

На правах рукописи

ЖУРАВЛЕВА
ЗОЯ ДМИТРИЕВНА

**РОЛЬ ГЛИЦИНЭРГИЧЕСКОЙ ПЕРЕДАЧИ МЕДИАЛЬНОЙ
ПРЕОПТИЧЕСКОЙ ОБЛАСТИ ГИПОТАЛАМУСА В РЕГУЛЯЦИИ
РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ПОВЕДЕНИЯ САМЦОВ КРЫС**

1.5.5 – физиология человека и животных

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Нижний Новгород – 2022

Работа выполнена на кафедре нейротехнологий Института биологии и биомедицины ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»

Научный руководитель: **Мухина Ирина Васильевна**, доктор биологических наук, профессор, зав. каф. нормальной физиологии им. Н.Ю. Беленкова ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России

Официальные оппоненты: **Умрюхин Алексей Евгеньевич**, доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой нормальной физиологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)

Дюжикова Наталья Алековна, доктор биологических наук, заместитель директора по научной работе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института физиологии им. И.П.Павлова Российской академии наук

Ведущая организация: Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук

Защита состоится: «16» июня 2022 года в 15:00 часов на заседании диссертационного совета Д 24.2.340.06 при ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского» по адресу: 603950, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, д. 23, корп. 1.

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной библиотеке Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского и на сайте: <http://diss.unn.ru>

Автореферат разослан «___» _____ 2022 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат биологических наук



Акинчиц Елена Константиновна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Исследование медиаторной передачи в нейрональных сетях структур головного мозга, обеспечивающих со стороны ЦНС поведение животных и человека и их приспособление к окружающей среде, остается важной проблемой физиологии 21 века, в частности физиологии нервной системы.

Медиальная преоптическая область (МПО) гипоталамуса является одним из центральных сайтов интеграции информации, поступающей как от лимбической системы и коры больших полушарий, так и от нижележащих отделов мозга, таких как ствол головного мозга. МПО гипоталамуса имеет довольно сложное анатомическое строение и большое количество нейрональных связей с другими отделами головного мозга. В структуре МПО выделяют большое овальное медиальное преоптическое ядро, состоящее из трёх хорошо различимых субпопуляций (Maejima et al., 2018). Вышеуказанные субпопуляции получают анатомически разделённые входы и посылают также анатомически разделённые выходы, благодаря чему разные субпопуляции нейронов контролируют разные виды поведения (Simerly, 2015).

Центральная часть медиального преоптического ядра является одним из наиболее значимых нервных центров, регулирующих половое поведение самцов подавляющего большинства видов млекопитающих, включая грызунов (Tsuneoka et al., 2017; Quintana et al., 2019; Hull and Dominguez, 2019; Morishita, Kamada, Tsukahara, 2021). Для ряда видов млекопитающих, таких как овцы, макаки-резусы, перепела, крысы, а также для человека эта область содержит кластер нейронов с более высокой плотностью клеток по сравнению с другими частями и является одним из ядер полового диморфизма (SDN-POA), которое в пять-семь раз больше и содержит больше нейронов у самцов, чем у самок крыс. Было показано, что повреждение МПО приводит к исчезновению паттернов полового поведения, таких как маунтинги, интромиссии и эякуляции у многих видов, включая приматов (Numan, 2014; Nakashima et al., 2019). Кроме того, в МПО существуют две обособленные группы нейронов. Одна из них отвечает за регуляцию appetitивного, а другая – консуматорного поведения (Numan, 2014). МПО входит в нейрональные круги регуляции процесса эякуляции, принимая участие в снятии тонического ингибирования соответствующих мотонейронов спинного мозга со стороны ядра продолговатого мозга (Hull, Dominguez, 2019).

Существует ряд исследований, в которых МПО изучалась среди структур головного мозга, включённых в регуляцию социального интереса (Dumais et al., 2013), игрового поведения, а также прочих видов

аффилированного социального поведения и социального взаимодействия, связанных с социальной мотивацией (Zhao et al., 2020).

Кроме того, МПО участвует в регуляции степени тревожности человека и животных как часть гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси. Тормозные ГАМКергические проекции нейронов МПО в парвоцеллюлярное паравентрикулярное ядро гипоталамуса, секретирующее кортикотропин-рилизинг-гормон, опосредуют вовлеченность МПО в регуляцию уровня тревожности и связанного с ним защитного поведения (Rodríguez, Dueñas, 2013; Dimen et al., 2021).

Относительно механизмов нейротрансмиттерной передачи в МПО в основном проводились исследования физиологической роли глутаматэргической, ГАМК-эргической, серотонинэргической и дофаминэргической синаптической передачи в нейронных сетях МПО (Huang et al. 2019; Lonstein, Linning-Duffy, Yan, 2019; Guadarrama-Bazante, Rodríguez-Manzo, 2019; Hull, Dominguez, 2019), но не глицинэргической передачи, так как считалось, что она играет важную роль только в тормозных сетях спинного мозга и ствола мозга (Krowicki, Kapusta, 2011; Jonsson et al., 2012; Schaefer et al., 2018; Kumar et al., 2020). В то же время имеются исследования, подтверждающие наличие и важность глицинэргической передачи в высших отделах головного мозга, в частности, в некоторых ядрах гипоталамуса (van den Pol, Gorcs, 1988; Krowicki, Kapusta, 2011). Карлссон и коллеги в 1997 году обнаружили, что глициновые аппликации на изолированные нейроны переживающих срезов МПО порождают стрихнин-чувствительные токи (Karlsson, Haage, Johansson, 1997). В более поздней литературе существует подтверждение наличия глициновых рецепторов в МПО гипоталамуса (Malinina, Druzin, Johansson, 2005; Karlsson et al., 2011). Однако имеющихся данных недостаточно для понимания роли глицина и глицинэргической передачи МПО в регуляции соматических функций или поведенческих паттернов. Поскольку глицин в высших отделах головного мозга может выступать в качестве ко-агониста ионотропного рецептора глутамата, селективно связывающим N-метил-D-аспартат (NMDA-рецептор; Yu, Lau, 2018), то в нейронных сетях головного мозга он может являться посредником как тормозной, так и возбуждающей передачи импульсов. Вероятно, что роль глицина в обеспечении регуляции поведения будет зависеть от особенностей соотношения ГАМК-эргических и глицинэргических тормозных путей в нейронных сетях мозга, что важно учитывать при выборе потенциальной терапевтической мишени для коррекции различных неврологических расстройств. Например, в ряде экспериментов на наиболее популярных модельных объектах для поведенческих экспериментов - самцах крыс стоков Sprague Dawley и Wistar

- была показана существенная разница между стоками в некоторых проявлениях социального поведения (Manduca et al., 2014a; Manduca et al., 2014b) и уровне тревожности (Rybnikova, Vetrovoi, Zenko, 2018), влияющая на результаты экспериментов по фармакологической модуляции поведения, в то время как физиологические и нейробиологические причины данных различий в поведении крыс двух стоков остаются невыясненными.

Вышесказанное, в свою очередь, позволяет предположить, что изучение влияния, оказываемого глицином и глицинэргической передачей МПО на регулируемые им виды поведения самцов крыс стоков Sprague Dawley и Wistar, представляется важной и актуальной на данный момент задачей.

Цель работы

Целью работы явилось выяснение роли глицинэргической тормозной передачи в медиальной преоптической области гипоталамуса в регуляции поведения самцов крыс стоков Sprague Dawley и Wistar.

Задачи исследования:

1. Выявить эффективную концентрацию стрихнина, избирательно блокирующую глициновые рецепторы, на изолированных нейронах медиальной преоптической области гипоталамуса;
2. Изучить роль глицинэргической передачи в нейрональных сетях медиальной преоптической области гипоталамуса в организации полового поведения самцов крыс стоков Sprague Dawley и Wistar;
3. Изучить роль глицинэргической передачи в нейрональных сетях медиальной преоптической области гипоталамуса в регуляции зоосоциального поведения крыс стоков Sprague Dawley и Wistar в тесте Кроули;
4. Изучить роль глицинэргической передачи в нейрональных сетях медиальной преоптической области гипоталамуса в регуляции двигательной активности и тревожности крыс стоков Sprague Dawley и Wistar в тесте «открытое поле».

Научная новизна работы

Впервые был проведен анализ концентрационной зависимости действия стрихнина как антагониста глициновых и ГАМК-рецепторов МПО на изолированных нейронах методом patch-clamp и доказано, что стрихнин в концентрации 20 μ M блокирует глициновые рецепторы и не блокирует ГАМК-рецепторы. Следовательно, стрихнин в концентрации 20 μ M может быть использован в качестве ингибитора глицинзависимого торможения в нейронных сетях МПО.

Впервые было выявлено, что интактные крысы самцы стока Wistar демонстрируют менее эффективное половое поведение, чем самцы стока Sprague Dawley. Впервые *in vivo* было показано, что глицин оказывает тормозное влияние на половое поведение самцов крыс стока Wistar, в то время как у крыс стока Sprague Dawley глицин, наоборот, повышает эффективность полового поведения самцов.

Впервые было показано, что глицинэргическая тормозная передача в МПО самцов крыс участвует в регуляции степени тревожности самцов стока Wistar, но не Sprague Dawley.

Впервые было выявлено, что глицинэргическая тормозная передача в МПО самцов крыс не оказывает влияния на социальное взаимодействие, горизонтальную двигательную активность самцов стоков Wistar и Sprague Dawley.

Научно-практическая значимость

Для фундаментальной нейрофизиологии представляются значимыми полученные в работе данные об участии глицинэргической тормозной системы и модуляции глицином возбуждающей системы передачи импульсов в нейронных сетях медиальной преоптической области гипоталамуса в поведении самцов крыс.

Полученные в работе данные являются экспериментальным обоснованием значимости глициновых рецепторов медиальной преоптической области гипоталамуса в регуляции полового поведения самцов крыс и тревожности и позволяют рассматривать их как новую мишень для разработки методов терапии нарушения полового поведения. При проведении доклинических исследований новых лекарственных препаратов следует учитывать выявленный механизм различия при выборе модельного стока крыс для исследования полового поведения в эксперименте.

Методология и методы исследования

Исследование выполнено на самцах крыс стоков Sprague Dawley и Wistar с использованием комплексного методического подхода. Для выбора эффективной концентрации стрихнина для блокады глициновых рецепторов МПО в электрофизиологических экспериментах использовался метод patch-clamp, выполненный на диссоциированных нейронах медиальной преоптической области гипоталамуса самцов крыс. Для изучения роли глицинэргической передачи в поведении крыс использовали (1) оперативные методы вживления инъекционных канюль в глубокие структуры мозга, (2) фармакологический метод с применением стимуляции и блокады глициновых рецепторов растворами глицина и стрихнина соответственно, а также (3) поведенческое тестирование полового поведения самцов,

социального взаимодействия в тесте Кроули, двигательной и ориентировочно-исследовательской активности, тревожности в тесте «открытое поле».

Основные положения, выносимые на защиту

1) Глицинэргическое торможение играет важную роль в организации тормозных процессов в нейронных сетях медиальной преоптической области гипоталамуса, обеспечивая особенности полового поведения крыс стока Wistar;

2) Глицинэргическая тормозная нейротрансmissão медиальной преоптической области гипоталамуса играет роль в обеспечении тревожности самцов стока Wistar, но не самцов стока Sprague Dawley;

3) Глицинэргическая тормозная нейротрансmissão медиальной преоптической области гипоталамуса не участвует в формировании поведения при социальном взаимодействии, двигательной и ориентировочно-исследовательской активности как самцов стока Wistar, так и самцов стока Sprague Dawley.

Личный вклад автора

При работе над диссертацией автором были лично выполнены экспериментальные исследования, обработка и анализ полученных данных, подготовлены научные статьи и другие публикации. Автор неоднократно выступала с докладами на международных, всероссийских и региональных конференциях и симпозиумах. Выбор темы исследования, постановка задач и обсуждение полученных результатов проводились совместно с научным руководителем.

Достоверность научных результатов

Достоверность научных результатов подтверждается воспроизводимостью экспериментальных данных и обусловлена широкой апробацией и надёжностью использования экспериментальных методов исследования, а также качественной и количественной согласованностью с результатами независимых исследований других авторов.

Методология и методы исследования

Исследование выполнено на самцах крыс стоков Sprague Dawley и Wistar с использованием комплексного методического подхода. Для выбора эффективной концентрации стрихнина для блокады глициновых рецепторов МПО в электрофизиологических экспериментах использовался метод patch-clamp, выполненный на диссоциированных нейронах медиальной преоптической области гипоталамуса самцов крыс. Для изучения роли глицинэргической передачи в поведении крыс использовали оперативные методы вживления инъекционных канюль в глубокие структуры мозга, фармакологический метод с применением стимуляции и блокады

глициновых рецепторов растворами глицина и стрихнина соответственно, а также поведенческое тестирование полового поведения самцов, социального взаимодействия в тесте Кроули и тревожности в тесте «открытое поле».

Аппробация работы

Основные положения диссертации доложены на XIX Нижегородской сессии молодых ученых «Естественные, математические науки» (Нижний Новгород, 2014), международном симпозиуме «International Scientific School «Frontiers in Modern Neuroscience» (Нижний Новгород, 2014), международном симпозиуме «3rd International Seminar on Behavioral Methods» (Shirk, Poland, 2015), международном симпозиуме «Frontiers in Modern Neuroscience» (Нижний Новгород, 2015), XX Нижегородской сессии молодых ученых «Естественные, математические науки» (Нижний Новгород, 2015), международном форуме FEPS (Paris, France, 2016), международном симпозиуме XIII European Meeting on Glial Cells in Health and Disease (Edinburgh, United Kingdom, 2017), XXXI Международной научно-практической конференции “Eurasiascience” (онлайн, 2020), конференции "Восьмая научно-практическая конференция специалистов по работе с лабораторными животными" (Пушино, 2020).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 16 работ, из них 4 статьи в рецензируемых журналах, входящих в перечень ВАК, 12 тезисов в сборниках всероссийских и международных конференций.

Структура и объем диссертации

Диссертация включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, результаты и их обсуждение, выводы и список литературы. Работа изложена на 148 страницах, содержит 53 рисунка. Список литературы содержит 122 источника.

Благодарность

Автор благодарит Друзина М.Я. (Университет Умео, Швеция) за консультации и результативное сотрудничество.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Для изучения роли глицинэргической системы МПО гипоталамуса в нейрональной регуляции полового поведения самцов крыс был использован комплексный методический подход, включающий исследование как на клеточном (исследование диссоциированных нейронов МПО методом patch-clamp), так и на поведенческом уровнях (изучение влияния микроинъекций веществ в МПО на параметры полового поведения, социального взаимодействия и тревожности). Для выявления механизмов был использован фармакологический подход.

Часть экспериментов, включая работу с диссоциированными нейронами и дальнейшие эксперименты на хронических животных, была выполнена в лаборатории изучения ионных каналов и нейронального сигналинга Университета Умео, Швеция, на базе вивария Университета Умео. Часть экспериментов, включая эксперименты на хронических животных, была выполнена на кафедре нейротехнологий ИББМ ННГУ им. Н.И. Лобачевского. Все экспериментальные и хирургические процедуры были одобрены этической комиссией Университета Умео и ННГУ им. Н.И. Лобачевского и соответствовали нормативам, указанным в руководстве «Guide for care and use of laboratory animals (ILAR publication, 1996, National Academy Press)» и межгосударственном стандарте ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами», санитарно-эпидемиологических правилах СП 2.2.1.3218-14.

Регистрация параметров активности диссоциированных нейронов МПО методом patch-clamp. Выбранная методика позволила провести анализ особенностей действия различных концентраций стрихнина на эффективность ГАМК-эргической передачи на изолированных нейронах МПО. Диссоциированные клетки МПО самцов крыс помещались в регистрационную камеру электрофизиологической установки. Для регистрации использовалась конфигурация whole cell patch-clamp в модификации perforated-patch, в которой амфотерицин выступал в качестве агента для перфорации клеточной мембраны. Все токи записывались в режиме voltage clamp. В качестве регистрирующих электродов использовались боросиликатные пипетки (GC150, Clark Electromedical Instruments, Pangbourne, UK), заполненные внутриклеточным раствором и погружённые во внеклеточный раствор и имеющие сопротивление 2-7 МОм. Сигнал записывался с использованием усилителя Axopatch 200A, интерфейса Digidata 1200 и программного обеспечения pClamp (Axon Instruments, Foster City, CA), под контролем персонального компьютера. Записанный сигнал фильтровался низкочастотным фильтром на частоте 2-10 кГц (23 дБ). Все эксперименты проводились при комнатной температуре (23-25°C). Процедуры и манипуляции по поиску нейронов и регистрации параметров методом perforated-patch осуществляли под оптическим контролем с помощью инвертированного микроскопа (Axio Observer Z1, Zeiss, Oberkochen, Germany) с дифференциальным контрастом по Номарскому (ув. x20). Регистрировали следующие параметры токового ответа нейрона: 1) амплитуду пика непосредственного токового ответа на аппликацию веществ и 2) амплитуду остаточного тока токового ответа на аппликацию веществ.

Данные обрабатывались с использованием программы Origin software (версия 4.0–4.1, Microcal Software, Northampton, MA).

В течение одного эксперимента на клетку восемь раз (с интервалом в 1 минуту) апплицировался 1 мМ раствор ГАМК, затем пять раз апплицировался раствор, содержащий одновременно 1 мМ р-р ГАМК и р-р стрихнина в заданной концентрации, затем вновь восемь раз апплицировался раствор, содержащий только 1 мМ ГАМК. Длительность каждой аппликации – 200 мс. В качестве промывающего раствора использовался внеклеточный раствор, подаваемый между аппликациями ГАМК и раствора стрихнина в заданной концентрации, а также подаваемый между аппликациями раствора, содержащего ГАМК и стрихнин одновременно.

Регистрация полового поведения, социального взаимодействия и тревожности. Для исследования роли глицинэргической передачи в МПО в регуляции полового поведения, социального взаимодействия и тревожности методом фармакологической активации и блокады глициновых рецепторов всем экспериментальным животным оперативным методом транскраниально вживлялись канюли для микроинъекций билатерально в область МПО. Канюли изготавливали из стальных инъекционных игл фирмы KDM диаметром 0.6 мм (маркировка 23G) и вживляли под общей анестезией («Золетил 100» в дозе 50 мг/кг внутривенно, 2% раствор «Рометар» в дозе 0,2 мл/кг внутримышечно и 0,5% новокаин подкожно в область операционного поля) в соответствии с координатами (Paxinos, Watson, 2007): каудально от брегмы $AP = -0,36$ мм, латерально от сагитального шва $L = 0,5$ мм, глубина погружения на $H = 5,4$ мм (при принятии поверхности мозга за точку отсчёта). Для введения веществ был изготовлен специальный механический аппликатор, который подавал жидкость (2 мкл) в обе канюли одновременно со скоростью 2 мкл в минуту в течение 1 минуты.

Регистрация полового поведения самцов. В экспериментах по изучению полового поведения участвовали 18 самок и 20 самцов. Из них было 6 самок и 9 половозрелых самцов стока Sprague Dawley массой от 350 до 450 грамм в возрасте от трёх до шести месяцев, содержащихся на базе вивария Университета Умео, и 12 самок и 11 половозрелых самцов стока Wistar в возрасте от трёх до шести месяцев массой от 350 до 450 грамм из конвенционального вивария ННГУ им. Н.И. Лобачевского.

Общая схема эксперимента. Перед началом экспериментов все самцы крыс были сексуально наивными, т.е. не имели полового опыта. Перед началом операции каждый самец участвовал в серии из трёх последовательных экспериментов, приобретая необходимый половой опыт. В этих экспериментах интактные самцы трижды подсаживались к рецептивным самками для регистрации параметров полового поведения, с перерывом

между экспериментами не менее 3 дней. Длительность каждого эксперимента составляла два часа, за это время самец, как правило, успевал совершить от двух до трех эякуляций. На следующем этапе самцы подверглись операции по вживлению канюль в область МПО билатерально. *Дизайн исследования* включал шесть последовательных экспериментов: три последовательных эксперимента для приобретения полового опыта и анализа его влияния на параметры полового поведения интактных крыс-самцов; вживление канюль в область МПО билатерально и последующий реабилитационный период (7 дней); регистрация полового поведения после билатеральной инъекции в канюли в случайном порядке: 2 мкл 1мМ раствора глицина; 20 μ М раствора стрихнина; раствора Рингера для теплокровных в качестве контроля. Использование данного дизайна экспериментов, при котором все исследуемые вещества инъецируются одной и той же группе животных, позволило уменьшить количество экспериментальных животных, следуя критерию «сокращение» правила «Трёх R».

Параметры полового поведения животных. Для регистрации полового поведения экспериментальный самец и заранее подготовленная самка помещались в прозрачный бокс из оргстекла (60x40x50 см), размеры которого позволяли животным свободно передвигаться и взаимодействовать друг с другом. Эксперимент всегда длился в течение 2-х часов, с 18:00 до 20:00, и проводился в изолированной от постороннего присутствия и шума комнате, освещенной рассеянным красным светом во избежание сбоя у животных режима «день-ночь». Регистрация полового поведения производилась с помощью видеокамеры Sony Handycam. Половое поведение самцов крыс было проанализировано с точки зрения двух компонентов – либидо (полового влечения самца к самке) и потенции (способности самца к половому акту). Либидо определяется сексуальным возбуждением и оценивалось следующими параметрами: латентный период маунтинга и/или интромиссии – время от подсадки самца к рецептивной самке до совершения им первого маунтинга или интромиссии. Неполные маунтинги (без фрикционных движений) при обработке результатов наблюдений не учитывались.

Потенция самца оценивалась по следующим параметрам: латентный период эякуляции – 1. время от произведенной самцом после подсадки к рецептивной самке первой интромиссии до эякуляции в одной сессии; 2. длительность периода покоя – время от эякуляции до первой интромиссии в следующей сессии; 3. число маунтингов за сессию; 4. число интромиссий за сессию. Также при анализе видеозаписей анализировались дополнительные вычисляемые параметры (Heijkoop, Huijgens, Snoeren, 2018): средний временной интервал между интромиссиями – длительность задержки

эякуляции, поделённая на количество интромиссий в сессию; частота паттернов в сессии – суммарное количество интромиссий и маунтингов, поделённое на длительность сессии (время от первого паттерна, маунтинга или интромиссии, в сессии); частота интромиссий в сессию – количество интромиссий в сессию, поделённое на суммарное количество маунтингов и интромиссий в сессию; число фрикционных движений в интромиссиях и эякуляциях для выявления периодов эякуляции.

Сессией полового поведения самцов крыс считали период от первого паттерна полового поведения самца до эякуляции. Как правило, за время регистрации (2 часа) самец успевал совершить от одной до трех сессий. Период между двумя последующими сессиями (от эякуляции до первого паттерна следующей сессии) определяли как период покоя.

Анализ данных и статистическая обработка результатов. Для обработки видеофайлов использовалась программа VirtualDub. В ходе обработки видеофайлов определяли время (с точностью до 1/25 доли секунды), когда был совершен определенный поведенческий паттерн (маунтинг, интромиссия, эякуляция), а также подсчитывали количество фрикционных движений, произведенных самцом во время интромиссий и эякуляций. Статистическая обработка полученных результатов проведена в программе GraphPad Prism 5 и Origin Pro v8.5.1. Для каждой выборки определяли нормальность распределения по критерию Шапиро-Уилка. Так как выборки не прошли проверку на нормальность распределения, для сравнения данных внутри стоков использовали Т-критерий Вилкоксона с поправкой Бонферрони-Холма. Для сравнения данных между стоками использовали U-критерий Манна-Уитни. Достоверность результатов определялась при $p < 0,05$.

Исследование социального взаимодействия в тесте Кроули. Для исследования роли глицинэргической передачи в МПО в регуляции социального взаимодействия самцов крыс, нами был выполнен ряд экспериментов по изучению социального взаимодействия в тесте Кроули, в ходе которых были проанализированы данные, полученные на 20 половозрелых самцах крыс стока Sprague Dawley и 20 половозрелых самцах стока Wistar. Установка для исследования «социального узнавания» или «социального взаимодействия» представляла собой прямоугольный бокс с высокими стенками, разделенный на три отсека прозрачными перегородками 60x30 см (А, В, MID). В средней зоне (MID), куда помещалось экспериментальное животное, имелись проходы между отсеками 12 см в высоту и 10 см в ширину. Проходы закрывались специальными дверцами, спускающимися по рейловым направляющим в вертикальной плоскости. В зонах А и В находились полупроницаемые перфорированные контейнеры

(20x15x30 см), в которые производилась подсадка резидента (самца своего помёта) и интродера (самца чужого помёта) соответственно. Над установкой была закреплена камера для регистрации количественных показателей поведения: перемещений и скорости животного в режиме реального времени.

Тестирование включало три этапа, длящихся 5 минут каждый: (1) ознакомление животного с установкой: экспериментальный самец помещался в центральный отсек и свободно исследовал установку, в зонах А и В было пусто. (2) исследование «общительности» животного: экспериментальный самец помещался в центральный отсек, а в зону А подсаживался резидент - самец одного помёта с экспериментальным самцом; (3) социальное узнавание: экспериментальный самец помещался в центральный отсек, в зоне А оставался резидент, а в зону В подсаживался интродер - самец чужого помёта. Регистрация количественных параметров поведения в каждом эксперименте осуществлялось с использованием комплекса SMART Video Tracking System V3.0.

Дизайн исследования включал ряд последовательных экспериментов аналогично дизайну по исследованию полового поведения: интактные животные проходили однократное тестирование в установке Кроули, затем подвергались операции по билатеральному вживлению канюль в МПО. После семи дней рекреационного периода самцы проходили тест в установке Кроули после билатеральных микроинъекций агонистов/антагонистов глициновых рецепторов.

Исследование тревожности в тесте «открытое поле». Для исследования роли глицинэргической передачи в МПО в регуляции тревожности самцов крыс, нами был выполнен ряд экспериментов по изучению рефлекторной деятельности в тесте «открытое поле», в ходе которых были проанализированы количественные данные, полученные на 20 половозрелых самцах крыс стока Sprague Dawley и 20 самцах стока Wistar.

Установка «открытое поле» представляла собой бокс с высокими бортами (100x100x50 см). Пол установки был расчерчен на равные сектора (25 штук), предназначенных для визуальной регистрации моторной активности и эмоционального статуса экспериментальных животных. Поведение животных в 16-ти внешних квадратах и 9-ти внутренних регистрировалось отдельно. Самец помещался в центральный квадрат на 5 минут. Регистрация событий производилась с использованием комплекса SMART Video Tracking System V3.0. В процессе записи в автоматическом режиме фиксировались траектория и средняя скорость пробежки, а в пользовательском режиме - количество и длительность груминга, а также вертикальных стоек.

Дизайн исследования включал ряд последовательных экспериментов аналогично дизайну по исследованию полового поведения и теста Кроули: интактные животные проходили однократное тестирование в установке «открытое поле», затем подвергались операции по билатеральному вживлению канюль в МПО. После семи дней рекреационного периода самцы проходили тест в установке «открытое поле» после билатеральных микроинъекций агонистов/антагонистов глициновых рецепторов.

Статистическая обработка полученных результатов в тесте «открытое поле» производилась в программе GraphPadPrism 5. Для каждой выборки определяли нормальность распределения по критерию Шапиро-Уилка. Так как выборки не прошли проверку на нормальность распределения, для сравнения данных внутри стоков использовали Т-критерий Вилкоксона с поправкой Бонферрони-Холма. Для сравнения данных между стоками использовали U-критерий Манна-Уитни. Достоверность различий определялась при $p < 0.05$.

Результаты и обсуждение

1. Анализ концентрационной зависимости действия стрихнина как антагониста глициновых и (или) ГАМК-рецепторов на изолированных нейронах МПО

В данной серии экспериментов нами была применена методика patch-clamp, которая позволила провести анализ особенностей действия различных концентраций стрихнина как антагониста глициновых и ГАМК-рецепторов в МПО, на эффективность ГАМК-эргической передачи на изолированных нейронах МПО мозга самцов крыс. Показано, что только при аппликации раствора, содержащего 1 мМ ГАМК и 20 μ М стрихнина, блокады рецепторов к ГАМК не происходило (рис. 1).

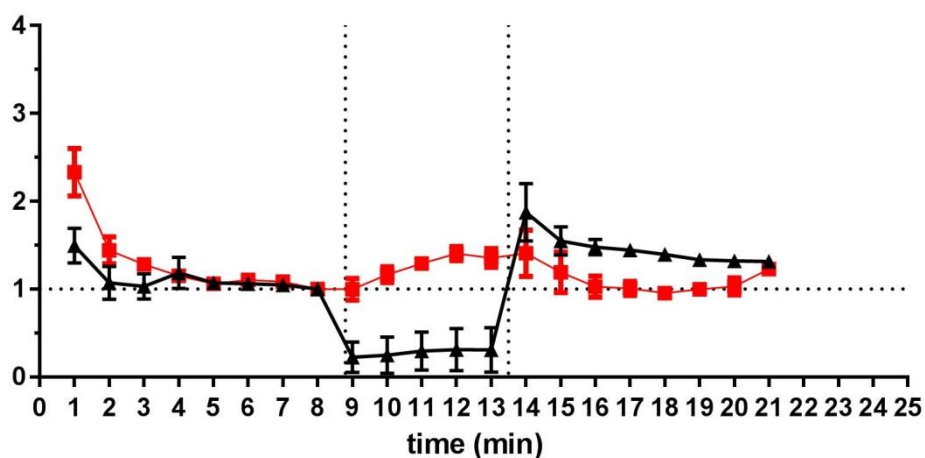


Рисунок 1. Средние значения амплитуды пика токового ответа на аппликацию раствора ГАМК концентрацией 1 мМ (значения 1-8 и 14-21) и раствора, содержащего 1 мМ ГАМК и стрихнин концентрацией 50 μ М (чёрная кривая) и 20 μ М (красная кривая) соответственно (значения 14-21). Все показатели

нормированы к восьмой аппликации ГАМК (амплитуда принята за 1), средние значения приведены со стандартной ошибкой среднего

Как видно из рисунка 1, амплитуда пика токового ответа при аппликации 1 мМ раствора ГАМК не отличалась от таковой при аппликации раствора, содержащего 1 мМ ГАМК и 20 μ М стрихнина ($1,07 \pm 0,02$ и $1,23 \pm 0,07$ соответственно). Таким образом, стрихнин в концентрации 20 μ М является избирательным для блокады только глициновых рецепторов и может быть использован в качестве ингибитора глицинзависимого торможения в нейронных сетях МПО при изучении полового поведения.

2. Сравнительные характеристики поведения интактных самцов крыс разных сток Wistar и Sprague Dawley при исследовании полового поведения, социального взаимодействия и тревожности

Анализ параметров полового поведения интактных крыс-самцов Sprague Dawley и Wistar. В отличие от самцов стока Sprague Dawley самцы крыс стока Wistar почти не совершали маунтингов в *аппетитивную фазу*, демонстрируя сниженное половое влечение. Менее эффективное половое поведение у самцов стока Wistar было выявлено и в *консуматорную фазу* полового поведения: длительность латентного периода эякуляции была в два раза выше у интактных самцов стока Wistar по сравнению со стоком Sprague Dawley ($p=0,01$; рис.2А).

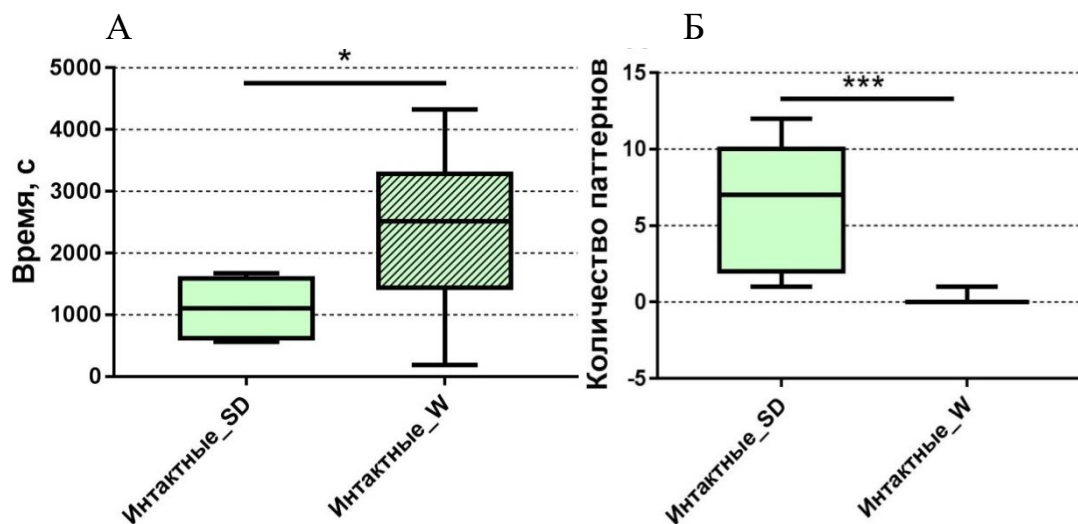


Рисунок 2. Длительность латентного периода эякуляции (А) и количество паттернов маунтинга (Б) у интактных самцов для стока Wistar (W) и стока Sprague Dawley (SD). На рисунке приведены абсолютные значения, звездочками показаны статистически значимые различия медианных значений (** $p < 0,001$, * $p < 0,05$)

Самцы крыс стока Wistar совершали статистически значимо меньшее количество маунтингов по сравнению с самцами крыс стока Sprague Dawley ($p < 0,0001$; рис. 2Б), частота интромиссий в сессию при этом у самцов крыс

стока Wistar была статистически значимо больше по сравнению с частотой интромиссий в сессию у самцов крыс стока SpragueDawley ($p < 0,0001$).

Таким образом, при изучении полового поведения интактных животных было выявлено различие между крысами различных стоков. Крысы стока Wistar демонстрировали меньшую эффективность полового поведения по сравнению с крысами стока Sprague Dawley.

Анализ параметров социального поведения интактных крыс-самцов Sprague Dawley и Wistar в тесте Кроули. Тестирование животных по параметрам социального взаимодействия в тесте Кроули не выявило различий между интактными самцами двух стоков на всех трех этапах тестирования.

Анализ параметров тревожности интактных крыс-самцов Sprague Dawley и Wistar. При изучении параметров тревожности интактных крыс-самцов Sprague Dawley и Wistar были найдены статистически значимые различия.

Длительность вертикальной двигательной активности во внешних квадратах установки «открытое поле» у самцов стока Wistar было статистически значимо меньше, чем у самцов стока Sprague Dawley ($p < 0,0001$), а количество паттернов «незавершённого» груминга, свидетельствующих о более тревожном состоянии животного, во внешних квадратах установки «открытое поле» у самцов стока Wistar было статистически значимо больше, чем у самцов стока Sprague Dawley ($p = 0,03$; рис. 3).

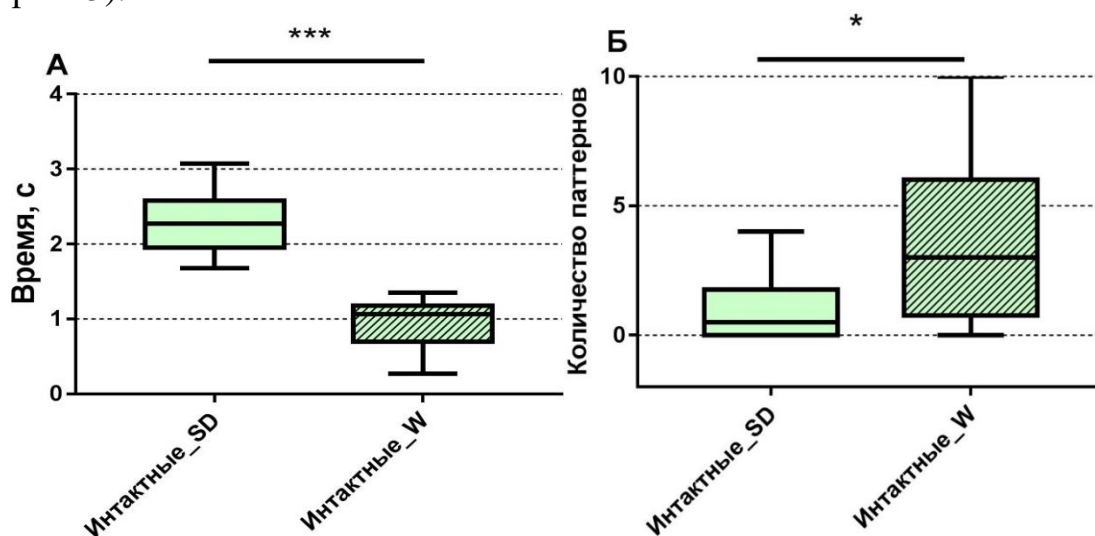


Рисунок 3. Длительность вертикальной двигательной активности во внешних квадратах установки «открытое поле» (А) и количество паттернов груминга (Б) интактных самцов стоков Sprague Dawley (SD) и Wistar (W). На графике приведены абсолютные значения, звездочками показаны статистически значимые различия (* $p < 0,05$; *** $p < 0,001$)

Таким образом, анализ полученных нами результатов тестирования поведения интактных животных выявил статистически значимые различия в половом поведении, а также степени тревожности интактных самцов Sprague Dawley и Wistar.

Наиболее заметным различием в консуматорном поведении самцов двух стоков оказалось почти полное отсутствие паттерна «маунтинг» у самцов стока Wistar. Кроме того, самцам стока Wistar требовалось больше времени и интромиссий для достижения эякуляции. Данное различие может свидетельствовать о меньшей эффективности копуляции самцов стока Wistar.

Анализ степени тревожности самцов стоков Sprague Dawley и Wistar в тесте «открытое поле» выявил более высокую степень тревожности у самцов стока Wistar. Количество «незавершённого» груминга, свидетельствующего о более высоком уровне тревожности (Kalueff et al., 2016; Umryukhin, Grigorchuk, 2017), у этих животных было выше, чем у самцов стока Sprague Dawley. Также длительность вертикальной двигательной активности во внешних квадратах установки «открытое поле» у интактных самцов стока Wistar была ниже, чем у самцов Sprague Dawley. Вертикальную двигательную активность в тесте «Открытое поле» связывают с ориентировочно-исследовательским поведением (Umryukhin, Grigorchuk, 2017), уровень которого обратно пропорционален степени тревожности животного.

Следует отметить, что, несмотря на существующее предположение в современной научной литературе о том, что различия в некоторых типах социального поведения между стоками крыс Sprague Dawley и Wistar могут быть обусловлены разницей в социальном узнавании (Manduca et al., 2014), разницы в социальном взаимодействии в тесте Кроули между самцами обоих стоков найдено не было.

Изучение роли глицинэргической передачи в поведении крыс-самцов различных стоков

Анализ параметров полового поведения крыс-самцов. Для самцов стока Sprague Dawley билатеральные микроинъекции глицина и стрихнина не влияли на параметры, характеризующие *аппетивное* половое поведение. В то же время микроинъекции глицина влияли на параметры, характеризующие *консуматорное* половое поведение: снижали длительность латентного периода эякуляции и длительность периода покоя между сессиями, что свидетельствовало об активации полового поведения и повышении его эффективности (рис. 4). Микроинъекции стрихнина в МПО, блокирующие глициновые рецепторы в нейронах, не приводили к статистически значимому изменению параметров полового поведения крыс. Следовательно, глицинэргическая система торможения вносит небольшой вклад в общую

систему торможения в МПО крыс стока Sprague Dawley, а повышение половой активности при введении глицина, видимо, связано с участием глицина в модуляции NMDA-рецепторов возбуждающей системы нейронных сетей МПО.

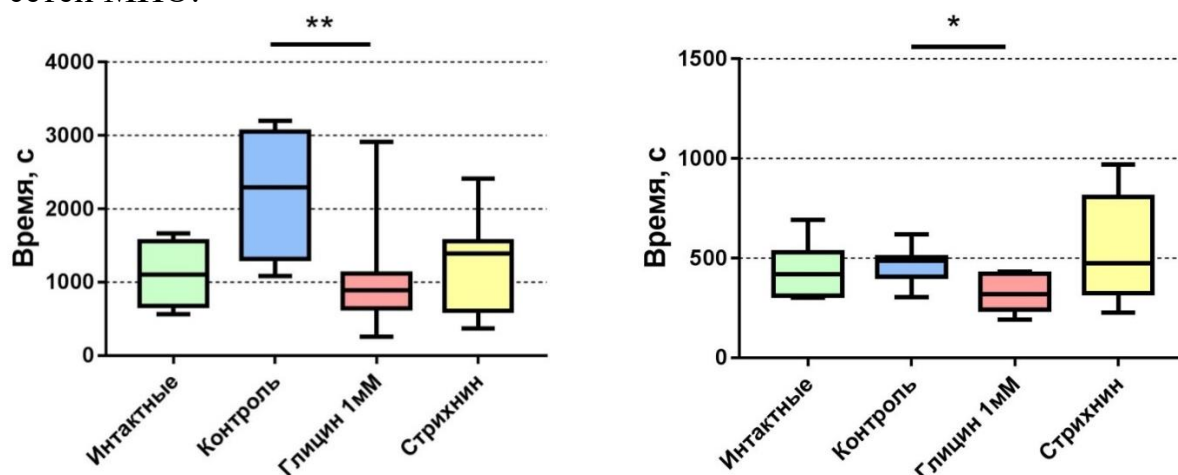


Рисунок 4. Параметры, характеризующие консуматорное половое поведение самцов Sprague Dawley. Длительность латентного периода эякуляции (А) и длительность периода покоя между сессиями (Б) у самцов крыс в течение трех последовательных экспериментов по микроинъекции раствора Рингера, глицина и стрихнина в МПО. По вертикали – длительность в секундах, на графике приведены абсолютные значения, звездочками показаны статистически значимые различия медианных значений (** $p < 0,01$; * $p < 0,05$)

В отличие от активирующего влияния глицина на половое поведение крыс стока Sprague Dawley, у самцов крыс стока Wistar микроинъекции раствора глицина в концентрации 1 мМ у 4 самцов из 8 вызывали полное или частичное (невозможность эякуляции) отсутствие полового поведения. Самцы начинали копуляторный акт с паттерна «маунтинг» по одному разу после микроинъекции глицина 1 мМ. После же микроинъекций стрихнина маунтинги совершили пять самцов, при этом число маунтингов доходило до пяти за один копуляторный акт.

Длительности латентного периода эякуляции у самцов стока Wistar после билатеральной микроинъекции раствора глицина была статистически значимо выше, чем у самцов стока Sprague Dawley ($p = 0,009$, рис. 5А). В то же время статистически значимых различий между нормированными значениями длительности латентного периода эякуляции у самцов стоков Sprague Dawley и Wistar после билатеральной микроинъекции раствора стрихнина обнаружено не было ($p = 0,35$, рис. 5А). Провести анализ статистически значимых различий между нормированными значениями длительности периода покоя между сессиями у самцов стоков Sprague Dawley и Wistar после билатеральной микроинъекции раствора глицина не представлялось возможным, так как после билатеральных микроинъекций

глицина только 3 самца Wistar из 8 смогли совершить больше 2 сессий за время регистрации полового поведения (рис. 5Б).

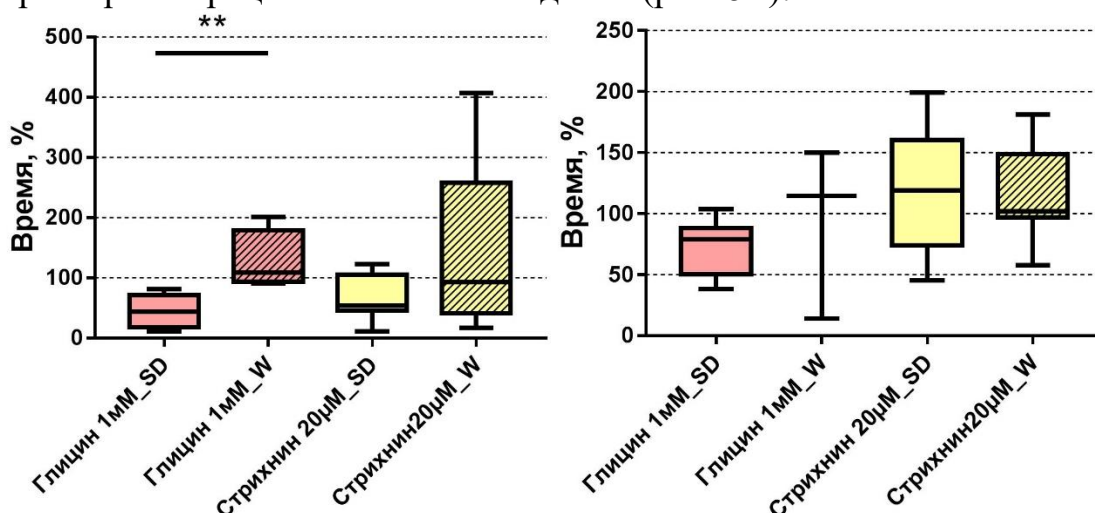


Рисунок 5. Длительность латентного периода эякуляции самцов стоков Sprague Dawley (SD) и Wistar (W) (А) и длительность периода покоя между сессиями (Б) после билатерального введения раствора глицина 1 мМ (красные боксы) и стрихнина 20 μМ (жёлтые боксы). На рисунке приведены значения, нормированные к введению контрольного раствора, звездочками показаны статистически значимые различия (** $p < 0,01$)

Таким образом, микроинъекции глицина в МПО гипоталамуса приводили к полной или частичной неспособности копулировать у самцов стока Wistar - повышалось число интромиссий, снижалась частота паттернов в сессию, что свидетельствовало о снижении половой активности после усиления глицинэргического торможения в МПО гипоталамуса. Применение стрихнина ослабляло данный тормозной эффект и поведение крыс стока Wistar не отличалось от поведения крыс стока Sprague Dawley. Половое поведение крыс стока Sprague Dawley при введении глицина и стрихнина не изменялось.

Анализ параметров социального взаимодействия крыс-самцов в тесте Кроули. Статистически значимых различий между нормированными значениями процента времени, проведённого в отсеках теста Кроули, у самцов стоков Sprague Dawley и Wistar после билатеральной микроинъекции растворов глицина и стрихнина обнаружено не было.

Анализ параметров тревожности крыс-самцов в тесте «открытое поле». Самцы крыс стока Sprague Dawley не показали статистически значимых различий в параметрах, характеризующих тревожность в тесте «открытое поле» после активации и блокады глициновых рецепторов. В то же время активация глицинэргической передачи МПО самцов стока Wistar увеличивала количество «незавершённых» грумингов, что свидетельствовало об усилении тревожного состояния животного. Было выявлено статистически

значимое различие в количестве груминга в тесте «открытое поле» самцов крыс стока Wistar по сравнению с контрольными ($p=0,04$) после билатеральных микроинъекций раствора глицина, тогда как статистически значимых различий в количестве груминга после билатеральных микроинъекций раствора стрихнина ($p=0,88$) выявлено не было (рис. 6).

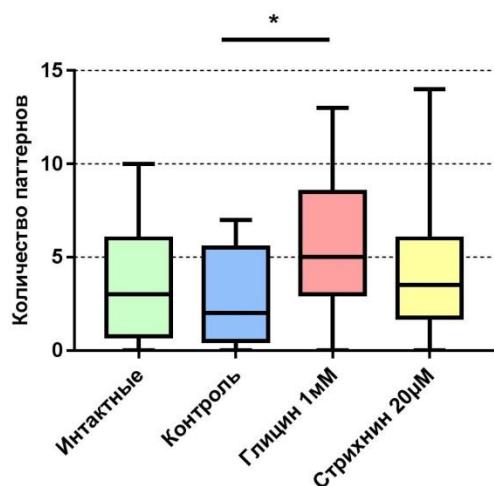


Рисунок 6. Количество груминга во внешних квадратах установки «открытое поле» intactных самцов стоков Wistar, а также после билатеральных микроинъекций контрольного раствора, глицина и стрихнина. На графике приведены абсолютные значения, звездочкой показаны статистически значимые различия (* $p<0,05$)

Кроме того, после билатеральной микроинъекции глицина сохранялась статистически значимая разница между количеством паттернов груминга у самцов стока Wistar и Sprague Dawley ($p=0,02$), а снижение тревожности у самцов стока Wistar после билатеральных микроинъекций раствора стрихнина приводила к исчезновению данных межгрупповых различий (рис. 7).

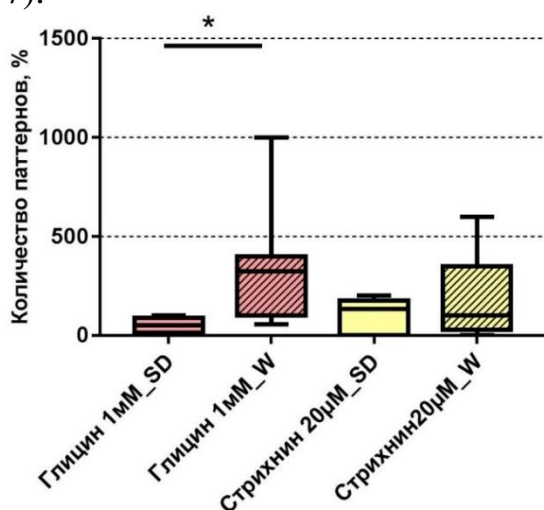


Рисунок 7. Количество паттернов груминга во внешних квадратах установки «открытое поле» для самцов стоков Sprague Dawley (SD) и Wistar (W) после билатерального введения раствора глицина 1 мМ (красные боксы) и стрихнина 20 µМ (жёлтые боксы). На рисунке приведены значения, нормированные к введению контрольного раствора, звездочкой показаны статистически значимые различия (* $p<0,05$)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ данных, полученных на изолированных нейронах МПО методом patch-clamp выявил, что стрихнин в концентрации 20 µМ блокирует только глициновые рецепторы, и может быть использован в качестве ингибитора глицинзависимого торможения в нейронных сетях МПО при изучении поведения.

В исследовании поведения интактных животных было показано, что крысы самцы стока Wistar демонстрируют менее эффективное половое поведение, чем самцы стока Sprague Dawley. Выявленные различия в половом поведении интактных самцов стоков Sprague Dawley и Wistar обусловлены особенностями структуры тормозных процессов в нейронных сетях МПО гипоталамуса крыс разных стоков. Активация глицинэргического торможения в МПО у крыс стока Wistar вызывала снижение полового поведения как на appetивной, так и на консуматорной стадии полового поведения, а блокада глицинэргического торможения в нейронных сетях МПО, наоборот, активировала паттерны полового поведения.

В отличие от крыс стока Wistar у самцов Sprague Dawley роль глицинэргической системы торможения в нейронных сетях МПО значительно снижена. Микроинъекции глицина в МПО у самцов Sprague Dawley, повышали эффективность копуляции, о чем свидетельствовало снижение длительности латентного периода эякуляции во время консуматорной фазы полового поведения (Heijkoop, Huijgens, Snoeren, 2018). Следовательно, можно предположить, что у самцов стоков Wistar и Sprague Dawley имеется разное соотношение глициновых и ГАМК-рецепторов, что может являться причиной данных различий. В пользу этой гипотезы говорит то, что в наших исследованиях микроинъекции стрихнина в МПО не приводили к изменениям в поведении самцов стока Sprague Dawley.

Анализ полученных в тесте Кроули результатов не выявил различий в социальном взаимодействии как у интактных самцов крыс стоков Sprague Dawley и Wistar, так и после билатеральных микроинъекций раствора глицина 1 мМ и стрихнина 20 мМ, следовательно, глицинэргическая нейротрансмиссия МПО не участвует в регуляции социального взаимодействия самцов обоих стоков.

Интересным является анализ результатов теста «открытое поле» по уровню тревожности, который показал, что глицинэргическая нейротрансмиссия МПО участвует в регуляции тревожности самцов стока Wistar. Микроинъекции глицина в МПО увеличивали количество паттернов «незавершённого» груминга у самцов стока Wistar, что свидетельствовало об увеличении уровня тревожности. Микроинъекции стрихнина приводили к снижению выраженности данной реакции в тесте «открытое поле». В то же время, глицинэргическая передача МПО гипоталамуса не оказывала значимого влияния на тревожность самцов крыс стока Sprague Dawley.

Таким образом, проведенные исследования поведения крыс самцов разных стоков выявили различный вклад тормозной глицинэргической нейротрансмиссии МПО в регуляцию полового поведения и тревожности у самцов крыс стока Wistar и Sprague Dawley. Помимо фундаментального

значения выявления физиологической роли глицинэргической нейротрансмиссии МПО в регуляцию поведения самцов крыс, важным является прикладной аспект, который следует учитывать при проведении доклинических исследований новых лекарственных препаратов при выборе модельного стока крыс для исследования полового поведения и тревожности в эксперименте.

ВЫВОДЫ

1. Стрихнин в концентрации 20 μM является блокатором глициновых рецепторов нейронов медиальной преоптической области гипоталамуса и может использоваться в качестве ингибитора глицинзависимого торможения в нейронных сетях МПО;

2. Интактные крысы самцы стока Wistar демонстрировали менее эффективное половое поведение по параметрам appetitive и consummatory стадий полового поведения, более высокий уровень тревожности в тесте «открытое поле», чем самцы стока Sprague Dawley. Различий в социальном взаимодействии, двигательной активности в тесте «открытое поле» между интактными крысами двух стоков не выявлено;

3. Активация глицинэргической тормозной нейротрансмиссии МПО гипоталамуса у самцов стока Wistar тормозила половое поведение, приводя к полному или частичному отсутствию копуляции, в то время как блокада глицинэргической тормозной нейротрансмиссии приводила к появлению паттернов «маунтинг», что свидетельствовало об обогащении поведенческого репертуара и активации полового поведения.

4. Глицин у крыс стока Sprague Dawley повышал эффективность копуляции, о чем свидетельствовало снижение длительности латентного периода эякуляции во время consummatory фазы полового поведения. Активация/блокада глицинэргических тормозных путей не влияла на параметры полового поведения;

5. Активация глицинэргической тормозной нейротрансмиссии медиальной преоптической области гипоталамуса у самцов стока Wistar приводила к увеличению количества «незавершённых» грумингов, что свидетельствовало об усилении тревожности. У крыс стока Sprague Dawley активация/блокада глицинэргических тормозных процессов не влияла на степень тревожности;

6. Активация/блокада глицинэргической тормозной нейротрансмиссии медиальной преоптической области гипоталамуса как у самцов стока Wistar, так и Sprague Dawley не оказывала влияние на социальное взаимодействие животных в трехкамерном тесте Кроули.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в журналах, включенных в перечень ВАК:

Статьи в журналах, индексируемые в Scopus и WoS:

1. **Zhuravleva, Z.D.** The Effect of Glycine Microinjections in the Medial Preoptic Area of the Hypothalamus on the Sexual Behavior of Male Rats / **Z.D. Zhuravleva**, A.V. Lebedeva, A.B. Volnova, I.V. Mukhina, M. Ya. Druzin // *Neurochemical Journal*. – 2015. – Vol. 9, № 2. – P. 141–145. SJRQ4
2. **Zhuravleva, Z.D.** Effects of Glycine Receptors of the Medial Preoptic Nucleus on Sexual Behavior of Male Wistar Rats / **Z.D. Zhuravleva**, M.A. Mogutina, I.V. Mukhina, M. Ya. Druzin // *Bull Exp Biol Med*. – 2020. – Vol. 169. – P. 299–301. SJRQ3
3. **Zhuravleva, Z.D.** Glycine receptors of the medial preoptic area of the hypothalamus as a potential therapeutic target for the correction of sexual behavior (experimental study on model rats) / **Z.D. Zhuravleva**, N.A. Titova, I.V. Mukhina, M. Druzin // *Modern Technologies in Medicine*. - 2021. – Vol. 6. – P. 36–41. SJRQ4
4. **Zhuravleva, Z.D.**, Johansson, A., Jern, P. Erectile Dysfunction in Young Men: Testosterone, Androgenic Polymorphisms, and Comorbidity with Premature Ejaculation Symptoms / **Z.D. Zhuravleva**, A. Johansson, P. Jern // *J Sex Med*. – 2021. – Vol. 18, № 2. - P. 265-274. SJRQ1

Тезисы:

1. **Журавлева, З.Д.** Влияние микроинъекций глицина в медиальную преоптическую область на параметры полового поведения самцов крыс / **З.Д. Журавлева**, А.Б. Вольнова, И.В. Мухина, М.Я. Друзин // Сборник тезисов конференции «19-я Нижегородская сессия молодых ученых (естественные, математические науки)». Нижний Новгород, 27-30 мая 2014. - С. 112.
2. **Zhuravleva, Z.D.** Hypothalamic glycine receptor involvement in regulation of the male rat sexual behavior / **Z.D. Zhuravleva**, A.B. Volnova, A.V. Lebedeva, I.V. Mukhina, M.Y. Druzin // Сборник тезисов конференции "Frontiers in Modern Neuroscience". Nizhny Novgorod, 15-18 June 2014. - P. 11-12.
3. **Zhuravleva, Z.**, Volnova A., Mukhina I., Druzin M., Lebedeva A.V. The role of hypothalamic glycine receptors in regulation of the male rat sexual behavior / **Z. Zhuravleva**, A. Volnova, I. Mukhina, M. Druzin, A. Lebedeva // Журнал *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, сборник тезисов конференции «3rd International Seminar on Behavioral Methods». Shirk, Poland, 18-20 September, 2015. - P. 94.
4. Денисов, П.А. Роль глицинергической передачи в регуляции полового поведения самцов крыс / П.А. Денисов, **З.Д. Журавлева**, А.В. Лебедева, М.Д. Уразов, В.С. Товпыга, И.В. Мухина // Сборник тезисов конференции «20-я Нижегородская сессия молодых ученых (естественные, математические науки)», Нижний Новгород, 19-22 мая 2015. - С. 126-127.

5. Товпыга, В.С. Влияние глицинергической передачи на регуляцию социального распознавания у самцов крыс / В.С. Товпыга, **З.Д. Журавлева**, А.В. Лебедева, М.Д. Уразов, П.А. Денисов, И.В. Мухина // Сборник тезисов конференции «20-я Нижегородская сессия молодых ученых (естественные, математические науки)», Нижний Новгород, 19-22 мая 2015. - С. 148-149.
6. Уразов, М.Д. Влияние микроинъекций стрихнина на половое поведение самцов крыс / М.Д. Уразов, **З.Д. Журавлева**, А.В. Лебедева, П.А. Денисов, В.С. Товпыга, И.В. Мухина // Сборник тезисов конференции «20-я Нижегородская сессия молодых ученых (естественные, математические науки)», Нижний Новгород, 19-22 мая 2015. - С. 150-151.
7. **Zhuravleva Z.D.**, Denisov P.A., Urazov M.D., Tovpyga V.S., Lebedeva A.V., Volnova A.B., Mironov A.A., Mukhina I.V., Druzin M.Ya.. The Role Of The Medial Preoptic Area Glycinergic System In The Social Types Of Behavior Regulation / **Z.D. Zhuravleva**, P.A. Denisov, M.D. Urazov, V.S. Tovpyga, A.V. Lebedeva, A.B. Volnova, A.A. Mironov, I.V. Mukhina, M.Ya. Druzin // Журнал OPERA MEDICA ET PHYSIOLOGICA, Сборник тезисов конференции «Frontiers in Biomedicine». Nizhny Novgorod, 11-15 November 2015. - P. 21-22.
8. Lebedeva, A. Mechanism of hypothalamus glycine receptor involvement in regulation of sexual behavior / A. Lebedeva, **Z. Zhuravleva**, P. Denisov, M. Urazov, V. Tovpyga, A. Volnova, A. Mironov, I. Mukhina, A. Semyanov, M. Druzin // Журнал «Acta Physiologica», сборник тезисов конференции FEPS. Paris, France, 29 June-1 July 2016 - P. 95.
9. Titova, N.A. Role of hypothalamic glycine receptors in regulation of male sexual behavior in rats / N.A. Titova, **Z.D. Zhuravleva**, I.V. Mukhina, M.Ya. Druzin // Журнал OPERA MEDICA ET PHYSIOLOGICA, сборник тезисов конференции "Volga Neuroscience Meeting". Nizhny Novgorod, 24-30 July 2016. - P. 101.
10. **Zhuravleva, Z.** Preoptic glycine receptors: possible mediators of neuron-glial interaction affecting social behavior in male rats / **Z. Zhuravleva**, N. Titova, I. Mukhina, M. Druzin // Журнал GLIA, сборник тезисов конференции XIII European Meeting on Glial Cells in Health and Disease. Edinburgh, United Kingdom, 8-11 July 2017. - P. 196.
11. **Журавлева, З.Д.** Сравнение особенностей поведения самцов крыс линий Wistar и Sprague Dawley в тесте «Социальная активность» и «Открытое поле» // **З.Д. Журавлева**, И.В. Мухина, М.Я. Друзин // Сборник тезисов конференции XXXI Международной научно-практической конференции "Eurasiascience" (онлайн), 15 августа 2020. - С. 45-47.
12. **Журавлева, З.Д.** Влияние выбора стока на результаты исследования регуляции полового поведения самцов крыс // **З.Д. Журавлева**, И.В. Мухина, М.Я. Друзин // Сборник тезисов конференции "Восьмая научно-практическая конференция специалистов по работе с лабораторными животными". Пущино, 1-3 октября 2020. - С. 22-23.