



Check for updates

Экспериментальные статьи

УДК 612: 57.02

EDN LDBJYW

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-2-196-204>

Центральные и гормональные механизмы адаптации к десинхронизационному стрессу

П. А. Зульфугарова¹, А. А. Мехтиев^{✉2}

¹ Бакинский Государственный Университет, AZ1148, Азербайджан, г. Баку, ул. академика Захида Халилова, д. 33

² Институт физиологии им. академика Абдуллы Гараева, AZ1100, Азербайджан, г. Баку, ул. М. Ш. Шариф-заде, д. 78

Сведения об авторах

Парвин Асад кызы Зульфугарова, ORCID: 0000-0001-5619-4316, e-mail: parvinzulfugarova@bsu.edu.az

Ариф Алиовсад оглы Мехтиев, ORCID: 0000-0002-8531-0627, e-mail: arifmekht@yahoo.com

Для цитирования: Зульфугарова, П. А., Мехтиев, А. А. (2024) Центральные и гормональные механизмы адаптации к десинхронизационному стрессу. *Интегративная физиология*, т. 5, № 2, с. 196–204. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-2-196-204> EDN LDBJYW

Получена 21 января 2024; прошла рецензирование 17 мая 2024; принята 27 июня 2024.

Финансирование: Исследование не имело финансовой поддержки.

Права: © П. А. Зульфугарова, А. А. Мехтиев (2024). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях [лицензии CC BY-NC 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Аннотация. На крысах-самцах линии Wistar создана модель 14-суточной десинхронизации циркадианного ритма. В первой серии исследований изучалось влияние десинхронизации на уровень белка 2, опосредующего активность коллапсина (collapsin-response mediator protein 2 (CRMP2)) в гипоталамусе и эпифизе, методом твердофазного непрямого иммуноферментного анализа (НИФА). Было обнаружено повышение уровня CRMP2 в гипоталамусе и эпифизе у животных опытной группы по сравнению с интактными животными. Во второй серии исследования были выполнены в приподнятом крестообразном лабиринте (ПКЛ). Поведение животных исследовали в лабиринте, после чего были сформированы две группы: 1) контрольная группа, которой вводили инактивированный CRMP2; 2) опытная группа, которой вводили CRMP2. Препараты вводили интраназально за 24 ч до начала десинхронизации и через 7 суток после ее начала. По завершении 14-суточной десинхронизации циркадианного ритма крыс обеих групп вновь помещали в ПКЛ и регистрировали количество или продолжительность поведенческих актов. Было обнаружено трехкратное снижение количества вертикальных стоек ($p < 0,001$) и общей продолжительности груминга ($p < 0,001$) в закрытых рукавах лабиринта при отсутствии изменений в количестве свешиваний у животных опытной группы относительно показателей до начала десинхронизации. Затем их умерщвляли и забирали пробы крови, выделяли сыворотку, в которой методом НИФА определяли уровень кортизола. Уровень кортизола у животных опытной группы был значительно ниже, чем у контрольных животных ($p < 0,001$). Делается заключение о наличии анксиолитической активности у CRMP2 в отношении воздействия десинхронизационного стресса на организм и способности обеспечивать его адаптацию к нарушению циркадианного ритма на уровне специализированных структур головного мозга и гормональной регуляции.

Ключевые слова: десинхронизация циркадианного ритма, крысы, CRMP2, непрямоиммуноферментный анализ, гипоталамус, эпифиз, приподнятый крестообразный лабиринт, кортизол

Central and hormonal mechanisms of adaptation to desynchronization stress

P. A. Zulfugarova¹, A. A. Mekhtiev^{✉2}

¹Baku State University, 33 Akademika Zahida Khalilova Str., Baku AZ1148, Azerbaijan

²Academician Abdulla Garayev Institute of Physiology, 78 M. Sh. Sharif-Zade Str., Baku AZ1100, Azerbaijan

Authors

Parvin A. Zulfugarova, ORCID: [0000-0001-5619-4316](https://orcid.org/0000-0001-5619-4316), e-mail: parvinzulfugarova@bsu.edu.az

Arif A. Mekhtiev, ORCID: [0000-0002-8531-0627](https://orcid.org/0000-0002-8531-0627), e-mail: arifmekht@yahoo.com

For citation: Zulfugarova, P. A., Mekhtiev, A. A. (2024) Central and hormonal mechanisms of adaptation to desynchronization stress. *Integrative Physiology*, vol. 5, no. 2, pp. 196–204. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-2-196-204> EDN [LDBJYW](https://orcid.org/10.33910/2687-1270-2024-5-2-196-204)

Received 21 January 2024; reviewed 17 May 2024; accepted 27 June 2024.

Funding: The study had no financial support.

Copyright: © P. A. Zulfugarova, A. A. Mekhtiev (2024). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under [CC BY-NC License 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Abstract. The article reports the results of an experiment with male Wistar rats who were subjected to 14-day desynchronization of circadian rhythm. In the first series of experiments, the impact of desynchronization on the levels of collapsin-response mediator protein 2 (CRMP2) in the hypothalamus and epiphysis was examined using a solid-phase indirect ELISA test. An upregulation of CRMP2 in both the hypothalamus and epiphysis was observed. In the second series of experiments, rat behavior was assessed using the elevated plus-maze (EPM) test. As a result, two groups were formed: (1) control group — received inactive CRMP2; (2) experimental group — received CRMP2. Both preparations were administered intranasally 24 hours before and 7 days after desynchronization. After the desynchronization period, rats from both groups were re-tested in the EPM, and the number and duration of specific behavioral acts were recorded. The experimental group showed a three-fold decrease in the number of rearing ($p < 0.001$) and total duration of grooming ($p < 0.001$) in the closed arms of the maze, with no change in the number of hanging behaviors, relative to pre-desynchronization levels. The rats then were sacrificed, and serum samples were collected to assess cortisol levels via ELISA. The cortisol level in the experimental group was significantly lower than in the control group ($p < 0.001$). The study suggests that CRMP2 exhibits anxiolytic activity, helping the organism to adapt to desynchronization stress by influencing circadian rhythm disturbances in specialized brain structures and through hormonal regulation.

Keywords: circadian rhythm desynchronization, rats, CRMP2, indirect ELISA test, hypothalamus, epiphysis, elevated plus-maze, cortisol

Введение

В настоящее время значительная часть трудоспособного населения развитых стран осуществляет трудовую деятельность в ночное время суток. Несмотря на возможность отдохнуть и восстановиться в светлое время суток, эти люди тем не менее подвергаются воздействию десинхронизационного стресса, вызванного нарушением естественного циркадианного ритма. Вследствие того, что десинхронизационный стресс способен вызывать глубокие изменения в функционировании структур головного мозга и гормональной сферы, у лиц, подвергнутых его продолжительному воздействию, впоследствии могут развиваться такие тяжелые патологии, как злокачественные опухоли, сахарный диабет, артериальная гипертензия и др. Поэтому исследования молекулярных механизмов десинхронизационного стресса имеют несомненную

значимость как с медицинской, так и с социальной точек зрения для своевременного предотвращения неблагоприятных эффектов десинхронизации циркадианного ритма на организм человека и возникновения тяжелых и плохо поддающихся лечению заболеваний.

Белок 2, опосредующий активность коллапсина (collapsin-response mediator protein 2 (CRMP2)), известен как белок, способствующий росту аксонов нейронов головного мозга и их миграции (Nakamura et al. 2020). Вместе с тем ранее проведенные нами исследования продемонстрировали, что серотонин-модулируемый белок (СМАБ), активным действующим началом которого является составляющий его CRMP2, связанный очень прочными Ca^{2+} -зависимыми связями с актином и тубулином (Garina et al. 2018), обладает выраженными адаптогенными свойствами к воздействию неблагоприятных факторов окружающей среды химической

и физической природы (Gaisina et al. 2022; Mustafayev, Mekhtiev 2014; Mekhtiev et al. 2017). Исходя из приведенных выше данных, целью настоящего исследования было моделирование десинхронизации циркадианного ритма на крысах, обнаружение его влияния на уровень CRMP2 в эпифизе и гипофизе у крыс, а также анализ влияния интраназального введения CRMP2 подвергнутым десинхронизационному стрессу крысам на поведенческие показатели с привлечением приподнятого крестообразного лабиринта (ПКЛ) и на уровень стрессорного гормона кортизола в сыворотке их крови.

Материалы и методы исследований

Выделение CRMP2 осуществляли из головного мозга коров. Основными этапами выделения были (Gaisina et al. 2022): 1) дробное осаждение сульфатом аммония в интервале насыщения 0–40%; 2) гель-хроматография на колонке (3 × 60 см) с сефадексом G-150 (Serva, Германия); 3) инкубация иммунопозитивной фракции на встряхивателе в течение ночи при 4 °С в смеси с 60 мМ деионизированного ЭДТА; 4) изоэлектрическое фокусирование смеси иммунопозитивной фракции с 60 мМ ЭДТА на ультрагеле с использованием амфолинов (Pharmacia, Швеция) в узком диапазоне pH (4–6). Отбор иммунопозитивных фракций после каждого этапа фракционирования осуществляли под скрининговым контролем твердофазного непрямого иммуноферментного анализа (НИФА). Гомогенность выделенного препарата контролировали методом нативного электрофореза в 7,5%-м полиакриламидном геле в трис-глициновой буферной системе (pH 8,3). Принадлежность выделенного белка к CRMP2 была установлена методом масс-спектропии (Garina et al. 2018), его изоэлектрическая точка определена методом изоэлектрического фокусирования.

Поликлональные иммуноглобулины получали в результате иммунизации кроликов-самцов породы Шиншилла с массой тела 2,5–3 кг очищенным CRMP2 в количестве 300 мкг всегда в смеси с равным объемом полного адъюванта Фрейнда. Первые три иммунизации проводили с интервалом в 14 суток, последующие — один раз в месяц. Через 10 суток после 3-й и последующих иммунизаций из краевой вены уха у животных забирали по 50 мл крови, выделяли сыворотку и путем приливания 100%-го раствора сульфата аммония осаждали иммуноглобулины G. Иммуноглобулины, полученные от каждого кролика, тестировали в НИФА для

определения выраженности иммунного ответа в отношении CRMP2. Для дальнейших исследований использовали иммуноглобулины, имевшие высокие титры.

Исследования были выполнены на крысах-самцах линии Wistar с массой тела 180–220 г. В первой серии исследований крысы были поделены на 2 группы: 1) интактная группа — животных содержали в режиме чередования светлого и темного интервалов, по 12 ч каждого (n = 8); 2) экспериментальная группа — животных подвергали воздействию непрерывного искусственного освещения неоновыми лампами на протяжении 14 суток (n = 8). По завершении 14 суток световой десинхронизации животных обеих групп подвергали эвтаназии путем декапитации и из головного мозга крыс извлекали эпифиз и гипофиз. Методом НИФА на полистироловых планшетах с умеренным уровнем сорбции (Sigma, Германия) определяли уровни CRMP2 в белковых экстрактах (Catty, Raikundalia 1989). При постановке НИФА белковые экстракты использовали в качестве антигенов в концентрации 20 мкг/мл в 0,1 М трис-НСl буфере (pH 8,6), тогда как кроличьи поликлональные иммуноглобулины G к CRMP2 использовали в качестве первичных антител, а конъюгаты противокроличьих козьих иммуноглобулинов с пероксидазой хрена — в качестве вторичных антител. Оба вида антител разводили в буфере для антител, содержащем 0,04 М фосфатный буфер, 0,15 М NaCl, 0,05% твина-20 и 1% бычьего сывороточного альбумина (pH 7,3). В качестве субстрата использовали ортофенилендиамин в концентрации 0,5 мг/мл в 0,05 М цитрат-фосфатном буфере (pH 4,5). Реакцию останавливали через 20 мин после добавления субстрата, заливая в каждую лунку по 50 мкл 3 М NaOH. Результаты реакции считывали на фотометре для иммуноферментного анализа “Molecular Devices SpectraMax 250” (MTX Lab Systems, Inc., USA) на длине волны 492 нм (длина волны сравнения 630 нм) в виде оптических единиц поглощения (ОЕП).

Во второй серии исследований животные были разделены на 2 группы: 1) контрольная группа (n = 8), которой вводили инактивированный CRMP2 (водяная баня при 60 °С в течение 35 мин); 2) опытная группа (n = 8), которой вводили активный CRMP2. Препараты в физиологическом растворе (pH 7,3; в качестве буфера использовали фосфат натрия) вводили интраназально в дозе 1 мг/мл и объеме по 10 мкл в обе ноздри один раз в неделю на протяжении двух недель (всего два введения). Интраназальное введение препаратов было выбрано как

нетравматичный способ их доставки в головной мозг в обход гематоэнцефалического барьера при их многократном введении (Pardeshi, Belgamwar 2013). Десинхронизацию циркадианного ритма осуществляли путем непрерывного освещения крыс обеих групп лампой с силой света 459 кандел, укрепленной на высоте 2,2 м над контейнерами для крыс. За 24 ч до введения CRMP2 и по завершении 14-дневной десинхронизации животных обеих групп на 5 мин помещали в ПКЛ, предназначенный для исследования уровня тревожности у крыс (Walf, Frye 2007), и осуществляли регистрацию количества и продолжительности различных поведенческих актов: вертикальных стоек, груминга и свешиваний. По завершении анализа поведения после 14-дневной десинхронизации животных обеих групп подвергали эвтаназии путем декапитации. У животных были взяты пробы крови, из которых была выделена сыворотка. Методом НИФА в сыворотке крови этих животных определяли уровень кортизола (Хема, Россия).

Поведенческие опыты, интраназальные введения препаратов, а также умерщвление живот-

ных для изъятия структур головного мозга и проведения иммуноферментного анализа осуществляли в утреннее время суток, в интервале 10.00–13.00 по местному времени.

Результаты иммунохимических и поведенческих экспериментов анализировали с помощью t-критерия Стьюдента. Перед проведением статистической обработки результатов посредством t-критерия Стьюдента все выборки были проанализированы на нормальность распределения посредством формулы $M \pm 3\sigma$ (Lakin 1990).

Результаты исследований и обсуждение

В первой серии исследований у животных опытной группы, подвергнутых 14-суточной десинхронизации циркадианного ритма, отмечалось достоверное повышение уровня CRMP2 в гипоталамусе ($0,199 \pm 0,012$ ОЕП; $p < 0,01$) и эпифизе ($0,191 \pm 0,008$ ОЕП; $p < 0,01$) относительно его уровня в этих структурах у интактных животных (соответственно, $0,15 \pm 0,014$ ОЕП и $0,138 \pm 0,014$ ОЕП) (рис. 1).

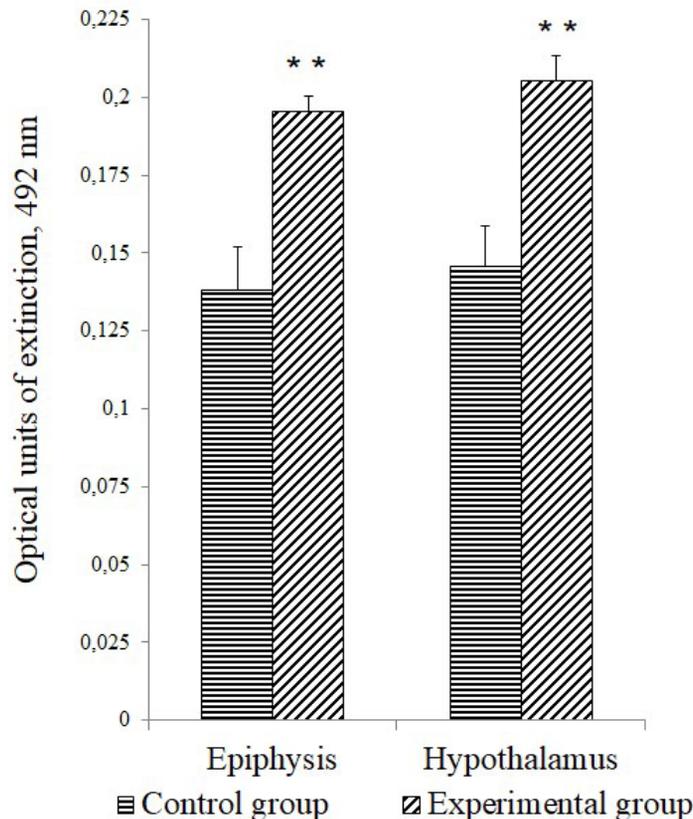


Рис. 1. Изменение уровня CRMP2 в эпифизе и гипоталамусе у крыс, подвергнутых 14-суточной десинхронизации циркадианного ритма (Experimental group), в сравнении с интактными животными (Control group). ** — достоверные различия ($p < 0,01$)

Fig. 1. Change in CRMP2 levels in the epiphysis and hypothalamus of rats subjected to 14-day circadian rhythm desynchronization (Experimental group) in comparison to intact animals (Control group). ** — significant differences ($p < 0.01$)

По завершении 14-суточной световой десинхронизации при тестировании животных в ПКЛ в контрольной группе наблюдали значительные изменения в поведении. При этом в контрольной группе наблюдалось заметное снижение количества свешиваний ($3,4 \pm 0,2$) в закрытом рукаве лабиринта в сравнении со значениями у этих же животных до начала десинхронизации ($8,9 \pm 1,4$; $p < 0,01$) (рис. 2). Наряду с этим, в контрольной группе было отмечено увеличение общей продолжительности груминга в закрытых рукавах лабиринта в сравнении с показателем до начала десинхронизации ($7,5 \pm 1,0$ и $4,25 \pm 0,8$ сек, соответственно, $p < 0,05$) (рис. 3). Указанные изменения в перечисленных видах поведения животных контрольной группы указывают на выраженное стрессорное влияние 14-суточного десинхронизационного стресса на их центральную нерв-

ную систему, обусловленное нарушением циркадианного ритма.

При проведении поведенческого эксперимента в ПКЛ для анализа поведения животных опытной группы в качестве контрольных использовали как значения поведенческих актов животных этой же группы до начала световой десинхронизации и введения препаратов, так и значения животных контрольной группы, также подвергнутых 14-суточной десинхронизации и дважды получивших интраназальные инъекции инактивированного CRMP2.

При рассмотрении результатов поведения животных опытной группы обращают на себя внимание следующие изменения поведения по завершении 14-суточной десинхронизации циркадианного ритма. У животных этой группы наблюдалось трехкратное снижение количества вертикальных стоек в закрытых рукавах

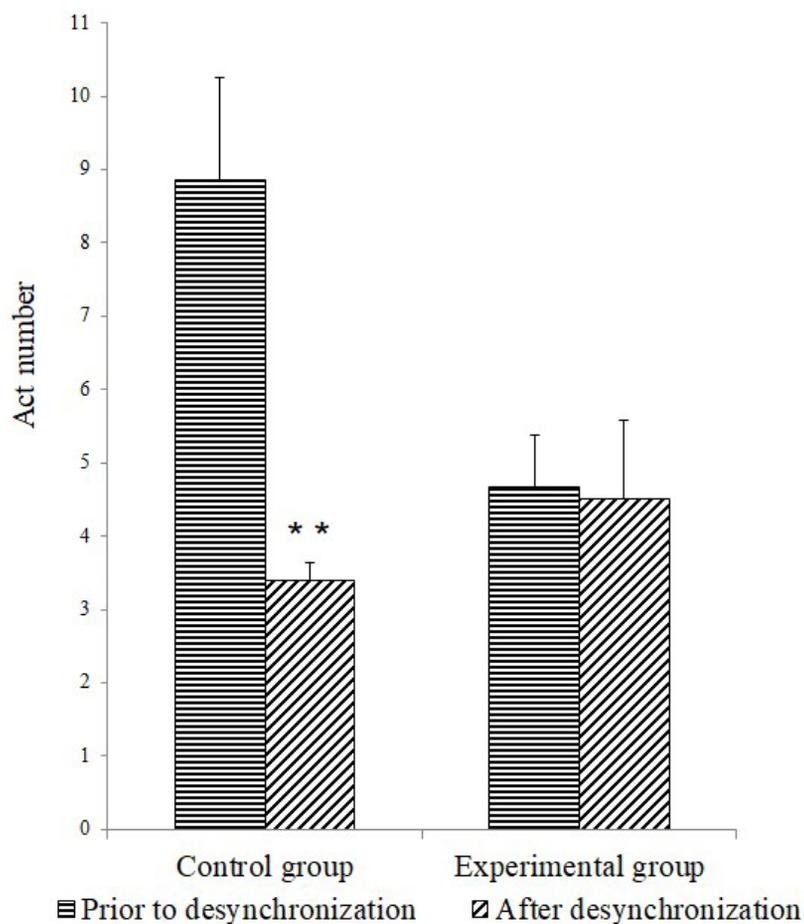


Рис. 2. Количество свешиваний у крыс в ПКЛ до и после 14-суточной десинхронизации циркадианного ритма и интраназального введения инактивированного (Control group) или активного (Experimental group) CRMP2.

** — достоверные различия ($p < 0,01$)

Fig. 2. Number of hangings in rats in the EPM before and after 14-day circadian rhythm desynchronization and intranasal administration of inactivated (Control group) or active (Experimental group) CRMP2.

** — significant differences ($p < 0.01$)

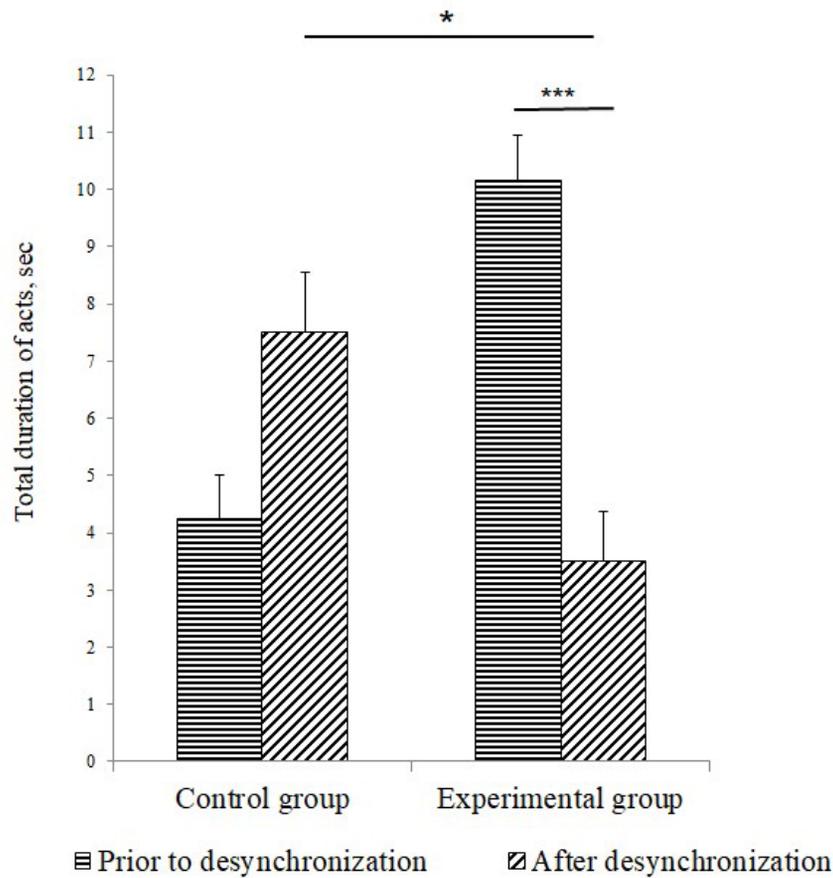


Рис. 3. Общая продолжительность груминга у крыс в закрытых рукавах ПКЛ до и после 14-суточной десинхронизации циркадианного ритма и интраназального введения инактивированного (Control group) или активного (Experimental group) CRMP2.
* — достоверные различия ($p < 0,05$); *** — достоверные различия ($p < 0,001$)

Fig. 3. Total duration of grooming in the closed arm of the elevated plus-maze in rats before and after 14-day circadian rhythm desynchronization and intranasal administration of inactivated (Control group) or active (Experimental group) CRMP2.
* — significant differences ($p < 0.05$); *** — significant differences ($p < 0.001$)

лабиринта по сравнению со значением этого показателя до начала десинхронизации: соответственно, $1,6 \pm 0,2$ и $4,8 \pm 0,7$ ($p < 0,001$) (рис. 4), и по сравнению с контрольными животными, также подвергнутыми воздействию десинхронизации — $3 \pm 0,3$ ($p < 0,01$) (рис. 4). Кроме того, у животных опытной группы отмечалось почти трехкратное снижение общей продолжительности груминга в закрытых рукавах лабиринта по сравнению со значением груминга у этих животных до начала десинхронизации: соответственно, $3,5 \pm 0,9$ сек и $10,2 \pm 0,8$ сек ($p < 0,001$) (рис. 3). Наблюдалось снижение уровня этого показателя относительно значений контрольных животных, также подвергнутых 14-суточной десинхронизации: соответственно, $3,5 \pm 0,9$ сек и $7,5 \pm 1,0$ сек ($p < 0,05$). По завершении десинхронизации количество свешиваний у животных опытной группы в отличие от снижения уровня этого показателя у контрольной группы фактически осталось

на том же уровне, что и до начала десинхронизации (рис. 2). По результатам анализа поведения животных опытной группы в ПКЛ можно прийти к выводу, что двукратное интраназальное введение крысам CRMP2 приводит к заметному ослаблению неблагоприятного влияния 14-суточного десинхронизационного стресса на центральную нервную систему.

Определение уровня стрессового гормона кортизола в сыворотке крови животных контрольной и опытной групп, подвергнутых 14-суточной десинхронизации циркадианного ритма, выявило снижение уровня кортизола в сыворотке крови у животных опытной группы ($71,1 \pm 2,4$ нМ, $p < 0,001$) относительно контрольных значений ($96,3 \pm 2,6$ нМ) (рис. 5).

В целом полученные результаты исследований позволили выявить повышение уровня CRMP2 в гипоталамусе, являющемся центром регуляции вегетативных функций в головном мозге и задействованном в регуляции циркадианного

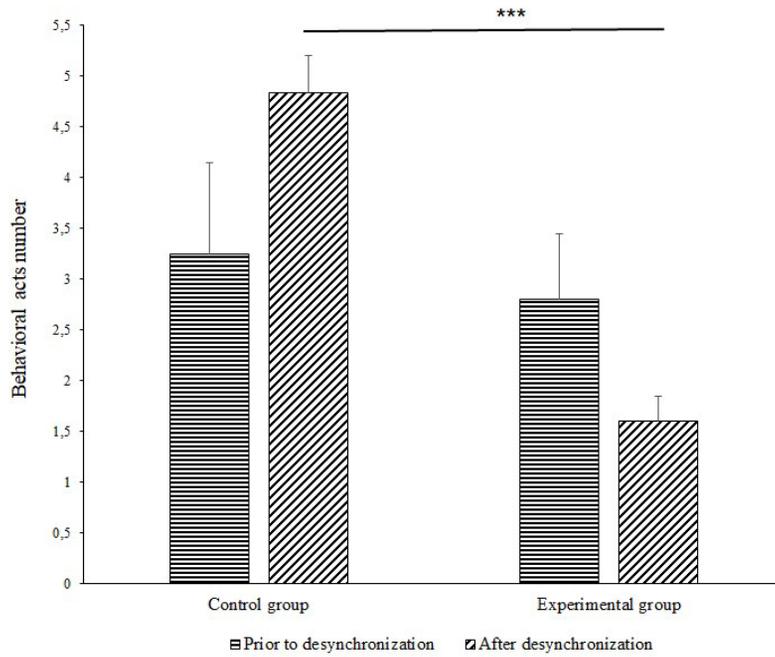


Рис. 4. Количество вертикальных стоек у крыс в закрытых рукавах крестообразного лабиринта до и после 14-суточной десинхронизации циркадианного ритма и интраназального введения инактивированного (Control group) или активного (Experimental group) CRMP2. *** — достоверные различия ($p < 0,001$)

Fig. 4. Number of rears in the closed arm of the elevated plus-maze in rats before and after 14-day circadian rhythm desynchronization and intranasal administration of inactivated (Control group) or active (Experimental group) CRMP2. *** — significant differences ($p < 0.001$)

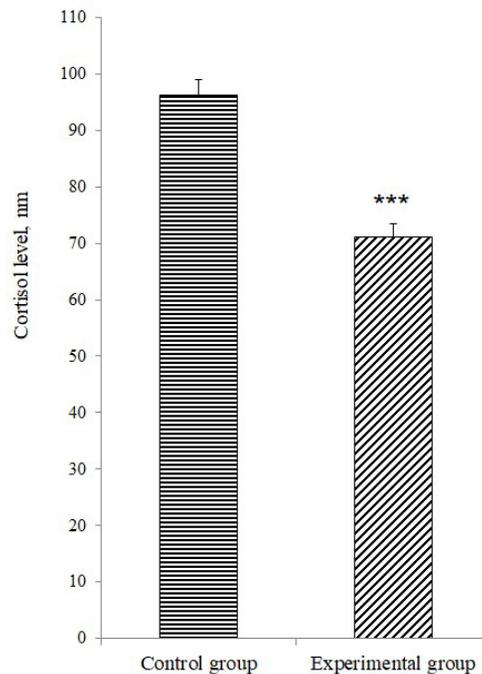


Рис. 5. Уровень кортизола в сыворотке крови у крыс после 14-суточной десинхронизации циркадианного ритма и интраназального введения инактивированного (Control group) или активного (Experimental group) CRMP2. *** — достоверные различия ($p < 0,001$)

Fig. 5. Serum cortisol levels in rats after 14-day circadian rhythm desynchronization and intranasal administration of inactivated (Control group) or active (Experimental group) CRMP2. *** — significant differences ($p < 0.001$)

ритма, и в эпифизе, обеспечивающем синтез мелатонина (do Amaral, Cipolla-Neto 2018), у крыс, подвергнутых 14-суточной десинхронизации циркадианного ритма. По-видимому, этот процесс имеет компенсаторное значение и способствует адаптации животных к негативному влиянию десинхронизационного стресса. Предположение об адаптивном повышении CRMP2 в гипоталамусе и эпифизе крыс, подвергнутых 14-суточной десинхронизации, экспериментально подтверждено во второй серии исследований. Они продемонстрировали анксиолитическое влияние CRMP2, с одной стороны, на поведенческие показатели в ПКЛ у крыс опытной группы, подвергнутых воздействию 14-суточного десинхронизационного стресса и получивших в этот период интраназальные инъекции CRMP2, а, с другой стороны, снижение уровня кортизола в сыворотке крови у этих животных.

Таким образом, на основании полученных экспериментальных данных можно прийти к выводу о способности CRMP2 нивелировать неблагоприятное воздействие десинхронизационного стресса на организм и обеспечивать его адаптацию к нарушению циркадианного ритма на уровне специализированных структур головного мозга и гормональной регуляции.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов

Conflict of Interest

The authors declare that there is no conflict of interest, either existing or potential.

Соответствие принципам этики

Все исследования выполнены в соответствии с этическими стандартами Института и Национального Комитета Азербайджана по биоэтике, а также в соответствии с этическими принципами Хельсинской Декларации (WWS Declaration of Helsinki) в отношении медицинских исследований.

Ethics Approval

All studies were conducted in accordance with the ethical standards set by the Academician Abdulla Garayev Institute of Physiology and the National Bioethics Committee of Azerbaijan, as well as in compliance with the ethical principles outlined in the Declaration of Helsinki (WMA Declaration of Helsinki) regarding medical research.

Вклад авторов

а. Парвин Асад кызы Зульфугарова — участие в проведении поведенческих и иммунохимических экспериментов, в обработке результатов и их обсуждении;

б. Ариф Алиовсад оглы Мехтиев — участие в проведении биохимических и иммунохимических экспериментов, в обработке результатов, их обсуждении и оформлении статьи.

Author Contributions

a. Parvin A. Zulfugarova — behavioral and immunochemical experiments, data analysis and discussion;

b. Arif A. Mekhtiev — biochemical and immunochemical experiments, data analysis and discussion, article preparation.

References

- Catty, D., Raikundalia Ch. (1989) Immune enzyme analysis. In: D. Catty (ed.). *Antibodies. Vol. II: A Practical Approach*. Oxford: Oxford University Press; IRL Press, pp. 152–238. (In English)
- do Amaral, F. G., Cipolla-Neto, J. (2018) A brief review about melatonin, a pineal hormone. *Archives of Endocrinology and Metabolism*, vol. 62, no. 4, pp. 472–479. <https://doi.org/10.20945/2359-3997000000066> (In English)
- Gaisina, A. A., Mekhtiev, A. A., Nurullayeva, A. N. et al. (2022) The impact of background γ -radiation on erythrocyte nuclear pathology, the serotonergic system, and cytochrome P-450 in hens (*Gallus gallus domesticus*) from Azerbaijan. *Ecotoxicology*, vol. 31, no. 5, pp. 846–851. <https://doi.org/10.1007/s10646-022-02540-8> (In English)
- Garina, D. V., Bolshakov, V V., Toropygin, I. Yu. et al. (2018) Rol' neyrospetsifichnogo digidropirimidinaza-podobnogo belka 2 (DPYL2) v formirovanii prostranstvennoj pamyati u kostistyx ryb [The role of neuro-specific dihydropyrimidinase-related protein 2 (DPYL2) on spatial memory formation in teleosts]. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, vol. 9, no. 1, pp. 11–14. <http://dx.doi.org/10.15421/021802> (In Russian)
- Lakin, G. F. (1990) *Biometriya [Biometrics]*. Moscow: Vysshaya shkola Publ., 352 p. (In Russian)
- Mekhtiev, A. A., Allahverdiyeva, T. N., Movsum-zadeh, S. K. (2017) DNA integrity-protecting and survival-promoting activity of serotonergic system in sturgeon juveniles and sazans. *Fish Physiology and Biochemistry*, vol. 43, no. 4, pp. 1153–1160. <https://doi.org/10.1007/s10695-017-0360-5> (In English)

- Mustafayev, N. J., Mekhtiev, A. A. (2014) Kharakter izmeneniya urovnya serotonin-moduliruemogo antikonsolidatsionnogo belka i tsitokhroma P-450 v tkanyakh vostochnoy bystryanki *Alburnoides bipunctatus eichwaldi* iz rek Azerbajdzhana [Character of changes of the level of serotonin-modulated anticonsolidation protein and of cytochrome P-450 in tissues of the eastern alburnoid *Alburnoides bipunctatus eichwaldi* from rivers of Azerbaijan]. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, vol. 50, no. 3, pp. 190–195. (In Russian)
- Nakamura, F., Ohshima, T., Goshima, Y. (2020) Collapsin response mediator proteins: Their biological functions and pathophysiology in neuronal development and regeneration. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, vol. 14, article 188. <https://doi.org/10.3389/fncel.2020.00188> (In English)
- Pardeshi, Ch. V., Belgamwark, V. Sh. (2013) Direct nose to brain drug delivery via integrated nerve pathways bypassing the blood–brain barrier: An excellent platform for brain targeting. *Expert Opinion on Drug Delivery*, vol. 10, no. 7, pp. 957–972. <https://doi.org/10.1517/17425247.2013.790887> (In English)
- Walf, A., Frye, C. (2007) The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nature Protocols*, vol. 2, pp. 322–328. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.44> (In English)