasive long-term cortisol assessment in dogs from birth up to 30 days of age. *Theriogenology*. 2015; 84(5): 791–796.
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.05.013>
51. Romero L.M., Fairhurst G.D. Measuring corticosterone in feathers: Strengths, limitations, and suggestions for the future. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*. 2016; 202: 112–122.
<https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2016.05.002>
52. Schaafsma F.G., Hulsegge G., de Jong M.A., Overvliet J., van Rossum E.F.C., Nieuwenhuijsen K. The potential of using hair cortisol to measure chronic stress in occupational healthcare: a scoping review. *Journal of Occupational Health*. 2021; 63(1): e12189.
<https://doi.org/10.1002/1348-9585.12189>
53. de Meirelles A.G. *et al.* Hair as a Specimen to Determine the Concentration of Cortisol Levels in Individuals that have Performed Physical Activity. *Trichology and Cosmetology*. 2018; 3(1): 1–6.
<https://doi.org/10.17140/TCOJ-3-110>
54. Hamel A.F., Meyer J.S., Henchey E., Dettmer A.M., Suomi S.J., Novak M.A. Effects of shampoo and water washing on hair cortisol concentrations. *Clinica Chimica Acta*. 2011; 412(3–4): 382–385.
<https://doi.org/10.1016/j.cca.2010.10.019>
55. Cattet M. *et al.* Can concentration of steroid hormones in brown bear hair reveal age class?. *Conservation Physiology*. 2018; 6(1): coy001.
<https://doi.org/10.1093/conphys/coy001>
56. Webb E. *et al.* Assessing individual systemic stress through cortisol analysis of archaeological hair. *Journal of Archaeological Science*. 2010; 37(4): 807–812.
<https://doi.org/10.1016/j.jas.2009.11.010>
57. Reid J., Parker K., Clemens L., Bristow M. Validity and reliability of method used to analyse hair cortisol concentration. *F1000Research*. 2021; 10: 349.
<https://doi.org/10.12688/f1000research.28187.1>
58. Heimbürge S., Kanitz E., Otten W. The use of hair cortisol for the assessment of stress in animals. *General and Comparative Endocrinology*. 2019; 270: 10–17.
<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2018.09.016>
59. Bowland G.B. *et al.* Fur Color and Nutritional Status Predict Hair Cortisol Concentrations of Dogs in Nicaragua. *Frontiers in Veterinary Science*. 2020; 7: 565346.
<https://doi.org/10.3389/fvets.2020.565346>
60. Quade L., Chazot P.L., Gowland R. Desperately seeking stress: A pilot study of cortisol in archaeological tooth structures. *American Journal of Biological Anthropology*. 2021; 174(3): 532–541.
<https://doi.org/10.1002/ajpa.24157>
61. Helfrecht C., Hagen E.H., DeAvila D., Bernstein R.M., Dira S.J., Meehan C.L. DHEAS patterning across childhood in three sub-Saharan populations: Associations with age, sex, ethnicity, and cortisol. *American Journal of Human Biology*. 2018; 30(2): e23090.
<https://doi.org/10.1002/ajhb.23090>
62. Bergamin C. *et al.* Cortisol, DHEA, and Sexual Steroid Concentrations in Fattening Pigs' Hair. *Animals*. 2019; 9(6): 345.
<https://doi.org/10.3390/ani9060345>
63. Placci M. *et al.* Natural Horse Boarding Vs Traditional Stable: A Comparison of Hormonal, Hematological and Immunological Parameters. *Journal of Applied Animal Welfare Science*. 2020; 23(3): 366–377.
<https://doi.org/10.1080/10888705.2019.1663737>
64. Bennett A., Hayssen V. Measuring cortisol in hair and saliva from dogs: coat color and pigment differences. *Domestic Animal Endocrinology*. 2010; 39(3): 171–180.
<https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2010.04.003>

ОБ АВТОРАХ

Инна Петровна Новгородова

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник
лаборатории клеточной инженерии
novg-inna2005@yandex.ru

Федеральный исследовательский центр животноводства — ВИЖ
им. академика Л.К. Эрнста,
пос. Дубровицы, 60, г. о. Подольск, Московская обл., 142132,
Россия

ABOUT THE AUTHORS

Inna Petrovna Novgorodova

Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher
of the Laboratory of Cell Engineering
novg-inna2005@yandex.ru

L.K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry,
60 Dubrovitsy, Podolsk Municipal District, Moscow Region, 142132,
Russia