

На правах рукописи

Маланьина Татьяна Владимировна

**РОЛЬ ХИМИЧЕСКИХ СИГНАЛОВ ДОМАШНЕЙ КОШКИ
FELISCATUS В РЕГУЛЯЦИИ РЕПРОДУКЦИИ ГРЫЗУНОВ**

03.02.04- зоология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва 2013

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук

Научный руководитель: **Вознесенская** Вера Васильевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории инновационных технологий Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук.

**Официальные
оппоненты:**

Чернова Ольга Федоровна, доктор биологических наук, заведующая лабораторией морфологических адаптаций млекопитающих Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук.

Родионова Елена Ивановна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории обработки сенсорной информации Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института проблем передачи информации им. А.А.Харкевича Российской академии наук.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Московский педагогический государственный университет

Защита диссертации состоится 26 ноября 2013 года в 14 часов на заседании диссертационного совета Д 002.213.01 при Федеральном бюджетном учреждении науки Институте экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН по адресу 119071, г. Москва, Ленинский просп., д.33. Тел./факс 8(495)9527324, email: admin@sevin.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Отделения биологических наук Российской академии наук по адресу 119071, г. Москва, Ленинский просп., д.33.

Автореферат разослан 25 октября 2013 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета
к.б.н. Кацман Елена Александровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности

Химические сигналы млекопитающих как компоненты выделений животных в окружающую среду являются обязательными элементами экосистем. Обогащение или обеднение окружающей среды подобными веществами может существенно влиять на темпы развития популяций, соотношение полов, выживаемость потомства, соотношение видов животных (Соколов, 1986). Межвидовая химическая коммуникация оказалась наименее исследованной областью, в частности, такой важный аспект как обмен химической информацией в системе «хищник – жертва». На сегодняшний день межвидовая химическая коммуникация является самым перспективным направлением исследований в области химической коммуникации (Wyatt, 2012). Усилия ведущих лабораторий мира сосредоточены на расшифровке сигналов, несущих информацию об опасности («alarm pheromones») и, в частности, сигналов хищника. Такого рода исследования имеют как фундаментальное значение для понимания принципов химической коммуникации, так и прикладное значение, поскольку современное понимание проблемы регуляции численности различных видов млекопитающих предполагает, прежде всего, использование эффективных и экологически безопасных методов.

Описание функциональной роли нового семейства обонятельных рецепторов (TAARs), специализированного на восприятии сигналов тревоги, в том числе, и запаха хищника, открыло возможности расшифровки кода сигнала (Liberles, Buck, 2006). Самыми последними исследованиями показано, что семейство рецепторов TAARs в совокупности с прямыми проекционными зонами представляет собой уникальную сенсорную подсистему млекопитающих («третья обонятельная система»), специализированную на восприятии межвидовых сигналов, вызывающих стереотипные инстинктивные реакции (Johnson *et al.*, 2012). Наряду с вомероназальной или дополнительной обонятельной системой эта специализированная подсистема участвует в регуляции врождённых форм поведения. У домового мыши уже расшифрован один из 14 лигандов TAARs4 – 2-фенилэтиламин, обнаруженный в моче 38 видов хищных и являющийся продуктом переваривания мясной пищи (Ferreto *et al.*, 2011).

Открытие «универсального сигнала хищника» хорошо объясняет, почему грызуны отвечают реакцией избегания на сигналы аллопатрических хищников, с которыми они никогда не встречались, а также никак не связаны эволюционно, но оставляет открытым вопрос о том, почему грызуны

проявляют полный комплекс вторичных оборонительных реакций только по отношению к симпатрическим специализированным хищникам. Этот факт указывает на способность идентификации видовой принадлежности хищника потенциальной жертвой исключительно только на основе химических сигналов (см. обзор Apfelbach *et al.*, 2005). В 2013 году было опубликовано несколько работ, подтверждающих это положение (Osada *et al.*, 2013; Starke and Ferkin, 2013; Voznessenskaya, 2013). Многокомпонентность сигнала хищника стала очевидной. Помимо универсальных составляющих, провоцирующих стереотипные реакции, следует отметить соединения, которые несут информацию о видовой принадлежности хищника, его поле, физиологическом и метаболическом статусе.

Классическим примером высокоспециализированного хищника по отношению к домовому мышам *Mus musculus* является домашняя кошка *Felis catus*. Длительный период совместного существования привел к формированию взаимных адаптаций, которые закрепились на генетическом уровне. Одной из адаптаций является способность к распознаванию внутривидовых химических сигналов домашней кошки, что открывает возможности «использования» системы химической коммуникации домашней кошки потенциальными жертвами – домовыми мышами.

Для уникальной серосодержащей аминокислоты L-фелинина и его производных (например, 3-меркапто-3-метилбутан-1-ола, ММБ), обнаруженных в моче домашней кошки, показана феромональная роль в регуляции внутривидового поведения, а именно: территориального поведения (Miyazaki *et al.*, 2006; Miyazaki, 2008). L-фелинин и его производные, помимо информации о видовой принадлежности, несут информацию о поле хищника, его социальном статусе, т.к. продукция L-фелинина значительно выше у самцов, чем у самок; у доминантных самцов продукция достоверно выше, чем у субординантов (Miyazaki *et al.*, 2008). Все перечисленные свойства L-фелинина, а также уникальность этой аминокислоты, наличие серы в ее структуре делают L-фелинин и производные наиболее вероятными кандидатами на роль кайромонов.

Исследованию возможной роли внутривидового хемосигнала домашней кошки - L-фелинина и его производных - в регуляции репродукции синантропных грызунов *Mus musculus* и *Rattus norvegicus*, сходных по экологии, но различающихся по комплексу вторичных оборонительных реакций на химические сигналы кошки, и посвящена данная работа.

Цель работы

Исследовать роль химических сигналов домашней кошки *Felis catus* в регуляции репродукции синантропных грызунов: серой крысы *Rattus norvegicus* и домового мыши *Mus musculus*.

Задачи

- Исследовать биологическую активность уникальной аминокислоты L-фелинина в сравнительном аспекте с интактной мочой домашней кошки в отношении подавления размножения у домового мыши и серой крысы.
- Исследовать сезонную чувствительность к L-фелинину у домового мыши и серой крысы.
- Исследовать нейроэндокринные ответы на экспозицию запаха хищника у домового мыши и серой крысы.
- Исследовать роль основной и дополнительной обонятельной системы в восприятии и анализе L-фелинина у домового мыши.

Научная новизна

В рамках данной работы впервые было показано, что уникальная аминокислота кошачьих L-фелинин и ее производные, содержащиеся в моче домашней кошки, оказывают угнетающее влияние на репродукцию домового мыши и серой крысы. Впервые было показано, что экспозиция L-фелинина домовым мышам в концентрации, сопоставимой с естественной в моче кошки (0,05%), вызывает достоверное увеличение частоты блока беременности вне зависимости от сезона; сдвиг в соотношении полов в выводке в сторону самцов; достоверное снижение количества живых детенышей в расчете на одну фертильную самку. Впервые было показано, что экспозиция L-фелинина серым крысам на протяжении первой недели беременности в концентрации, сопоставимой с естественной в моче кошки (0,05%), вызывает смещение в соотношении полов в выводке в сторону самцов, а также достоверное снижение веса детенышей к моменту перехода на твердую пищу. Впервые показано, что долговременная экспозиция L-фелинина самцам серой крысы вызывает достоверное снижение уровня тестостерона в плазме крови. Впервые показано, что краткосрочная экспозиция L-фелинина вызывала достоверное повышение уровня основного гормона стресса кортикостерона в плазме крови домовых мышей. Впервые показано, что долговременная экспозиция L-фелинина домовым мышам вызывает достоверное повышение уровня специфических метаболитов глюкокортикоидов ($5\alpha\text{-}3\beta,11\beta\text{-diol}$) в фекалиях. Впервые показано, что в детекции L-фелинина и его производных (3-меркапто-3-метилбутан-1-ола, ММБ) участвует как основная дополнительная система, так и дополнительная (вомероназальная).

Теоретическая и практическая значимость

Полученные данные имеют теоретическое значение для понимания фундаментальных основ химической коммуникации млекопитающих. В работе показано, что внутривидовые химические сигналы домашней кошки (L-фелинин и производные), регулирующие маркировочное поведение *Felis catus*, одновременно являются межвидовыми сигналами, несущими информацию потенциальным жертвам (*Mus musculus*, *Rattus norvegicus*) о наличии опасности: присутствии высокоспециализированного хищника. Описание биологической активности сигнальной молекулы (L-фелинин) вносит вклад в понимание молекулярных основ межвидовой химической коммуникации.

В естественной среде обитания домовые мыши и серые крысы наносят значительный экономический ущерб и являются переносчиками опасных инфекционных заболеваний. Знание факторов, участвующих в регуляции полового поведения грызунов, необходимо для обеспечения контроля их численности, требующегося в условиях больших городов и для эффективного ведения сельского хозяйства. Сведения о биологической активности сигнальных молекул, каковыми являются L-фелинин и его производные, открывают возможности разработки на их основе нетоксичных репеллентов и/или регуляторов репродуктивной функции.

Методология и методы исследования

В работе использовано три основных методических подхода: поведенческий, гормональный и иммуногистохимический.

Положения, выносимые на защиту:

1. Химические сигналы домашней кошки (интактная моча и L-фелинин) вызывают блок беременности; смещение соотношения по полу в выводках в сторону самцов у домовой мыши *Mus musculus*.
2. В восприятии и анализе L-фелинина и его производных участвуют как основная, так и дополнительная обонятельные системы домовой мыши *Mus musculus*.
3. Химические сигналы домашней кошки *Felis catus* вызывают состояние хронического стресса у домовой мыши, но не у серой крысы, что отражает факт более высокой специализации домашней кошки как хищника по отношению к домовой мыши *Mus musculus*.
4. L-фелинин является межвидовым химическим сигналом по отношению к домовой мыши и серой крысе, несущим информацию об опасности: присутствии высоко-специализированного хищника - домашней кошки *Felis catus*.

Степень достоверности и апробация результатов

Работа апробирована на семинаре лаборатории инновационных технологий ИПЭЭ РАН и лаборатории морфологических адаптаций млекопитающих ИПЭЭ РАН 17 мая 2013 года. Основные материалы диссертации были представлены и доложены на следующих международных и отечественных совещаниях: XVI International Symposium on Olfaction and Taste (ISOT) 2012 г., Стокгольм, Швеция; International Conference of Association for Chemoreception Science (AChemS) 2011г., Флорида, США; Congress of European Chemoreception Research Organization (ECRO) 2010 г., Авиньон, Франция; 2011, Манчестер, Англия; 2013г., Лёвен, Бельгия; XII International conference “Chemical Signals in Vertebrates” 2011 г., Берлин, Германия; Пушинская школа-конференция молодых ученых «Биология наука XXI века» 2011 г., 2013г., Пушкино; 7-ой международный междисциплинарный конгресс "Нейронаука для медицины и психологии" 2011 г., Судак, Крым, Украина; 7-й Московский международный конгресс «Биотехнология: состояние и перспективы развития» 2013 г., Москва.

Объем и структура диссертации

Диссертация состоит из введения, четырех глав (обзор литературы, методы исследования, результаты исследования, обсуждение результатов), заключения, выводов, списка литературы. Диссертация изложена на 131 страницах, иллюстрированных 35 рисунками и 3 таблицами; библиографический список включает 412 наименований источников, из них 394 на иностранных языках.

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Глава 1. Обзор литературы

Состоит из трех основных разделов: «Морфо-функциональная организация обонятельной системы грызунов»; «Типы химических сигналов»; «Влияние запаха хищника на поведение, размножение и нейроэндокринный статус грызунов».

Глава 2. Материалы и методы

Животные и условия содержания. В качестве модельных животных были использованы домовая мышь *Mus musculus* и серая крыса *Rattus norvegicus* в возрасте 2-6 месяцев. Мыши были, как отловленные в естественных условиях обитания, так и лабораторные, принадлежащие к следующим инбредным линиям: C57BL/6J, CBA/Lac-Sto, BALB/c. Используемые в наших экспериментах крысы были взяты из гетерогенной лабораторной популяции и имели своими предками особей, отловленных в естественных биотопах, а также крыс линии Вистар. Животные содержались в стандартных лабораторных условиях при световом режиме 12/12 часов и температуре – 22-24°C со свободным доступом к зерну, комбикорму («Лабораторкорм», Россия) и воде.

Определение стадий эстрального цикла грызунов. Стадии эстрального цикла самок мышей и крыс определяли по соотношению основных клеточных элементов во влагиалищных смывах: ядерных клеток, чешуйчатых клеток и лейкоцитов. Для взятия смыва использовалась глазная пипетка с оплавленным наконечником. Взятая таким образом проба переносилась на предметное стекло и исследовалась под микроскопом. Самка на стадии позднего проэструса - эструса ссаживалась с самцом.

Оценка репродуктивного успеха грызунов.

В качестве источника химических сигналов симпатрического хищника использовалась интактная моча домашних кошек *Felis catus*, имеющих в своей диете мясо. В качестве активного компонента мочи домашней кошки использовалась аминокислота L-фелинин (US Biological, USA) в концентрации, сопоставимой с естественной концентрацией в моче кошки (0,05%) (Hendriks *et al.*, 1995). В качестве контроля к моче домашней кошки мы использовали мочу нехищного животного – морской свинки *Cavia porcellus* и воду. Экспозиции проводились с помощью перфорированных пластиковых контейнеров с фильтровальной бумагой, смоченной соответствующим раствором. Контейнеры прикрепляли непосредственно к крышке клетки. Обновление растворов проводилось каждые два дня на протяжении первой недели беременности. Экспозиция проводилась в изолированных помещениях, а также в климатических камерах с индивидуальной подачей и отводом воздуха (ASP130; ASP110, Flur France). Для спаривания грызунов использовали сексуально-опытных самцов, содержащихся по одному в клетке не менее 14 дней. Самок на стадии проэструса-эструса ссаживали с самцами на 16-18 часов. На следующее утро успешность спаривания определяли по наличию влагиалищной пробки из сперматозоидов. Этот день считали первым днем беременности. Регистрировали: количество самок с блоком беременности; размер выводка; количество выживших детенышей на одну фертильную самку; соотношение детенышей в выводке по полу; вес детенышей на 21 день развития.

Измерение стероидных гормонов в плазме крови. Измерение уровня стероидных гормонов, тестостерона, кортикостерона и прогестерона, в образцах плазмы крови грызунов осуществляли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием готовых наборов реактивов производства DRG (США) EIA-1559, EIA-4164 и EIA-1561 соответственно, и планшетного спектрофотометра SpectraMax 340PC 384. Анализ результатов измерения проводили в программе SpectraMax Software (<http://www.moleculardevices.com/pages/software/softmax.html>).

Забор крови у крыс осуществлялся из пальцевой вены задних лап. Забор крови у мышей осуществляли из глазного синуса.

Измерение метаболитов глюкокортикоидов в фекалиях. Долговременное воздействие L-фелинина на секрецию глюкокортикоидов было оценено неинвазивным путём по содержанию специфических метаболитов в фекалиях, имеющих в своей структуре группировку $5\alpha\text{-}3\beta,11\beta\text{-diol}$ (Touma *et al.*, 2004). Фекалии собирались после двух недель постоянной экспозиции к раствору L-фелинина и хранились при -20°C до момента анализа. Экстракции осуществляли с помощью 80%-го метанола. Анализ экстрактов на содержание специфических метаболитов глюкокортикоидов производили методом ИФА. Первичные антитела и ключевые реагенты были получены в лаб. проф. Э.Мостла (Ветеринарный университет г. Вены). Анализ результатов измерения проводили в программе SpectraMax Software.

Иммуногистохимический анализ активированных нейронов. Локализация активированных нейронов в основной и дополнительной обонятельных луковицах в ответ на стимуляцию L-фелинином в течение 40 минут, была выполнена с помощью иммуногистохимических методов (*c-fos*). Мы использовали не прямой авидин-биотиновый метод. В качестве ферментной метки была использована пероксидаза хрена, в качестве хромогена – диаминобензидин (ДАБ). Иммуногистохимическое окрашивание тотальных препаратов основной обонятельной луковицы (ООЛ) и дополнительной обонятельной луковицы (ДОЛ) (толщина срезов 30 микрон) осуществлялось по стандартному трехдневному протоколу с применением первичных антител производства Santa Cruz Biotechnology, (США): *c-fos(4)sc-52* в разведении 1:1000 для выявления иммунореактивности к белку Fos.

Методы статистической обработки.

Для обработки результатов применялись стандартные статистические методы параметрической (ANOVA, t-критерий Стьюдента) и непараметрической статистики (критерий Манна-Уитни). Для сравнения долей использовались критерий Фишера и метод «хи-квадрат» - χ^2 . Результаты представлены в виде средних арифметических значений \pm стандартная ошибка средних ($M \pm SE$). Заключение с вероятностью случайной ошибки $p < 0,05$ принимались как статистически значимые. Полученные данные обрабатывали с применением программы Statistika 8.

Глава 3. Результаты и обсуждение

Реакция избегания (первичный ответ на запах хищника) хорошо описана как для мышей (Dickman, 1992; Kavaliers, Choleris, 2001), так и для крыс (Blanchard *et al.*, 2001; Zangrossi, File, 1992; Dielenberg, McGregor, 2001). В нашей работе мы описали вторичный (индуцированный) ответ потенциальной жертвы, вызванный длительным присутствием химических сигналов хищника.

3.1. Влияние хемосигналов хищника на репродуктивный успех ДОВОЙ МЫШИ

Экспозиции интактной мочи домашней кошки самкам доменной мыши непосредственно после спаривания вызывали достоверное ($n=16$, $p=0,0057$, критерий Фишера) увеличение частоты блока беременности (рисунок 1).

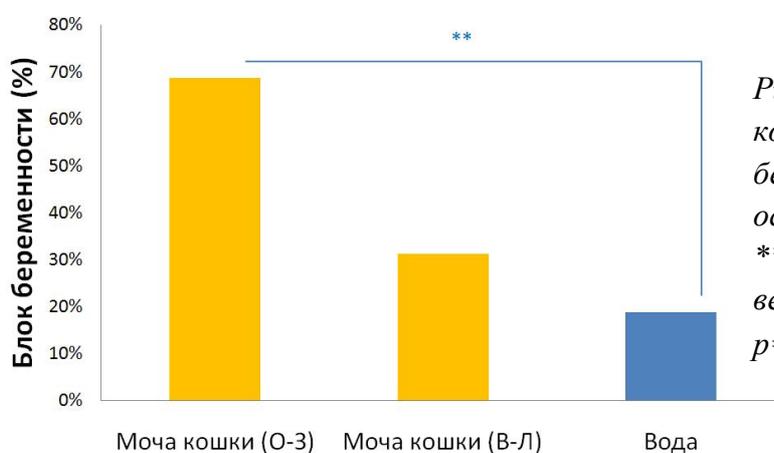


Рисунок 1. Влияние экспозиции мочи кошки (0,05 мл.) на частоту блока беременности доменных мышей в осенне-зимний период (О-З) ($n=16$, $**p=0.0057$, по критерию Фишера), в весенне-летний период (В-Л) ($n=16$, $p=0,34$, по критерию Фишера).

В осенне-зимний период экспозиция раствора L-фелинина (0,05%, 0,05 мл.) провоцировала блок беременности у 70% спаренных самок мышей ($n = 20$), тогда как в контроле таких животных было только 20% ($n=20$, $p=0,0018$, по критерию Фишера). Аналогичные экспозиции раствора L-фелинина в весенне-летний период вызывали блок беременности у 62,5% мышей ($n = 8$) по сравнению с 12,5 % в контроле ($n = 8$, $p = 0,043$) (рисунок 2).

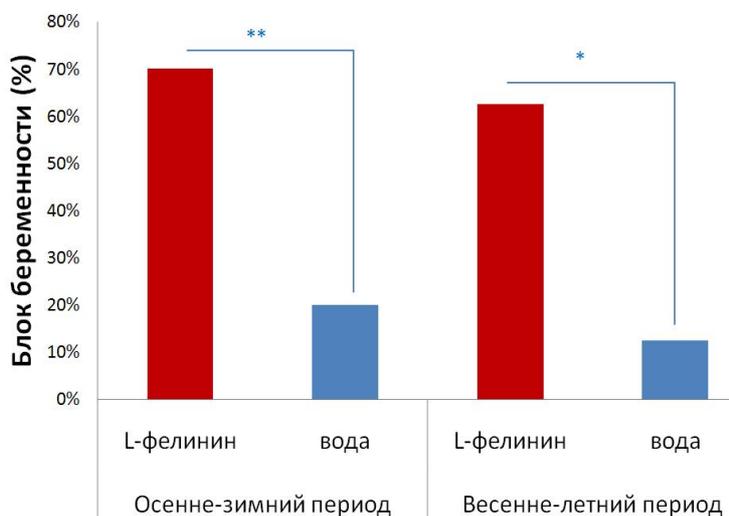


Рисунок 2. Влияние экспозиции L-фелинина (0,05%, 0,05 мл.) на частоту блока беременности доменных мышей в осенне-зимний период ($n=20$, $**p=0,0018$, по критерию Фишера), в весенне-летний период ($n=8$, $*p=0,043$ по критерию Фишера).

Для самок, экспонированных к L-фелинину, которые имели потомство, мы наблюдали достоверное снижение размера выводка только в осенне-зимний период ($p=0,0337$, $n=8$, по критерию Манна-Уитни для независимых выборок), а в весенне-летний период достоверного снижения размеров выводка не наблюдалось (рисунок 3).

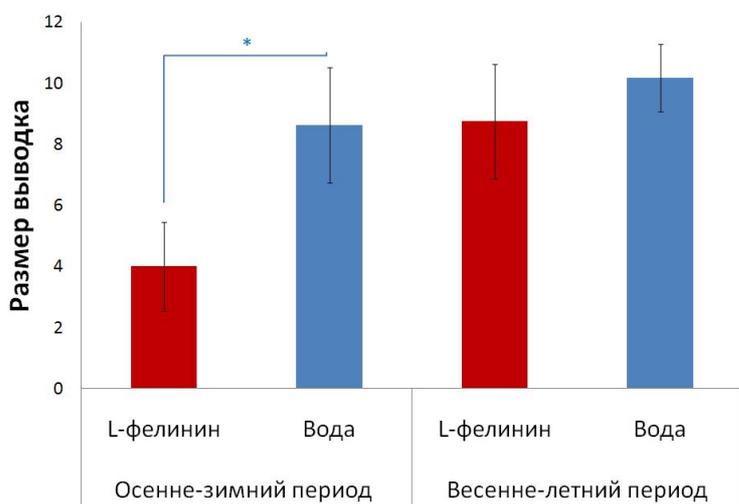


Рисунок 3. Влияние экспозиции L-фелинина (0,05%, 0,05 мл.) на размер выводка домашних мышей в осенне-зимний (О-З) период ($*p=0,0337$, $n=8$, по критерию Манна-Уитни для независимых выборок); в весенне-летний (В-Л) период ($p=0,72$, $n=8$ по критерию Манна-Уитни для независимых выборок, ($M \pm SEM$), Γ – стандартная ошибка среднего).

При экспозиции интактной мочи домашней кошки самкам домашних мышей на протяжении первой недели беременности мы наблюдали достоверное уменьшение размера выводка у родивших самок (рисунок 4).

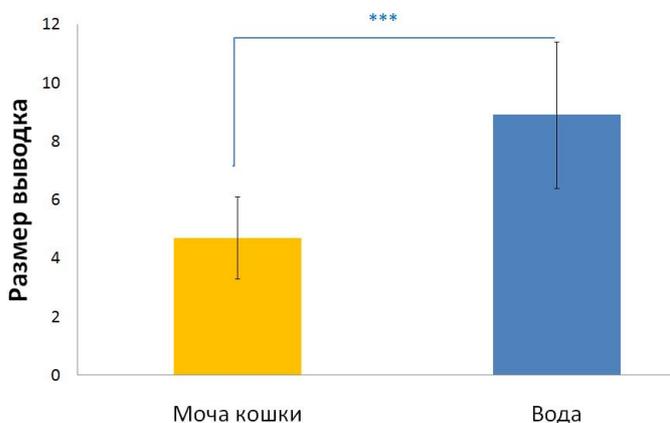


Рисунок 4. Влияние экспозиции мочи кошки (0,05 мл.) самкам домашней мыши на размер выводка [$t=-4,8$, $***p=0,00008$ $df=22$, $n(\text{моча})=11$, $n(\text{контроль})=13$; по критерию Стьюдента для независимых выборок; ($M \pm SEM$), Γ – стандартная ошибка ср.]

В наших экспериментах размер выводка в весенне-летний период оказался в среднем на 2 детеныша больше, чем в осенне-зимний период. Разница в размерах выводка в контрольных группах в разные периоды отражает сезонный характер размножения домашней мыши (Drickamer, 1991; Norrdahl, Korpinaki, 2002). Проявление некоторых эффектов только в осенне-зимний период (достоверное снижение размера выводка при экспозиции к L-фелинину и блок беременности при экспозиции к моче кошки) также указывает на сезонные различия в ответной реакции на хемосигналы хищника у домашних мышей. Таким образом, ответная реакция мышей на экспозицию к моче кошки и L-фелинину варьирует в зависимости от сезона. Полученные результаты можно

объяснить тем, что в осенне-зимний период продукция основных половых гормонов ниже, чем в весенне-летний период, поэтому воздействие дополнительных факторов, снижающих репродуктивную функцию, значительнее в осенне-зимний период.

В качестве суммарного показателя репродуктивного успеха было использовано количество выживших детенышей, приходящееся на одну фертильную самку. Этот показатель учитывает и частоту блока беременности, и эффект сокращения размера выводка. В опытной группе (экспозиция L-фелинина) этот показатель составил $2,5 \pm 1,00$ ($n = 28$), тогда как в контроле – $5,70 \pm 1,00$ ($n=28$, $p=0,046$ по критерию Манна-Уитни, для независимых выборок) (рисунок 5). Достоверное ($p<0,05$) снижение числа живых детенышей на одну фертильную самку под влиянием L-фелинина, свидетельствует о снижении репродуктивного успеха мышей.

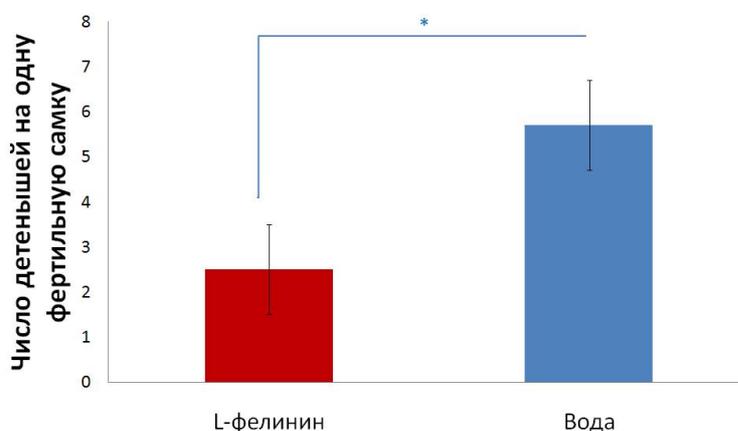


Рисунок 5. Влияние экспозиции раствора L-фелинина на количество живых детенышей, приходящихся на одну фертильную самку мыши ($n=28$ выводков в каждой группе, $*p=0,046$, по критерию Манна-Уитни для независимых выборок. ($M \pm SEM$), \top – стандартная ошибка среднего).

Снижение затрат энергии на размножение в условиях высокого риска хищничества, по мнению ряда авторов, считается адаптивным процессом, позволяющим экономить энергию самки до более благоприятных условий (Harvel, 1990; Ylönen, Ronkainen, 1994; Tollrian, Harvell, 1999; Apfelbach *et al.*, 2005).

Другим, заслуживающим внимания эффектом, который мы наблюдали под влиянием запаха хищника, является изменение соотношения полов в выводке в пользу самцов. При экспозиции беременным самкам домашней мыши интактной мочи домашней кошки в выводках рождалось 70 % самцов, тогда как в контроле – 49% ($p<0,01$). При экспозиции L-фелинина (0,05%) процент самцов в выводках составлял 61-64 % в зависимости от сезона, а в контроле – 48-50 % (рисунок 6). Механизм изменения в распределении детенышей по полу до сих пор остается мало изученным (McClure, 1981; Meikle, Drickamer, 1986; Hendricks, McClintock, 1990; Perret, 1990; Clarc *et al.*, 1992; Bacon, McClintock, 1994). Существует точка зрения, что в основе изменения соотношения по полу в выводках лежит дифференциальная резорбция эмбрионов (Krackow, 1992), происходящая при понижении секреции прогестерона на ранних стадиях

беременности (Hahn, Haas, 1963; Huck *et al.*, 1988; Krackow, 1992). Есть экспериментальные данные, указывающие и на дифференциальные потери оплодотворенных яйцеклеток до момента имплантации, т.е. до 8-го дня беременности (Huck *et al.*, 1988; Krackow *et al.*, 2003).

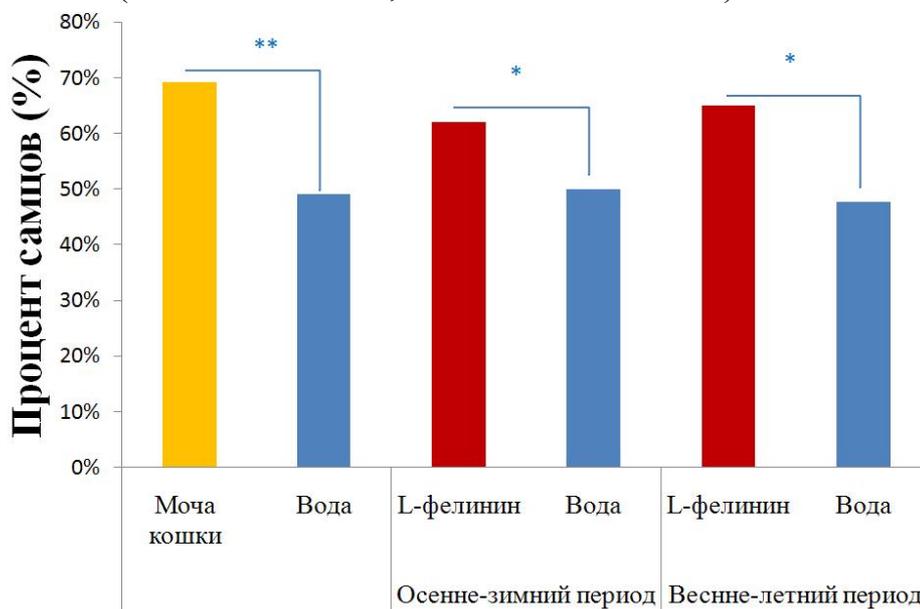


Рисунок 6. Влияние экспозиции L-фелинина (0,05%, 0,05мл.) на протяжении 1-ой недели беременности самкам домашней мыши на соотношение полов в выводках: в весенне-летний период [$* p=0,036$, $n(\text{фелинин})=35$, $n(\text{контроль})=61$, $\chi^2=4,393$]; в осенне-зимний период [$*p=0,032$, $n(\text{фелинин})=37$, $n(\text{контроль})=69$, $\chi^2=4,56$, $p=0,032$]. Влияние экспозиции мочи кошки (0,05 мл.) на протяжении 1-ой недели беременности самкам домашней мыши на соотношение полов в выводках [$**p=0,0055$, $n(\text{моча})=52$, $n(\text{контроль})=118$, $\chi^2=7,692$].

С эволюционной точки зрения, по мнению некоторых авторов, сдвиг по полу в сторону самцов в условиях высокой плотности хищника является адаптивным, поскольку самцы более мобильны и могут преодолевать большие расстояния, что позволяет им обосновываться на более благоприятных территориях (Cushing, 1985; Drickamer, 1991).

3.2. Влияние хемосигналов хищника на репродуктивный успех серой крысы

Экспозиция мочи домашней кошки (0,2 мл) на протяжении первой недели беременности вызывала достоверное сокращение размеров выводка у крыс (рисунок 7).

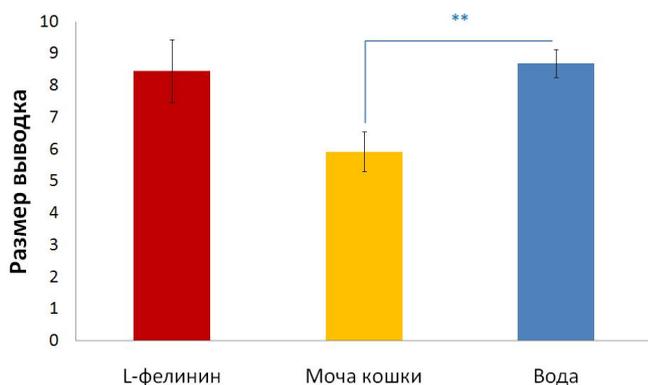


Рисунок 7. Влияние экспозиции мочи кошки (0,2 мл.) и L- фелинина (0,05%, 0,2 мл.) беременным самкам крыс на средний размер выводка крыс в осенне-зимний период [(ANOVA, $F(2, 36)=4,62$, $n=13$, $p=0,016$, $\text{Eta}=0,20$, по одностороннему пост-хок критерию Даннетта, $**p=0,0089$), ($M \pm \text{SEM}$), \bar{T} - стандартная ошибка среднего].

В тоже время, мы не наблюдали достоверного сокращения выводка у крыс под влиянием экспозиций L-фелинина (0,05 %, 0,2 мл).

Мы также не наблюдали блока беременности у крыс при экспозиции интактной мочи кошки или L-фелинина. Для серых крыс блок беременности является очень редким явлением, и большинство авторов констатирует его отсутствие (Dewsbury, Hartung, 1980; Lohmiller, Swing, 2006; Marashi, Rulicke, 2012) как в лабораторной, так и в дикой популяции. Полученные данные хорошо согласуются с предыдущими исследованиями нашей лаборатории по влиянию мочи кошки на размножение грызунов (Voznessenskaya *et al.*, 1992; Voznessenskaya *et al.*, 2003).

В выводках самок крыс, экспонированных на протяжении первой недели беременности к L-фелинину (0.05%), наблюдалось достоверное ($p < 0,001$, $n(\text{фелинин})=110$, $n(\text{контроль})=113$) смещение соотношения по полу в сторону самцов по сравнению с контрольной группой (рисунок 8).

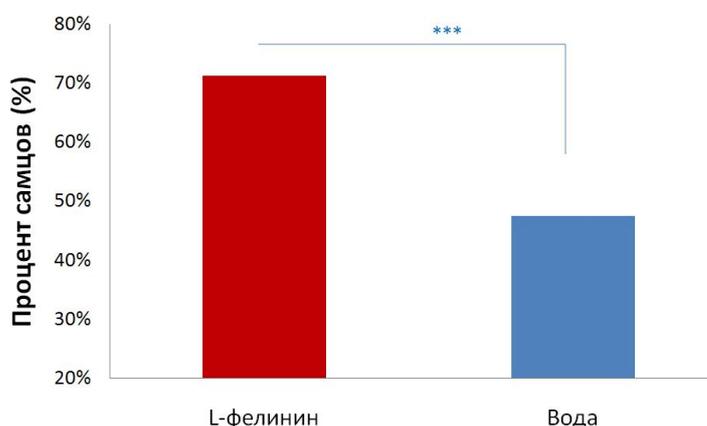


Рисунок 8. Влияние экспозиции L-фелинина (0.05%, 0,2 мл.) беременным самкам крыс на соотношение полов в выводках в осенне-зимний период. [*** $p < 0,001$, $n(\text{фелинин})=110$, $n(\text{контроль})=113$, $\chi^2 = 19,23$].

При экспозиции к моче кошки, мы наблюдали повышение процента самцов в выводке крыс до 70% вне зависимости от сезона (рисунок 9).

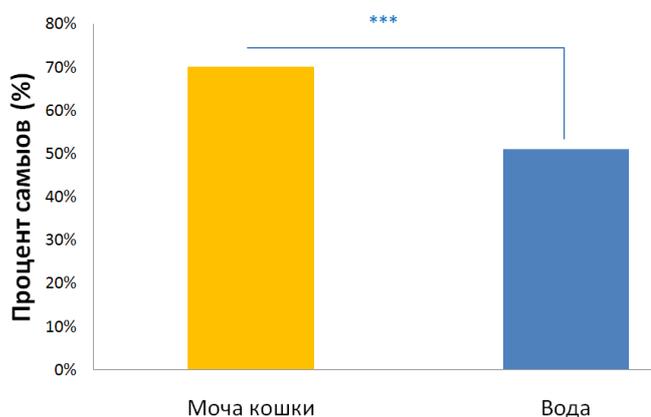


Рисунок 9. Влияние экспозиции мочи кошки (0,2 мл.) беременным самкам крыс на протяжении первой недели беременности на соотношение полов в выводках. [*** $p < 0,001$, $n(\text{моча})=77$, $n(\text{контроль})=113$, $\chi^2 = 12,48$].

В то время, как количество новорожденных детенышей является показателем плодовитости, о репродуктивном успехе свидетельствует, прежде всего, выживаемость потомства в поколениях. Одним из основных параметров, который оказывает влияние на выживаемость детенышей, является их вес.

Экспозиция беременным самкам крыс L-фелинина на протяжении первой недели беременности привела к достоверному снижению веса детенышей на момент перехода на твердую пищу (21 день развития), вне зависимости от сезона. В весенне-летний период мы наблюдали достоверно меньший средний вес детенышей ($42,6 \pm 0,15$ гр.) по сравнению с таковым в контроле ($48 \pm 0,17$ гр.) ($p=0,005$, $df=143$, $t=-2,45$, t-критерий Стьюдента) (рисунок 10).

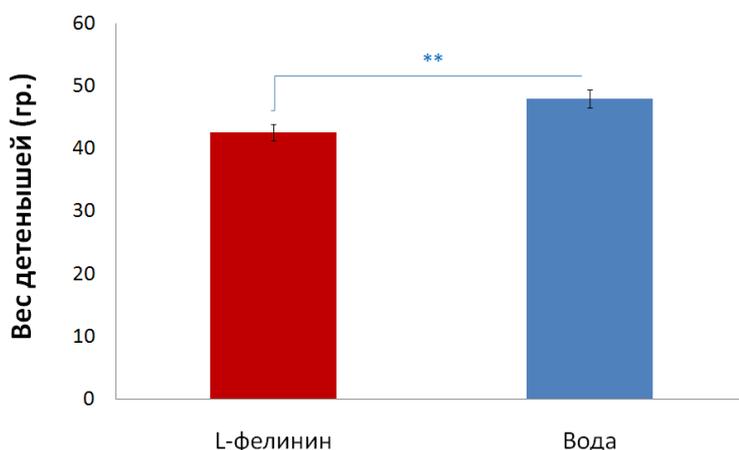


Рисунок 10. Влияние экспозиции L-фелинина (0,05%, 0,2 мл.) самкам крыс на протяжении первой недели беременности на вес детенышей к моменту перехода на твердую пищу (21-й день развития) в весенне-летний период, [$** p=0,005$ $df=143$, $t=-2,45$, критерий Стьюдента для независимых выборок, ($M \pm SEM$), Γ – стандартная ошибка среднего].

Вес потомства самок, экспонированных к L-фелинину на протяжении первой недели беременности в осенне-зимний период, оказался достоверно ($p < 0,001$) меньшим по сравнению с весом детенышей из контрольной группы, в среднем на 12 гр. Аналогичная экспозиция к моче кошки также вызывала достоверное ($p < 0,001$) снижение веса потомства в среднем на 10 гр. (рисунок 11).

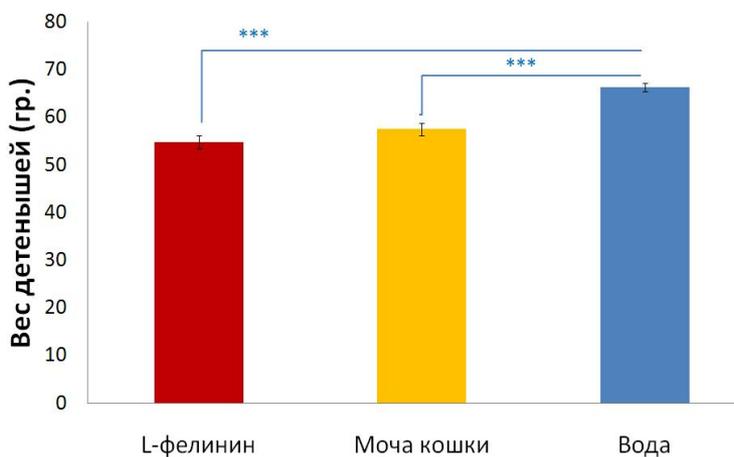


Рисунок 11. Влияние экспозиции мочи домашней кошки (0,2 мл.) и L-фелинина (0,05%, 0,2 мл.) самкам крыс на вес детенышей к моменту перехода на твердую пищу (21-й день развития) в осенне-зимний период. [$ANOVA (2,298) = 25,89$, $***p < 0,001$, по пост-хок критерию Даннетта $F(2,298) = 23,81$, $***p_{\text{фелинин}} = 0,000022$, $***p_{\text{моча}} = 0,000028$. ($M \pm SEM$), Γ – стандартная ошибка среднего].

При этом, вес детенышей достоверно ($p < 0,001$) не различался в зависимости от пола. Статистический анализ показал достоверное снижение веса детенышей и одновременное снижение размеров выводка. Снижение веса детенышей, но без уменьшения размера выводка, наблюдалось и другими авторами при исследовании влияния запаха хищника на динамику веса потомства полевок (Heikkilä *et al.*, 1993; Carlsen *et al.*, 1999). Возможным объяснением замедления набора веса у потомства может быть снижение лактации самок,

обусловленное снижением секреции пролактина (Назарова, Евсиков, 2011; Bourke *et al.*, 2013).

3.3. Нейроэндокринные реакции на химические сигналы хищника

Краткосрочная экспозиция (15 мин) интактной мочи домашней кошки вызывала достоверное ($p < 0,001$, $n=8$) повышение уровня кортикостерона в плазме крови мышей (рисунок 12). При повторной экспозиции через 2 дня мы наблюдали дальнейший рост кортикостерона в плазме крови, который оставался стабильно высоким и после 3-ей экспозиции. В тоже время в контрольной группе, экспонированной к воде, этот показатель не отличался от базального уровня. В ответ на краткосрочную экспозицию мочи нехищного животного (морской свинки) также регистрировался достоверный подъем уровня кортикостерона в плазме крови мышей, однако при повторных предъявлениях мы наблюдали угасание ответа (рисунок 12).

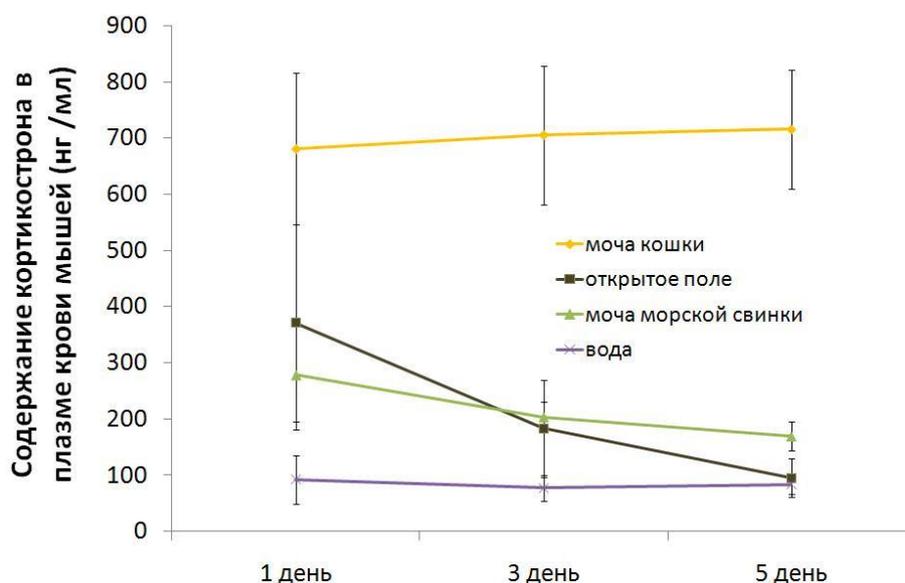


Рисунок 12. Влияние недельной экспозиции (по 15 мин., 0,2 мл.) к моче хищника (*Felis catus*) (1); моче нехищного животного - морской свинки (2); к воде – негативный контроль (3); помещение в «открытое поле» - позитивный контроль (4) на концентрацию кортикостерона (нг/мл) в плазме крови мышей (самки) [(ANOVA. $F(3, 28)=32,12$, $p < 0,001$, тест Тьюки (хищник - вода) $***p=0,000164$), ($M \pm SEM$), \top – стандартная ошибка среднего].

В качестве положительного контроля было использовано помещение мышей в «открытое поле». При повторных предъявлениях этого теста мы также наблюдали угасание нейроэндокринного ответа на стрессирующий стимул (рисунок 12). Таким образом, только в случае использования запаха хищника (моча домашней кошки) мы не наблюдали привыкания на уровне гормональной реакции при повторных предъявлениях стимула, что отражает врожденный характер нейроэндокринного ответа.

Долговременная экспозиция домовым мышам L-фелинина (0,05%, 0,05 мл., 10 дней) вызывала достоверное повышение концентрации специфических метаболитов глюкокортикоидов в фекалиях мышей (рисунок 13), что свидетельствует о состоянии хронического стресса у животных.

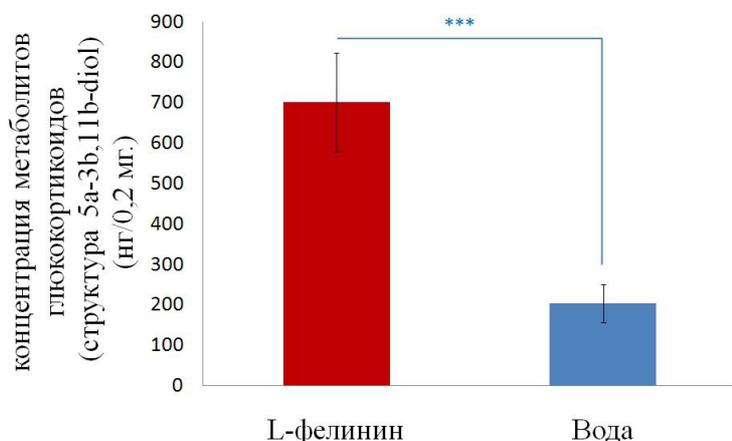


Рисунок 13. Влияние длительной (10 дней) экспозиции L-фелинина (0,05%, 0,05 мл.) на объем метаболитов глюкокортикоидов (5α-3β,11-ehol) в фекалиях домашней мыши (*Mus musculus*) [(*** $p < 0.001$, $t = -14,21$, $n = 13$ t -тест для независимых выборок), ($M \pm SEM$), \top – стандартная ошибка среднего].

Долговременное повышение уровня глюкокортикоидов может быть механизмом такого феномена, как блок беременности, вызываемого экспозицией как интактной мочи кошки, так и L-фелинина. Негативное влияние на репродуктивный успех млекопитающих, в том числе и грызунов, долговременного повышения уровня кортикостерона было показано рядом авторов (Broom, Johnson, 1993; Liptrap, 1993; Dobson, Smith, 1995; Balm, 1999; DeCatanzaro, 2011).

В отличие от мышей, краткосрочные экспозиции мочи кошки крысам не оказывали достоверного влияния на уровень кортикостерона в плазме крови. Отсутствие ожидаемого повышения уровня кортикостерона в плазме крови крыс при экспозиции к моче домашней кошки можно объяснить значительными различиями в стресс-реактивности между домовыми мышами и крысами (Zangrossi, File, 1994; Dielenberg, McGregor, 1999; Blanchard *et al.*, 2001). Кроме того, домашняя кошка является более специализированным хищником по отношению к домашней мыши (Blanchard *et al.*, 2001a; Apfelbach *et al.*, 2005). С этой точки зрения «значимость» химических сигналов кошки для этих двух видов различна. Полный комплекс вторичных оборонительных реакций потенциальная жертва проявляет только по отношению к высокоспециализированному симпатическому хищнику (Stoddart, 1980; Weldon *et al.*, 1987; Weldon, 1990; Zimmerling, Sullivan, 1994; Apfelbach *et al.*, 2005; Starke, Ferkin, 2013).

Прогестерон является основным гормоном беременности, регулирующим имплантацию эмбрионов и поддержание беременности, особенно на ранних стадиях. Концентрация прогестерона в плазме крови крыс измерялась на 8-ой день беременности, т.к. это по времени соответствует периоду имплантации

эмбрионов. Экспозиция мочи домашней кошки крысам на протяжении первой недели беременности вызвала достоверное падение уровня прогестерона в плазме крови (рисунок 14, $p < 0,001$, $n=10$, $t=18,36$, t -критерий Стьюдента для независимых выборок).

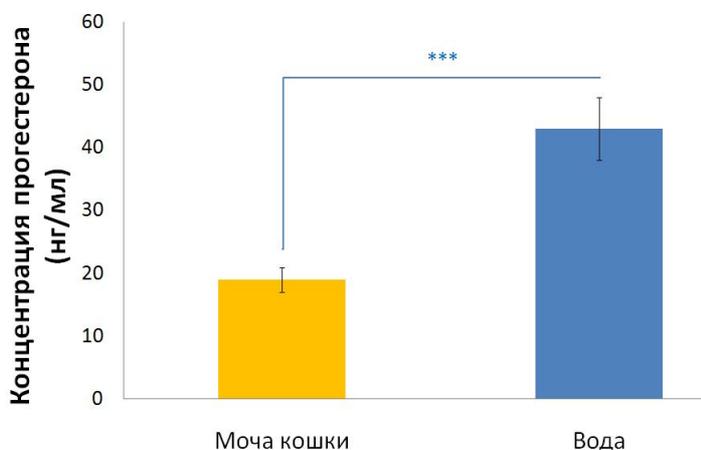


Рисунок 14. Влияние экспозиции мочи кошки (0,2 мл.) на протяжении первой недели беременности крысы на концентрацию прогестерона в плазме крови на восьмой день беременности [$***p < 0.001$, $n=10$, $t=18,36$, t -тест для независимых выборок), ($M \pm SEM$), \top – стандартная ошибка среднего].

Снижение уровня прогестерона при экспозиции к моче кошки может являться одним из факторов, обуславливающих сокращение размера выводка у крыс под влиянием запаха кошки.

Тестостерон играет ключевую роль в регуляции полового поведения самцов. Длительная (2 недели) экспозиция самцов крыс к L-фелинину (0,2 мл, 0,05%) приводила к достоверному ($p=0,049$, $n=10$, $t=2,26$, t -критерий) падению уровня тестостерона в плазме крови (рисунок 16). Сокращение объема раствора L-фелинина до 0,1 мл привело к потере эффекта (рисунок 15). В качестве контроля мы использовали интактную мочу домашней кошки (Blanchard *et al.*, 1993; Heikkilä *et al.*, 1993; Frohlich *et al.*, 2002) (рисунок 15).

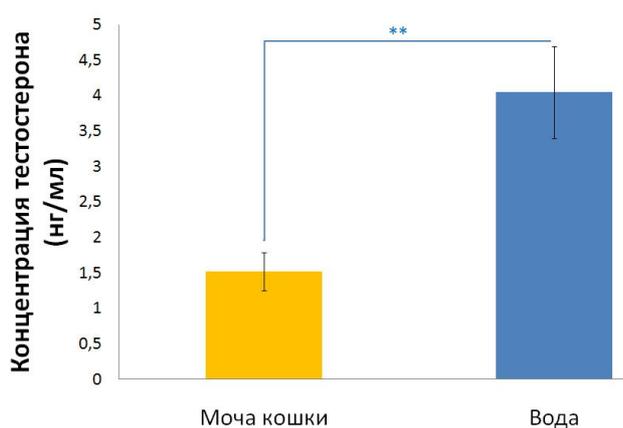


Рисунок 15. Влияние долговременной (две недели) экспозиции самцов крыс к моче кошки (0,2 мл.) на уровень тестостерона в плазме крови ($**p = 0,0020$, $n=10$, $t=-3,604$, t -критерий Стьюдента для независимых выборок). ($M \pm SEM$), \top – стандартная ошибка среднего.

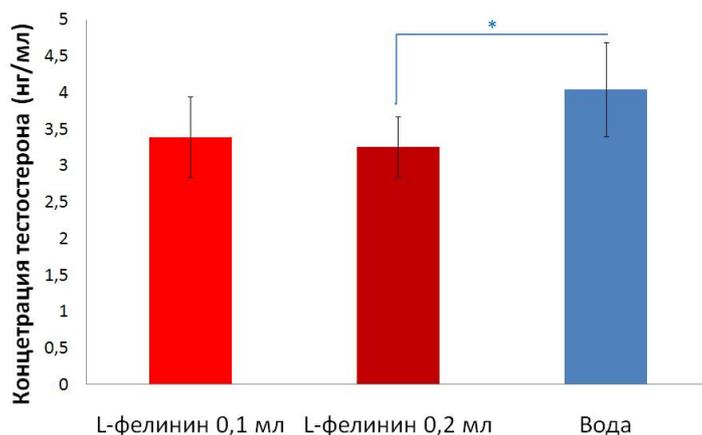


Рисунок 16. Влияние долговременной экспозиции самцов крыс к L-фелинину (0,05%, 0,1 мл и 0,2 мл.) на уровень тестостерона в плазме крови ($*p=0,049$, $n=10$, $t=2,266$, t -критерий Стьюдента для зависимых выборок). ($M \pm SEM$), \top – стандартная ошибка среднего).

Снижение уровня тестостерона под влиянием мочи кошки также подтвердилось и в наших экспериментах ($p=0,0020$, $n=10$, $t=-3,604$), что было использовано как позитивный контроль к L-фелинину.

Пониженный уровень тестостерона может отражать снижение репродуктивного статуса самцов. Многочисленными исследованиями показано, что хронический стресс, сопровождающийся повышенным уровнем глюкокортикоидов, подавляет синтез тестостерона в клетках Лейдига семенников самцов, что способствует снижению их репродуктивного статуса (Wang, Liu, 2002; Zhang *et al.*, 2003).

Комплекс вторичных оборонительных реакций, проявляемых лабораторными животными, и отсутствие привыкания на уровне гормонального ответа свидетельствуют в пользу врожденного характера этих реакций.

3.4. Роль основной обонятельной системы и вомероназальной (дополнительной) в детекции L-фелинина

В ответ на стимуляцию раствором L- фелинина мы наблюдали активацию нейронов в каудальной части дополнительной обонятельной луковицы (ДОЛ) (рисунок 17), тогда как на контрольных срезах ДОЛ (вода) такая активация отсутствовала (рисунок 18).

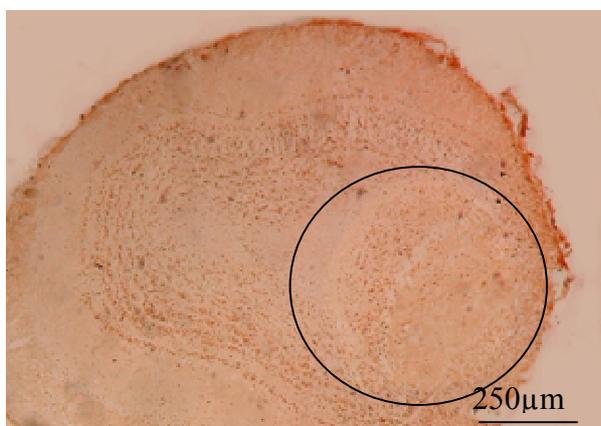


Рисунок 17. Нейрональная активация в ответ на стимуляцию ($t=40$ мин.) раствором L-фелинина (0,05%) на срезах ДОЛ. ($n=4$, два независимых эксперимента) Стрелками показаны Fos-позитивные клетки.

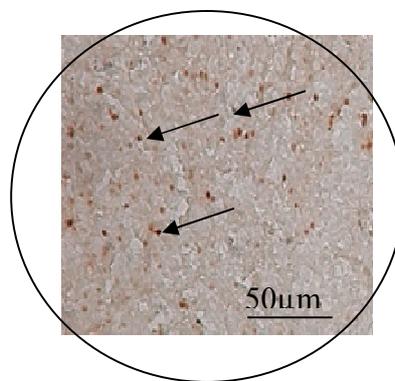


Рисунок 18. Отсутствие нейрональной активации на срезах ДОЛ в ответ на стимуляцию ($t=40$ мин.) дистиллированной водой ($n=4$, два независимых эксперимента). Положение ДОЛ на срезе помечено круговой линией.



Активация также была отмечена и в основной обонятельной луковице (ООЛ) на уровне гломерул (рисунок 19). Аналогично на контрольных срезах ООЛ (рисунок 20) такой активации не наблюдалось.

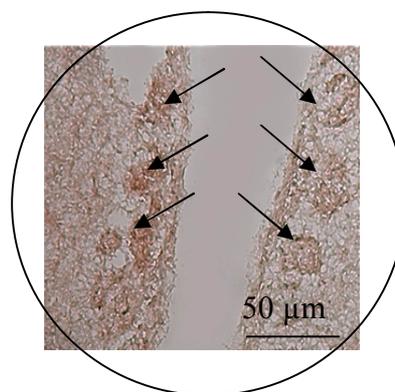
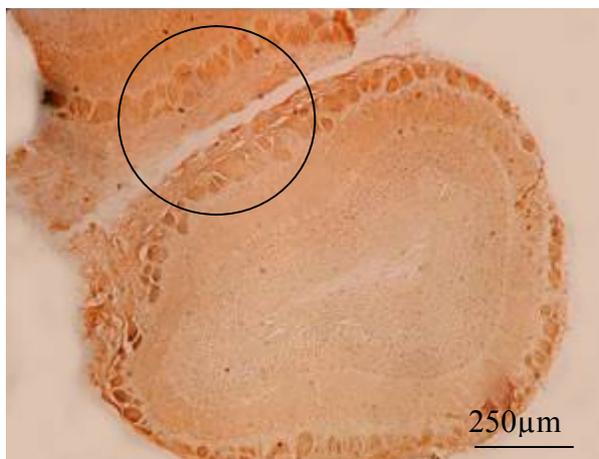


Рисунок 19. Нейронная активация в ответ на стимуляцию ($t=40$ мин.) раствором L-фелинина (0,05%) на срезах ООЛ. ($n=4$, два независимых эксперимента) Стрелками показана Fos-иммунореактивность в слое гломерул.

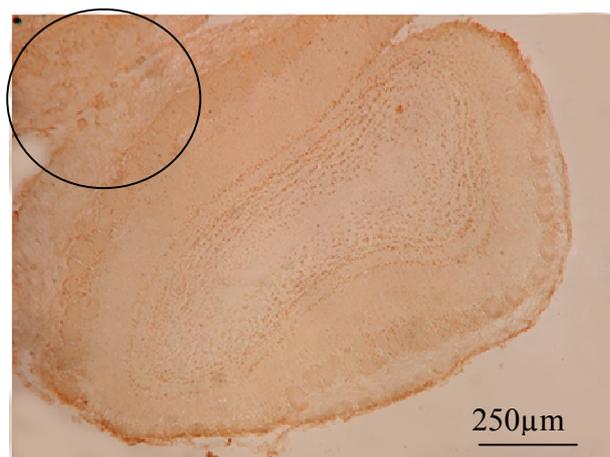


Рисунок 20. Отсутствие нейронной активации на уровне гломерул ООЛ в ответ на стимуляцию ($t=40$ мин.) дистиллированной водой ($n=4$, два независимых эксперимента). Положение искомым гломерул на срезе помечено круговой линией.

Выделяют два основных отдела в обонятельном анализаторе млекопитающих: основную (ООС) и дополнительную (вомероназальную) обонятельную системы (ДОС). ООС воспринимает летучие соединения, в то время как ДОС как летучие, так и малолетучие соединения с высокой молекулярной массой (Вахі, 2006), среди которых преобладают вещества, обладающие феромональным действием (Kimoto *et al.*, 2005; Leinders-Zufall *et al.*, 2000). Рецепторный эпителий вомероназального органа (ВНО) содержит две анатомически и функционально - различные

субпопуляции нейронов. Сенсорные нейроны в апикальной зоне, расположенной ближе к просвету органа, экспрессируют рецепторы семейства V1R (Berghard *et al.*, 1996; Dulac and Axel, 1995), которые активируются липофильными и высоколетучими соединениями мочи, а также одорантами ООС. Нейроны в базальной зоне ВНО экспрессируют рецепторы семейства V2R (Herrada and Dulac, 1997; Matsunami and Buck, 1997; Ryba and Tirindelli, 1997), которые активируются соединениями пептидной природы и

другими соединениями, обладающими феромональным действием (Krieger *et al.*, 1999).

Первичной проекционной зоной этих рецепторов является каудальная часть ДОЛ. Таким образом, наблюдаемая нами Fos-иммунореактивность в каудальной части ДОЛ свидетельствует в пользу того, что L-фелинин детектируется и анализируется ДОС по типу феромона. Fos-иммунореактивность, зарегистрированная в ответ на стимуляцию L-фелинином, как в ООС, так и в ДОС, указывает на то, что L-фелинин связывается, по крайней мере, с двумя типами рецепторов. Этот факт объясняется нестабильностью L-фелинина в растворе. В естественных выделениях домашней кошки L-фелинин присутствует в виде смеси фелинина и специфических меркаптанов, например, 3-меркапто-3-метилбутан-1-ола (ММБ) и др. (Miyazaki *et al.*, 2006). Таким образом, многокомпонентность феромональной смеси объясняет вовлечение, как ООС, так и ДОС в восприятие и анализ химических сигналов хищника (Voznessenskaya *et al.*, 2006; Voznessenskaya *et al.*, 2007).

Таким образом, можно сделать заключение, что присутствие кошки домовые мыши могут определять как по летучим соединениям (дистантно), так и по нелетучим, исследуя оставленные метки.

ВЫВОДЫ

1. Экспозиция как интактной мочи домашней кошки, так и уникальной аминокислоты кошачьих L-фелинина в первую неделю беременности самкам домовой мыши оказывает достоверное влияние на частоту блока беременности; вызывает достоверное снижение количества живых детенышей на одну фертильную самку; приводит к достоверному повышению доли самцов в выводке по сравнению с контролем, вне зависимости от сезона.
2. Экспозиция как интактной мочи домашней кошки, так и уникальной аминокислоты кошачьих L-фелинина в первую неделю беременности самкам серой крысы вызывает достоверное смещение соотношения полов в пользу самцов; вызывает достоверное снижение веса детенышей по сравнению с контролем, вне зависимости от сезона.
3. При экспозиции L-фелинина на протяжении первой недели беременности самкам крысы наблюдалась лишь тенденция к сокращению выводка, в то время как при экспозиции к моче кошки - достоверное снижение размеров выводка.

4. Долговременные экспозиции (10 дней), как интактной мочи кошки, так и L-фелинина, вызывают достоверное повышение уровня метаболитов глюкокортикоидов в фекалиях мышей, что свидетельствует о долговременном характере стрессорного ответа на химические сигналы хищника.
5. Экспозиция самок крысы на протяжении первой недели беременности к моче кошки вызывает достоверное падение уровня прогестерона в плазме крови.
6. Долговременная экспозиция (2 недели) самцов крысы к L-фелинину (0,05%, 0,2 мл) вызывает достоверное падение уровня тестостерона в плазме крови.
7. Иммуногистохимические исследования (c-fos) показали участие как основной, так и дополнительной обонятельных систем (вомероназального органа) в рецепции и анализе L-фелинина и его производных у домашней мыши.
8. Совокупность полученных данных: достоверный гормональный ответ на экспозицию L-фелинина, снижение ряда показателей репродуктивного успеха, свидетельствует об информационной значимости внутривидового хемосигнала домашней кошки L-фелинина и его производных, как межвидовых химических сигналов для домашней мыши и серой крысы.

Благодарности

Исследования выполнены при финансовой поддержке грантов РФФИ 07-04-01538а и 10-04-01599а, гранта Президента МК- 709.2012.4 и программы РАН «Живая природа». Выражаю безграничную глубокую признательность моему научному руководителю, без которого эта работа не могла бы состояться, к.б.н. Вере Васильевне Вознесенской. Также выражаю сердечную признательность сотрудникам лаборатории инновационных технологий и лаборатории сравнительной нейробиологии позвоночных, оказывавшим помощь и поддержку на протяжении всей работы. Нельзя не отметить терпение и понимание, проявленное со стороны моих родных и близких, за что им большое спасибо.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых журналах (список ВАК)

1. Вознесенская В.В. Влияние химических сигналов хищника *Felis catus* на репродукцию домовую мышь *Mus musculus* / В.В. Вознесенская, **Т.В.Маланьина** // Доклады Академии Наук. –2013.- Т.453.-№2.-С.227-229. (в печати)
2. **Маланьина Т.В.** Влияние химических сигналов домашней кошки на репродукцию серой крысы *Rattus norvegicus* / Т.В. Маланьина, В.В. Вознесенская //Фундаментальные исследования. -2013.-№4(часть 1).-С. 121-124.
3. **Маланьина Т.В.** Химические сигналы хищника провоцируют хронический эмоциональный стресс у домашних мышей [Электронный ресурс] /Т.В.Маланьина //Современные проблемы науки и образования. – 2013.- №1.- 8 стр.- URL: <http://www.science-education.ru/107-8184> (дата обращения: 18.09.2013).

Статьи в других рецензируемых журналах, трудах конференций, тематических сборниках; тезисы докладов

4. Voznessenskaya V.V. Development of nontoxic methods of rodent population control as an alternative approach for big cities /V.V. Voznessenskaya, **T.V.Malanina**// News in Chemistry, Biochemistry and Biotechnology: State of the art and Prospects of Development, Nova Science Publishers, Inc., New York. –2013 (in press).
5. **Malanina T.V.** The influence of Felidae family pheromone precursor L-felinine on reproductive status of the house mice /Т.В. Malanina, А.В. Klinov, V.V. Voznessenskaya //High Technologies, Basic and Applied Research in Physiology and Medicine. Conference proceedings. St. Petersburg.-2011.- Vol 2.- P.224-230.
6. Voznessenskaya V.V. Development of nontoxic methods of rodent population control / V.V.Voznessenskaya, А.В.Klinov, **T.V.Malanina** // High Technologies, Basic and Applied Research in Physiology and Medicine. Conference proceedings. St. Petersburg.-2011.-Vol 2.- P.154-161.
7. **Маланьина Т.В.** Влияние L-фелинина на репродуктивное поведение домашних мышей / Т.В.Маланьина, В.В.Вознесенская //Международный журнал экспериментального образования. -2012.- №6.-С.17-19.
8. **Маланьина Т.В.** Химические сигналы хищника как регуляторы репродукции серой крысы (*Rattus norvegicus*) / Т.В.Маланьина //Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.- 2012.- № 11.-С.12-13.
9. Voznessenskaya V.V. The influence of L-Felinine on reproduction of mice and rats / V.V.Voznessenskaya, **T.V. Malanina**//Chemical Senses. –2011.-№1(36).- P.E32.
10. Voznessenskaya V.V. L-felinine as potential reproductive inhibitor in rodents /V.V.Voznessenskaya, А.В.Klinov, **T.V.Malanina**//Chemical Senses. -2011.- №9(36).-P.A46.

11. **Malanina T.V.** Long-term exposure to predator odors affects plasma testosterone in male rats / T.V.Malanina, V.V. Voznessenskaya // The European Chemoreception Research Organization XXIII Congress. Abstracts., Leuven, Belgium. –2013.-P.117.
12. Voznessenskaya V.V. Gender specific responses to predator chemical cues in the house mouse: the effects of early olfactory experience. / V.V.Voznessenskaya, **T.V. Malanina**, A.B.Klinov, T.K.Lactionova // The European Chemoreception Research Organization XXIII Congress. Abstracts., Leuven, Belgium–2013.-P.178.
13. **Маланьина Т.В.** Роль химических сигналов хищника в регуляции репродукции домовых мышей *Mus Musculus* и серых крыс *Rattus Norvegicus* / Т.В.Маланьина, В.В.Вознесенская // Материалы 17-й международной школы-конференции молодых ученых «Биология – наука XXI века». Пущино.- 2013. -С.544-545.
14. Вознесенская В.В. Нетоксические методы регуляции численности грызунов как альтернативный подход в условиях городской среды / В.В. Вознесенская, **Т.В. Маланьина**// Материалы международного конгресса «Биотехнология: состояние и перспективы развития». - 2013.-С.317-318.
15. Клинов А.Б. Влияние феромона кошачьих и его предшественника L-фелинина на репродукцию домовых мышей: этологические и физиологические механизмы / А.Б.Клинов, **Т.В.Маланьина**, В.В.Вознесенская // Материалы пятой конференции молодых сотрудников и аспирантов института «Актуальные проблемы экологии и эволюции в исследованиях молодых ученых». Москва.-2012.-С.25.
16. **Malanina T.V.** L-Felinine as a potential chemical signal in the house mouse / T.V.Malanina, V.V.Voznessenskaya // The European Chemoreception Research Organization XXI Congress. Abstracts., Manchester.UK.-2011.-P.113.
17. Voznessenskaya V.V. L-felinine as a Putative Pheromone in the House Mouse /V.V.Voznessenskaya, **T.V.Malanina** // Abstracts of Seventh International Interdisciplinary Congress «Neuroscience for Medicine and Psychology». Sudak, Crimea, Ukraine. -2011.-P.116.
18. **Malanina T.V.** Neural Activity in Main Olfactory and Accessory Olfactory System of the House Mouse in Response to Stimulation with L-felinine /T.V.Malanina, A.B.Klinov, V.V.Voznessenskaya //Abstracts of Seventh International Interdisciplinary Congress «Neuroscience for Medicine and Psychology». Sudak, Crimea, Ukraine.-2011.- P.279.
19. Klinov A.B. The influence of L-felinine on reproduction in the house mouse /A.B.Klinov, **T.V.Malanina**, V.V.Voznessenskaya // Chemical Signals in Vertebrates XII. Abstracts., Berlin, Germany.-2011.- P.106.
20. **Маланьина Т.В.** Влияние L-фелинина на репродуктивную функцию мышей и крыс / Т.В.Маланьина, А.Б.Клинов // Материалы 15-й международной школы-конференции молодых ученых «Биология – наука XXI века» Пущино. -2011.-С.174.