МОЛДАВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

ДОКТОРСКАЯ ШКОЛА ЕСТЕСТВЕННЫХ НАУК

Консорциум: **Молдавский Государственный Университет, Институт Информационного Общества, Государственный Университет «Богдан Петричейку Хашдеу», Кагул**

На правах рукописи
У.Д.К.: 57.02+57.024+591.1

ГАРБУЗНЯК АНАСТАСИЯ

ОБУЧЕНИЕ И ПАМЯТЬ КРЫС ПРИ ПОТРЕБЛЕНИИ БИОМАССЫ СТРЕПТОМИЦЕТОВ

165.01. Физиология человека и животных

Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук

Кишинэу, 2024

Работа выполнена на базе Института Физиологии и Санокреатологии Молдавского Государственного Университета, Института Микробиологии и Биотехнологии Технического Университета Молдовы, Докторской Школы Естественных Наук Молдавского Государственного Университета.

***Научные руководители*:**

ШЕПТИЦКИЙ Владимир	доктор хабилитат биологических наук, доцент-исследователь, Институт Физиологии и Санокреатологии, Молдавский Государственный Университет
БУРЦЕВА Светлана	доктор хабилитат биологических наук, профессор-исследователь, Институт Микробиологии и Биотехнологии, Технический Университет Молдовы

Состав Докторской Комиссии:

КРИВОЙ Аурелия	доктор хабилитат биологических наук, профессор, Молдавский Государственный Университет – ***председатель***
ШЕПТИЦКИЙ Владимир	доктор хабилитат биологических наук, доцент-исследователь, Институт Физиологии и Санокреатологии, Молдавский Государственный Университет – ***научный руководитель***
ЧОКИНЭ Валентина	доктор биологических наук, доцент-исследователь, Институт Физиологии и Санокреатологии, Молдавский Государственный Университет – ***рецензент***
ВОВК Виктор	доктор хабилитат медицинских наук, профессор, Государственный Университет Медицины и Фармакологии им. Николая Тестемицану – ***рецензент***
МОШАНУ-ШУПАК Лора	доктор биологических наук, доцент, Государственный Педагогический Университет "Ион Крянгэ" – ***рецензент***

Защита состоится 21 октября 2024 г. в 15.00 часов на заседании специализированного совета на базе ДШЕН, Главное управление – Докторская Школа Естественных Наук, Молдавского Государственного Университета (http://www.usm.md), ул. М. Когэлничану 65 А, корпус 3, аудитория 332, MD-2009, Кишинэу, Молдова.

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в Национальной Библиотеке Республики Молдова, Научной Центральной Библиотеке (Институте) „Andrei Lupan", Центральной Библиотеке Молдавского Государственного Университета, Библиотеке (ул. Алексей Матеевич, 60, Кишинэу, MD 2009), на сайте МГУ (http://usm.md/) и на сайте ANACEC (http://www.anacec.md/).

Автореферат разослан „16" сентября 2024

Председатель Докторской Комиссии
доктор хабилитат биологических наук,
профессор — **КРИВОЙ Аурелия**

Научные руководители
доктор хабилитат биологических наук,
доцент-исследователь — **ШЕПТИЦКИЙ Владимир**

доктор хабилитат биологических наук,
профессор-исследователь — **БУРЦЕВА Светлана**

Автор: — **ГАРБУЗНЯК Анастасия**

© Гарбузняк Анастасия, 2024

СОДЕРЖАНИЕ

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ……...…… 4

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ…… 7

1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О МЕХАНИЗМАХ НЕЙРОЛОГИЧЕСКОЙ ПАМЯТИ, БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВАХ, СИНТЕЗИРУЕМЫХ СТРЕПТОМИЦЕТАМИ, И ИХ ВЛИЯНИИ НА ПРОЦЕССЫ ОБУЧЕНИЯ И ПАМЯТИ…… 7
2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ…… 7
3. ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ, ВХОДЯЩИХ В СОСТАВ БИОМАССЫ ШТАММОВ *STREPTOMYCES MASSASPOREUS* CNMN-AC-06 И *STREPTOMYCES FRADIAE* CNMN-AC-11, ИСПОЛЬЗУЕМОЙ В ОПЫТАХ ПО ИЗУЧЕНИЮ ПРОЦЕССОВ ОБУЧЕНИЯ И ПАМЯТИ…… 9
4. ВЛИЯНИЕ БИОМАССЫ СТРЕПТОМИЦЕТОВ НА ПРИРОСТ МАССЫ ТЕЛА, ПЛОДОВИТОСТЬ БЕЛЫХ КРЫС И РАЗВИТИЕ КРЫСЯТ…… 11
5. СРАВНИТЕЛЬНОЕ ВЛИЯНИЕ НА ОБУЧЕНИЕ И СОХРАНЕНИЕ СЛЕДА ПАМЯТИ БИОМАССЫ ШТАММОВ *STREPTOMYCES MASSASPOREUS* CNMN-AC-06 И *STREPTOMYCES FRADIAE* CNMN-AC-11, ВЫРАЩЕННЫХ НА КОМПЛЕКСНОЙ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ SP-I…….. 13
6. ОСОБЕННОСТИ ОБУЧЕНИЯ И ПАМЯТИ БЕЛЫХ КРЫС ПОД ДЕЙСТВИЕМ БИОМАССЫ ШТАММА *STREPTOMYCES MASSASPOREUS* CNMN-AC-06, ВЫРАЩЕННОГО НА СРЕДЕ SP-I С ДОБАВЛЕНИЕМ ПАРААМИНОБЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТЫ…… 21

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ…… 25

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ…… 26

БИБЛИОГРАФИЯ…….. 26

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ АВТОРА ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ……..... 28

ADNOTARE ……..... 31

ANNOTATION…….. 32

АННОТАЦИЯ …….. 33

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Исследование обучения и памяти на разных уровнях организации, несмотря на свою длительную историю, остается одним из центральных разделов как нейрофизиологии, так и фундаментальной науки вообще. Обучение – это сложный процесс формирования нового поведения, и его всестороннее изучение является важным для понимания механизмов функционирования нервной системы. Нейрологическая память является жизненно важным процессом, обеспечивающим приспособление живого организма ко внешней среде, адаптивные изменения в поведении, в работе нервных сетей, в молекулярной субклеточной структуре. Обучение и память тесно связаны между собой, имея фундаментальное значение для живого организма [15, 20].

В соответствии с концепцией о психическом здоровье, процессы научения рассматриваются как процессы формирования психофункциональных и оценочно-исполнительных систем [7, 9]. Согласно концепции о саногенной памяти, память - это психический процесс адекватного отражения реальности через запоминание (запечатление, закрепление), хранение (сохранение, обеспечение), распознавание и последующее воспроизведение объективной информации, ощущений, эмоций, движений, знаний предыдущего опыта, детерминирующее креативную и саногенную жизнедеятельность, объективный анализ и интерпретацию событий, феноменов, организацию рациональной повседневной деятельности, ориентацию во времени, пространстве, субъективном и объективном мире в соответствии с реальной ситуацией [10].

Выяснение причин преждевременного старения мозга, сопровождающегося нарушением когнитивных процессов, в том числе, памяти и поиск способов его профилактики приобрели в настоящее время особую актуальность. Неполноценное питание, стрессы, неблагоприятные воздействия окружающей среды, заболевания, активирующие свободно-радикальные процессы, способствуют раннему старению организма. В результате данных процессов человечество стало гораздо больше сталкиваться с патологиями, которые сопровождаются нейродегенеративными процессами, такими как болезни Альцгеймера, Паркинсона и др. [16, 27, 35], они быстро прогрессируют, особенно, в развитых странах [36], и одними из наиболее важных причин увеличения распространённости когнитивных нейропсихических нарушений является хронический психогенный стресс, стрессогенный образ жизни, резкие изменения условий жизнедеятельности современного человека [8, 9].

Одним из перспективных направлений профилактики и коррекции когнитивной патологии на начальных стадиях нейродегенеративных заболеваний представляется комплексное применение нейропротекторов, имеющих разные мишени, или препаратов, сочетающих ноотропную активность с нейропротективными свойствами. В этой связи, одним из способов решения проблемы преждевременного угасания памяти является поиск веществ с нейропротекторными и антиоксидантными свойствами, влияющими на различные нейрональные образования головного мозга, участвующими в процессах обучения и памяти [16, 23]. Санокреатологические подходы к повышению саногенности организма и предотвращению ранней деградации функций, в том числе, психических, включают и получение саногенных веществ природного происхождения [8].

В последние годы получены данные, свидетельствующие о влиянии метаболитов биомассы определенных штаммов стрептомицетов и их компонентов на способность предотвращать нейродегенерацию, спровоцированную окислительным стрессом, показано их значение как мощных нейропротекторных веществ в условиях индукции липидной пероксидации [18, 30]. В настоящее время известен ряд вторичных метаболитов, синтезируемых штаммами стрептомицетов, обладающих значительными антиоксидантными свойствами [16, 18, 29, 30]. Более того, некоторые из метаболитов стрептомицетов обладают способностью стимулировать нейритогенез, оказывая влияние на ультраструктурную организацию различных нейрональных образований головного

мозга [25, 33] и дифференцировку нейральных стволовых клеток [14]. Несмотря на увеличивающееся число сообщений о воздействии продуктов жизнедеятельности стрептомицетов на нейрональные процессы, их влияние на поведение животных еще очень мало исследовано. Ранее было обнаружено, что длительное потребление белыми крысами обоих полов культуральной жидкости и, особенно, биомассы штаммов *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 и *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11, выделенных из почв центральной части Республики Молдова, облегчает выработку оборонительных условных рефлексов и способствует увеличению скорости целенаправленных двигательных реакций [11, 12, 28]. При изучении воздействия вторичных метаболитов *Streptomyces avermectilis* и *Streptomyces lincolniensis* авермектинов доракмектина и ивермектина на поведенческие реакции белых крыс был выявлен, в частности, их анксиолитический эффект. С использованием методик «Открытое поле», «Приподнятый крестообразный лабиринт», а также «Конфликтное поведение» было обнаружено, что в терапевтических дозах вторичные метаболиты стрептомицетов снижают уровень тревожности и стресса, защищают крыс от судорожных эффектов пентилентетразола и пикротоксина [32].

Исследование когнитивных процессов животных с помощью чувствительных, надежных нейроповеденческих тестов является особенно важным источником информации об их изменениях, происходящих под влиянием пищевых или фармакологических препаратов, и обладает неоспоримым преимуществом по сравнению с моделями *in vitro*, позволяет точно оценить их способность к обучению, восприятию пространства, сохранность следа памяти, выявить наличие нарушений деятельности определенных отделов мозга [19, 26].

Исходя из литературных данных, можно обоснованно предположить наличие в биомассе стрептомицетов вторичных метаболитов, способных стимулировать и поддерживать нейрональные процессы, лежащие в основе обучения и памяти. В частности, одними из таких метаболитов являются бензастатины, которые демонстрируют мощную антиоксидантную и нейропротекторную активность [21]. В связи с этим было принято решение использовать при культивировании стрептомицетов на питательной среде парааминобензойную кислоту (ПАБК), которая является исходным материалом для синтеза бензастатинов - алкалоидов различных групп, ряд которых являются одними из наиболее распространенных и мощных антиоксидантов с нейропротекторными свойствами [13, 22].

Цель исследования состоит в изучении особенностей обучения и памяти белых крыс в условиях длительного потребления биомассы штаммов *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 и *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11, выделенных из почв центральной части Республики Молдова.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие **задачи:**

– изучить биосинтетические свойства штаммов *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 и *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11, культивированных на средах разного состава, для получения биомассы, предположительно, оказывающей наибольшее влияние на обучение и память;

– исследовать особенности динамики массы тела, плодовитости белых крыс и развития крысят под действием биомассы стрептомицетов;

– изучить особенности обучения и памяти белых крыс в условиях длительного потребления биомассы штаммов *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 и *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11, культивированных на комплексной питательной среде SP-I;

– исследовать особенности обучения и памяти белых крыс под действием биомассы штамма *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06, выращенного на среде SP-I с добавлением парааминобензойной кислоты.

Гипотеза исследования: стимуляция процессов условно-рефлекторного и пространственного обучения, активация рабочей памяти и увеличение длительности хранения следов памяти у белых крыс возможна путем потребления биомассы местных штаммов стрептомицетов *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 и *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11, а добавление в питательную среду для культивирования стрептомицетов

парааминобензойной кислоты может привести к усилению эффективности биомассы в отношении процессов обучения и памяти.

Новизна исследования: Впервые выявлено стимулирующее влияние биомассы стрептомицетов на процесс пространственного обучения и памяти белых крыс в восьмирукавном радиальном лабиринте и водном лабиринте Морриса. Впервые обнаружено, что добавление в питательную среду ПАБК существенно усиливает стимулирующий эффект биомассы в отношении условно-рефлекторного и пространственного обучения и памяти. Получены новые данные об особенностях влияния биомассы стрептомицетов в отношении условно-рефлекторного обучения и памяти у крыс разного возраста, свидетельствующие о ее нейропротекторном эффекте. Получены новые данные о стимулирующем влиянии биомассы стрептомицетов, культивированных на питательной среде с добавлением ПАБК, в отношении массы тела и плодовитости, которые запатентованы. Предложена новая питательная среда для культивирования штамма *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, улучшающая его биосинтетические свойства, разработка которой завершена патентованием.

Решенная научная проблема в диссертации: состоит в получении новых научно обоснованных знаний об особенностях условно-рефлекторного и пространственного обучения и памяти у белых крыс в условиях потребления ими в качестве пищевой добавки биомассы местных штаммов стрептомицетов с применением комплекса физиологических (поведенческих), биохимических и микробиологических методов, что привело к установлению существенного стимулирующего влияния биомассы на исследуемые когнитивные процессы и позволило продемонстрировать перспективность штаммов *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 и *S. fradiae* CNMN-Ac-11 для получения новых биологически активных веществ с нейропротекторными и ноотропными свойствами, а также предложить новую питательную среду для культивирования стрептомицетов с добавлением ПАБК, применение которой позволяет повысить эффективность биомассы в отношении процессов обучения и памяти.

Принципиально новые результаты для науки и практики: на основе современных физиологических (поведенческих), микробиологических и биохимических методов получены принципиально новые результаты о влиянии биомассы стрептомицетов на процессы обучения и памяти белых крыс, а также о предположительном наличии в биомассе стрептомицетов вторичных метаболитов с выраженными нейропротекторными и антиоксидантными свойствами.

Теоретическое значение: Полученные результаты расширяют и углубляют научные представления об особенностях процессов условно-рефлекторного и пространственного обучения и памяти под влиянием биологически активных веществ микробного происхождения с нейропротекторными и нейростимулирующими свойствами.

Прикладная значимость: Полученные результаты демонстрируют перспективность дальнейших исследований штаммов *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 и *S. fradiae* CNMN-Ac-11 для выделения и идентификации биологически активных веществ с нейропротекторными и ноотропными свойствами. Получена новая питательная среда для культивирования штамма *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 с добавлением ПАБК, с помощью которой улучшены его биосинтетические свойства, усилен стимулирующий эффект биомассы на процессы обучения и памяти. Полученные результаты демонстрируют возможность получения на основе биомассы местных штаммов стрептомицетов новых препаратов с целью стимуляции привесов и плодовитости сельскохозяйственных животных.

Внедрение научных результатов: результаты внедрены в учебный процесс естественного-географического факультета ПГУ им. Т.Г. Шевченко. Получены 2 патента, 4 медали на международных выставках инноваций.

Апробация работы: Материалы диссертации представлены на следующих международных конференциях: 24-ая Международная Пущинская школа-конференция молодых ученых «Биология – наука XXI века» (Пущино, 2020); Conferinţa ştiinţifica

Microbial Biotechnology (Chișinău, 2022). Конференции с международным участием: Conferinţa ştiinţifico-practică cu participare internaţională „Instruire prin cercetare pentru o societate prosperă” (Chișinău, 2021); Life sciences in the dialogue of generations: connections between universities, academia and business community (Chișinău, 2022, 2023). Республиканские конференции: Tendinţe contemporane ale dezvoltării ştiinţei: viziuni ale tinerilor cercetători (Chișinău, 2019, 2020); Metodologii contemporane de cercetare şi evaluare: Ştiinţe biologice şi chimice, Ştiinţe fizice şi matematice, Ştiinţe economice (Chișinău, 2021); Conferinţa Ştiinţifică Naţională, consacrată jubileului de 95 ani din ziua naşterii academicianului Boris Melnic (Chișinău, 2023).

Материалы диссертации были апробированы на Международных выставках инноваций: European exibition of creativity and innovation „Euroinvent” (Iaşi, 2023); The 27rd internaţional exhibition of inventics „INVENTICA” **(**Iaşi, 2023); Salonul Internaţional de Invenţii şi Inovaţii ,,TRAIAN VUIA” **(**Timişoara, 2023); Salonul Internaţional al Cercetării ştiinţifice, Inovării şi Invenţii (Cluj-Napoca, 2023), на которых получены 4 Медали.

Личный вклад автора. Диссертационная работа основана на материалах исследований обучения и памяти белых крыс под влиянием биомассы стрептомицетов, выполненных автором за период 2018-2023 гг., автором сформулирована научная проблема, поставлены цель и задачи, проанализированы результаты исследований, сформулированы общие выводы и практические рекомендации.

Публикации по теме диссертации. По теме диссертации опубликованы 23 научные работы (в том числе, 3 без соавторов): статьи в научных журналах из базы данных Web of Science, SCOPUS – 3, статьи в научных журналах из Национального Реестра профильных журналов – 1, публикации в материалах международных научных конференций – 10, в материалах национальных научных конференций с международным участием – 3, статьи в материалах национальных научных конференций – 4, патенты – 2.

Объем и структура работы. Диссертация представлена на 125 страницах основного текста, который включает: аннотацию (на русском, румынском и английском языках), введение, 6 глав, общие выводы, рекомендации, 5 приложений. Работа содержит 5 таблиц, 47 рисунков и список литературы, включающий 192 наименования.

Ключевые слова: белые крысы, условно-рефлекторное и пространственное обучение, рабочая и долговременная память, стрептомицеты, биомасса, парааминобензойная кислота, аминокислоты, липиды.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ВО ВВЕДЕНИИ освещается актуальность, научное и практическое значение изучения процессов обучения и памяти, в том числе под влиянием метаболитов стрептомицетов, указываются цель и задачи исследования, методологическая и научно-теоретическая основа работы и ее научная новизна.

1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О МЕХАНИЗМАХ НЕЙРОЛОГИЧЕСКОЙ ПАМЯТИ, БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВАХ, СИНТЕЗИРУЕМЫХ СТРЕПТОМИЦЕТАМИ, И ИХ ВЛИЯНИИ НА ПРОЦЕССЫ ОБУЧЕНИЯ И ПАМЯТИ

Проведен анализ научных публикаций и синтез накопленных знаний в области нейрохимических и молекулярных механизмов различных видов памяти с нейрофизиологической точки зрения, а также современных научных данных о физиологических эффектах метаболитов стрептомицетов и, в частности, их влиянии на нейрональные процессы, лежащие в основе обучения и памяти.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования служили 246 белых крыс линии *Wistar* (144 самца и 102 самки) в возрасте от 2-х до 6,5 месяцев (молодые) и возрасте от 12-ти до 16,5 месяцев

(старые), содержавшихся в стандартных условиях вивария при свободном доступе к воде и пище, 12/12-часовом режиме освещения и темноты с учетом рекомендаций Европейской конвенции о гуманном обращении с лабораторными животными [2].

Для кормления животных использовалась биомасса двух штаммов стрептомицетов, выделенных из почв центральной части Республики Молдова, и находящихся на хранении в Национальной коллекции непатогенных микроорганизмов Института микробиологии и биотехнологии: *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 и *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11. Животные опытных групп, начиная с возраста 2-х месяцев (молодые) либо с 12-ти месяцев (старые), в течение 90 суток в качестве пищевой добавки к стандартному рациону питания получали высушенную биомассу штаммов *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 или *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11, культивированных на питательных средах различного состава, ежедневно в дозе 250 мг/кг массы тела. Животные контрольных групп в этот же период времени получали стандартный рацион питания без добавления биомассы.

Продуктивность штаммов стрептомицетов зависит от состава питательной среды. Для определения наиболее продуктивного штамма в отношении количества биомассы, необходимой для кормления животных, а также в отношении липидного состава (общие липиды и липидные фракции), культивировали исследуемые штаммы на трех различных питательных средах (г/л): M-I (кукурузная мука – 20,0, дрожжи – 0,5, $CaCO_3$ – 0,15, pH 7,0-7,2); SP-I (кукурузная мука – 20,0, соевая мука – 10,0, NaCl – 0,5, $CaCO_3$ – 1,0, pH 7,0-7,2); SP-III (кукурузная мука – 20,0, соевая мука – 10,0, NaCl – 0,5, $CaCO_3$ – 1,0, K_2HPO_4 - 3,0, pH 7,0-7,2) [6, 17]. Экстракцию внутриклеточных липидов из биомассы проводили методом Фолча [4]. Качественный и количественный состав липидов определяли методом тонкослойной хроматографии на пластинках “Sorbfil” и денситометрическим методом [31].

С целью исследования вклада антиоксидантной нейропротекторной активности метаболитов стрептомицетов – бензастатинов в нейрофизиологические эффекты биомассы, при культивировании стрептомицетов использовали питательные среды с добавлением ПАБК, являющейся исходным материалом для синтеза бензастатинов [21]. Проводили культивирование штамма *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 на питательной среде SP-I, содержащей различное количество ПАБК (1 – 0,685; 2 – 1,37; 3 – 2,74 г/л) и выполняли сравнительное исследование количества биомассы, общих липидов, липидных фракций и аминокислот в зависимости от содержания ПАБК в питательной среде по сравнению с контролем (стандартная среда SP-I).

Для определения аминокислотного состава биомассы штамма *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06, культивированного на среде с добавлением ПАБК, использовали метод ионообменной хроматографии на аминокислотном анализаторе AAA-339 M „Microtehna” [1].

Проводили изучение токсикологических свойств биомассы штаммов стрептомицетов, культивированных на питательной среде, содержащей и не содержащей ПАБК [5], а также ее влияние на динамику массы тела, плодовитость белых крыс и постнатальное развитие крысят. Массу тела животных регистрировали каждые 7 дней на электронных лабораторных весах A-2500 фирмы “Axis” (Польша). Исследования массы тела проводили как в обычных физиологических условиях, так и при тепловом стрессе. Животные, которые подвергались тепловому стрессированию, находились в течении 2-х недель ежедневно в помещении, где температура воздуха на протяжении 4-х часов составляла +34+36°C.

Для исследования процесса условно-рефлекторного обучения с аверсивным подкреплением под влиянием биомассы стрептомицетов использовался метод выработки условной реакции активного избегания (УРАИ) электрокожного болевого стимула [3]. Обучение крыс проводили по методике двустороннего активного избегания в челночной камере. С целью изучения процессов условно-рефлекторной памяти и угасания условного рефлекса определяли динамику латентного периода реакции избегания (ЛПРИ). Динамику ЛПРИ исследовали на 5-е, 10-е, 15-е, 20-е, 30-е и 45-е сутки после проведения эксперимента по выработке условных рефлексов активного избегания.

С целью исследования пространственного обучения и памяти под влиянием биомассы стрептомицетов использовались поведенческая установка «Восьмирукавный радиальный лабиринт» (ВРЛ) (с пищевым подкреплением) и современная и хорошо зарекомендовавшая себя в лабораториях различных стран методика «Водный лабиринт Морриса» (ВЛМ) [19, 24, 26]. Эти методики позволяют исследовать процессы пространственного обучения и памяти (рабочей и долговременной), где рабочая память рассматривается как оперативная составляющая кратковременной памяти. Важным показателем процесса обучения и тестирования в ВРЛ является: средний балл пространственной памяти (СБПП) с различной длительностью фазы задержки (ДФЗ) 30 с и 10 мин. На 30-й день эксперимента оценивали пространственную долговременную память. С помощью ВЛМ исследовали длительность латентного периода, в течение которого крыса находила платформу и забиралась на нее (ЛП, с), и длину пройденного пути, который животное проходило от места помещения в воду до платформы (ПП, см), определяли время нахождения в каждом из секторов (%). На 5-й, 9-й и 30-й дни эксперимента оценивали активацию пространственной долговременной памяти и длительность удержания следов памяти.

Полученные данные статистически обрабатывали методом ANOVA с применением t-критерия Стьюдента.

3. ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ, ВХОДЯЩИХ В СОСТАВ БИОМАССЫ ШТАММОВ *STREPTOMYCES MASSASPOREUS* CNMN-AC-06 И *STREPTOMYCES FRADIAE* CNMN-AC-11, ИСПОЛЬЗУЕМОЙ В ОПЫТАХ ПО ИЗУЧЕНИЮ ПРОЦЕССОВ ОБУЧЕНИЯ И ПАМЯТИ

Исследуемые штаммы культивировали на трех комплексных жидких средах, состав которых представлен выше. Результаты проведенных исследований показали, что при культивировании штамма *S. fradiae* CNMN-Ac-11 на питательной среде SP-III выход биомассы существенно выше, чем на средах M-I и SP-I (в 1,61 и 1,52 раза, соответственно). В тоже время, у штамма *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 наибольший выход биомассы наблюдается при культивировании на питательной среде SP-I (Табл. 3.1).

Таблица 3.1. Образование биомассы и общих липидов у штаммов *S. fradiae* CNMN-Ac-11 и *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 при культивировании на комплексных средах

Питательная среда	***АСБ, г/л***		***Общие липиды, % в АСБ***	
Штамм	***Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11**	***Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06**	***Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11**	***Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06**
M-I	5,95±1,26	10,56±1,29	8,76±1,02	11,96±0,29
SP-I	6,09±2,60	11,53±0,83**	15,85±0,49*,**	19,52±0,45*,**
SP-III	9,61±0,28*,**	9,86±0,49*	12,76±0,26*	13,52±0,67

Примечание. * – достоверные различия SP-I и/или SP-III по сравнению с M-I (P<0,05), ** – достоверные различия между SP-I и SP-III (P<0,01-0,05)

При определении доли общих липидов в абсолютно сухой биомассе (АСБ) в зависимости от среды культивирования было обнаружено, что наибольшее их содержание в биомассе как у штамма *S. fradiae* CNMN-Ac-11, так и *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 наблюдается при культивировании на среде SP-I (достоверно по сравнению с M-I и SP-I), а наименьшее – на среде M-I (Табл. 3.1).

Результаты исследования липидных фракций (фосфолипиды, стерины, триглицериды и другие) показали, что наибольшее количество фосфолипидов (в проценте от общих липидов), которые играют важную роль в передаче нервных импульсов и

синаптической пластичности, являющихся важными параметрами процессов памяти, отмечено при культивировании штамма *S. fradiae* CNMN-Ac-11 на средах SP-I и SP-III (11,11±1,87 и 11,96±1,12%, соответственно), а штамма *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 – на среде SP-I (12,15±0,98%).

Таким образом, результаты опытов показали, что комплексная питательная среда SP-I в наибольшей степени способствует увеличению количества биомассы штаммов *S. fradiae* CNMN-Ac-11 и *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, содержания в ней общих липидов, и, что особенно важно, – увеличению количества такой физиологически важной липидной фракции как фосфолипиды. Поэтому для дальнейших исследований была выбрана комплексная питательная среда SP-I.

С целью исследования вклада антиоксидантной нейропротекторной активности метаболитов стрептомицетов – бензастатинов в нейрофизиологические эффекты биомассы при культивировании штамма *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 использовали питательную среду SP-I с добавлением ПАБК в трех концентрациях: 0,685, 1,37 и 2,74 г/л. В результате проведенных исследований установлено, что добавление в питательную среду ПАБК во всех концентрациях, особенно, 1,37 г/л, способствует увеличению количества биомассы, а добавление ПАБК в дозах 1,37 и 2,74 г/л примерно в равной степени способствует увеличению содержания в биомассе общих липидов (Табл. 3.2).

Таблица 3.2. Накопление биомассы и липидов штаммом *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 при культивировании на комплексной среде SP-I с добавлением ПАБК

Среда культивирования	***Биомасса***		***Общие липиды***	
	АСБ, г/л	***% к контролю***	***Липиды, г/л***	***% к контролю***
1) SP-I – (контроль)	7,99±1,12	-	1,48±0,19	-
2) SP-I + ПАБК (0,685 г/л)	10,91±1,07*	136,54*	1,49±0,14	100,84
3) SP-I+ ПАБК (1,37 г/л)	24,99±1,1*	312,76*	1,96±0,08*	132,28*
4) SP-I+ПАБК (2,74 г/л)	15,41±0,78*	192,86*	1,85±0,12*	124,94*

Примечание. * – достоверные различия по сравнению с контролем (P<0,05).

На рисунке 3.1 показано, что при добавлении в питательную среду SP-I ПАБК в концентрациях от 0,685 до 2,74 г/л происходит изменение соотношения липидных фракций. При этом доля фосфолипидов увеличивается при максимальной концентрации ПАБК, доля стеринов и триглицеридов – при добавлении ПАБК в любой из вышеуказанных концентраций, в наибольшей степени – при концентрации ПАБК 1,37 г/л.

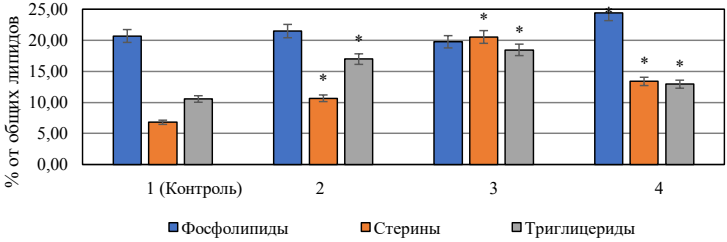


Рис. 3.1. Количество основных липидных фракций биомассы штамма *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 после культивирования на комплексной среде SP-I с добавлением ПАБК. По оси абсцисс среды культивирования: 1– SP-I (контроль); 2 – SP-I + ПАБК 0,685 г/л; 3 – SP-I+ ПАБК 1,37 г/л; 4 – SP-I+ПАБК 2,74 г/л, *– достоверные различия по сравнению с контролем (P<0,01-0,05)

Нами были проведены исследования содержания аминокислот в биомассе штамма *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 при культивировании на комплексной питательной среде SP-I с

добавлением ПАБК. До настоящего времени липидный и аминокислотный состав биомассы стрептомицетов, изменение ее количества при добавлении в питательную среду ПАБК не были исследованы.

Проведенный анализ содержания аминокислот (выявлено 16 аминокислот) в биомассе штамма *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 показал, что количество аминокислот, особенно необходимых по современным представлениям для процессов обучения и памяти, по сравнению с контролем увеличилось при добавлении в среду для культивирования ПАБК в трех концентрациях (0,685, 1,37 и 2,74 г/л): аспарагиновая кислота (на 32,48±2,01, 63,69±1,75 и 64,09±1,12%, соответственно), треонин (на 48,54±1,47, 57,28±1,09 и 28,15±2,68%, соответственно), пролин (на 15,38±2,13, 46,39±1,78 и 39,17±1,42%, соответственно), фенилаланин (на 30,30±1,78, 31,06±1,32 и 11,36±2,12%, соответственно). Содержание аргинина увеличилось при добавлении ПАБК в дозе 1,37 и 2,74 г/л (на 31,48±2,12 и 42,59±1,68%, соответственно), а глутаминовой кислоты и глицина увеличилось при добавлении ПАБК 1,37 г/л. Анализ содержания аргинина показал тенденцию к увеличению при добавлении в среду ПАБК 0,685 г/л, а цистеина – при добавлении ПАБК в дозе 0,685 и 2,74 г/л. В результате можно сделать вывод, что питательная среда SP-I с добавлением ПАБК 1,37 г/л – лучшая для получения биомассы с оптимальным аминокислотным составом при исследовании процессов обучения и памяти.

Таким образом, оптимизация комплексной питательной среды SP-I добавлением ПАБК способствует увеличению выхода биомассы штамма *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, содержания в ней общих липидов, фосфолипидов и стеринов, а также приводит к увеличению содержания аминокислот, в том числе, особенно необходимых для процессов обучения и памяти. Наибольшую эффективность в отношении образования биомассы, общих липидов, их фракций и аминокислот демонстрирует добавление ПАБК в дозе 1,37 г/л.

4. ВЛИЯНИЕ БИОМАССЫ СТРЕПТОМИЦЕТОВ НА ПРИРОСТ МАССЫ ТЕЛА, ПЛОДОВИТОСТЬ БЕЛЫХ КРЫС И РАЗВИТИЕ КРЫСЯТ

Проводили исследования по изучению субхронической токсичности биомассы штаммов *S. fradiae* CNMN-Ac-11 и *S. massasporeu*s CNMN-Ac-06, культивированных на питательной среде SP-I, а также штамма *S. massasporeu*s CNMN-Ac-06, культивированного на среде SP-I с добавлением ПАБК. Биомассу давали в смеси с кормом в терапевтической дозе (250 мг/кг массы тела) и дозе, трехкратно превышающей терапевтическую, в течение 90 дней. Результаты исследований показали, что биомасса исследуемых штаммов не оказывала отрицательного влияния на клиническое состояние белых крыс, не было выявлено каких-либо изменений в поведении в сравнении с контролем, получавшим стандартный рацион питания. Гибели животных на протяжении всего опыта, а также отклонений и особенностей в строении органов белых крыс при патоморфологическом исследовании не было выявлено. Коэффициенты массы внутренних органов белых крыс существенно не отличались от показателей контроля, что свидетельствует об отсутствии какого-либо токсического влияния биомассы штаммов стрептомицетов на организм животных и их хорошей переносимости.

При изучении динамики массы тела в условиях потребления белыми крысами обоих полов биомассы стрептомицетов было установлено, что в обычных физиологических условиях привесы крыс-самцов, потреблявших биомассу штаммов *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 (BM1) и *S. fradiae* CNMN-Ac-11 (BM2), достоверно выше по сравнению с контролем на 5-6-й и 8-й неделях эксперимента (Рис. 4.1). У животных, потреблявших биомассу штамма *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, культивированного на среде, содержащей 1,37 г/л ПАБК (BM1PABA1), привесы достоверно выше на 2-3-й и 6-10-й неделях эксперимента по сравнению с животными как контрольной группы, так и BM1 (Рис. 4.1). В то время, как у крыс, потреблявших биомассу штамма *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, культивированного на среде, содержащей 2,74 г/л ПАБК (BM1PABA2), привесы выше только на 4-й и 9-10-й

неделях эксперимента по сравнению с группами контроля и ВМ1. Исследования динамики массы тела крыс-самок, потреблявших биомассу штаммов стрептомицетов, культивированных как на стандартной питательной среде, так и с добавлением ПАБК, показали сходные результаты с крысами-самцами.

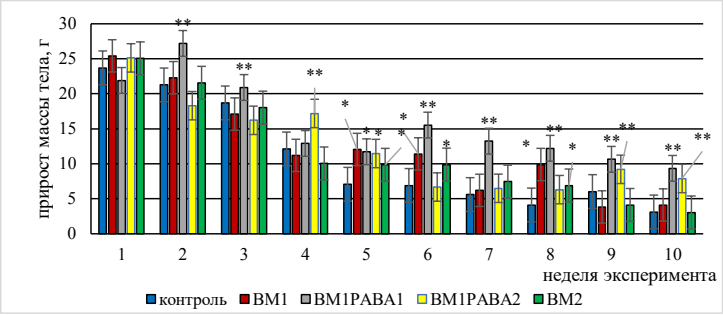


Рис. 4.1. Динамика привесов самцов белых крыс при потреблении биомассы штаммов *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 и *S. fradiae* CNMN-Ac-11, культивированных на стандартной питательной среде SP-I и питательной среде, содержащей ПАБК, в обычных физиологических условиях, * – достоверные различия по сравнению с контролем (P<0,01-0,05), ** – достоверные различия по сравнению с ВМ1 (P<0,01-0,05)

В условиях стрессирования (3-4-ая недели эксперимента) привесы у животных, потреблявших ВМ1 и ВМ2, снижались в меньшей степени, чем у контроля, а у животных, потреблявших с кормом биомассу штамма *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, культивированного на среде, содержащей ПАБК, привесы в условиях стресса достоверно выше, чем у животных групп, потреблявших биомассу штаммов стрептомицетов без ПАБК, что свидетельствует о повышении резистентности их организма к действию теплового стресса. В постстрессовый период (5-10-ая недели эксперимента) привесы животных, потреблявших ВМ1РАВА1 и ВМ1РАВА2, были примерно в равной степени выше, чем у животных контрольной группы и ВМ1, тем самым способствуя более интенсивному восстановлению физиологических возможностей после воздействия неблагоприятных экологических условий. В тоже время, привесы ВМ1 достоверно выше на 7-й и 9-й неделях эксперимента по сравнению с контролем, а ВМ2 – только на 6-й неделе (Рис. 4.2).

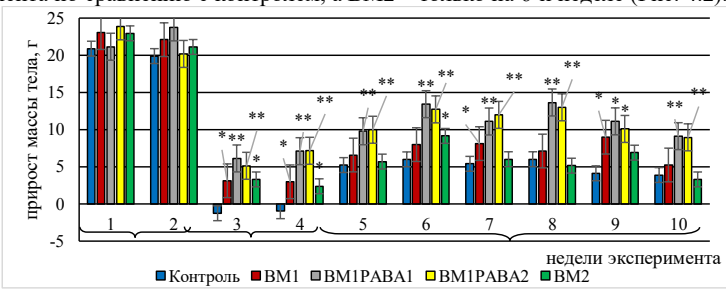


Рис. 4.2. Динамика привесов самцов белых крыс при потреблении биомассы штаммов *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 и *S. fradiae* CNMN-Ac-11, культивированных на стандартной питательной среде SP-I и питательной среде, содержащей ПАБК, в условиях теплового стресса, * – достоверные различия по сравнению с контролем (P<0,05), ** – достоверные различия по сравнению с ВМ1 (P<0,05)

При исследовании влияния биомассы стрептомицетов на плодовитость белых крыс было установлено, что добавление к основному рациону биомассы штамма *S. massasporeus*

CNMN-Ac-06, культивированного на питательной среде, содержащей ПАБК в дозе 1,37 г/л (BM1PABA1), способствует существенному повышению их плодовитости, снижению постнатальной смертности крысят и увеличению массы тела крысят после рождения и на протяжении первых 6 недель их постнатального развития (Табл. 4.1).

Таблица 4.1. Показатели репродуктивной функции белых крыс и развития крысят при потреблении биомассы штаммов *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 и *S. fradiae* CNMN-Ac-11, культивированных на стандартной питательной среде SP-I и питательной среде, содержащей ПАБК

Исследуемые показатели	Группы животных			
	Контроль	***BM1***	***BM1PABA1***	***BM2***
Количество новорожденных крысят на одну самку, абс.	10,50±1,2	12,23±0,75 *	13,81±0,41 *	11,84±0,67 *
Индекс плодовитости, % к контролю	-	116,47±1,12*	131,52±0,68*	107,33±0,98*
Постнатальная смертность крысят через 3 недели, абс.	9	5*	2*	6*
Масса тела новорожденных крысят, г	4,85±1,18	5,71±0,75 *	6,90±0,62 *	5,98±0,54*
Динамика массы тела крысят, г				
1 неделя	7,12±0,78	9,44±0,60 *	11,80±1,2 *	8,58±0,64 *
2 недели	11,20± 1,02	15,71±0,98*	18,49±0,96 *	14,81±0,76*
3 недели	18,51±0,93	26,31±1,09 *	32,14±1,02*	24,78±0,98 *
4 недели	30,53±1,53	35,40±2,30	53,43±1,77 *	37,13±1,90*
5 недель	54,90±2,02	65,13±3,02	78,01±3,24 *	64,21±3,13
6 недель	74,08±3,78	88,57±4,54 *	99,10±6,18 *	86,71±3,98 *

Примечание. * – достоверные различия по сравнению с контролем (P<0,05)

Таким образом, потребление белыми крысами биомассы штаммов *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 и *S. fradiae* CNMN-Ac-11, культивированных на питательной среде SP-I, способствует увеличению привесов массы тела и плодовитости. Добавление в питательную среду ПАБК способствует более существенному увеличению прироста массы тела как в обычных физиологических условиях, так и при тепловом стрессе по сравнению с контролем и биомассой, полученной при культивировании штаммов стрептомицетов на стандартной питательной среде, а также способствует существенному повышению плодовитости белых крыс, снижению постнатальной смертности крысят и увеличению массы тела крысят после рождения и на протяжении первых 6 недель их постнатального развития.

5. СРАВНИТЕЛЬНОЕ ВЛИЯНИЕ НА ОБУЧЕНИЕ И СОХРАНЕНИЕ СЛЕДА ПАМЯТИ БИОМАССЫ ШТАММОВ *STREPTOMYCES MASSASPOREUS* CNMN-AC-06 И *STREPTOMYCES FRADIAE* CNMN-AC-11, ВЫРАЩЕННЫХ НА КОМПЛЕКСНОЙ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ SP-I

Исследования процесса условно-рефлекторного обучения с аверсивным подкреплением в челночной камере были выполнены на белых крысах-самцах разного возраста (молодые и старые). Анализ результатов выработки УРАИ показал, что у молодых животных обеих опытных групп, потреблявших биомассу штаммов *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 (BM1) либо *S. fradiae* CNMN-Ac-11 (BM2), наблюдается стимуляция условно-рефлекторной деятельности, что, в целом, подтверждает данные, полученные ранее в Институте физиологии и санокреатологии, о положительном влиянии метаболитов исследуемых штаммов стрептомицетов на процесс выработки у белых крыс УРАИ [11, 12]. Применение BM1 приводит к увеличению числа УРАИ у молодых крыс на 4-6-й и 8-10-й

дни эксперимента по сравнению с контролем, в то время, как при потреблении крысами ВМ2 доля условных рефлексов достоверно выше с 3-го по 10-й дни, а также 12-й и 14-й дни эксперимента (Рис. 5.1). Следует особо отметить, что применение ВМ2 в качестве пищевой добавки способствует достижению 100%-го уровня выработки УРАИ на 12-й и 14-й дни опыта.

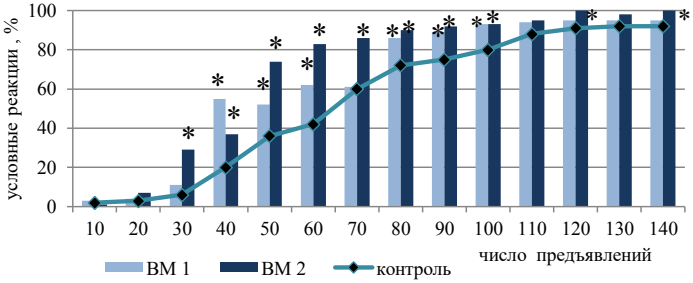


Рис. 5.1. Динамика условно-рефлекторного обучения с аверсивным подкреплением у молодых крыс при длительном потреблении биомассы штаммов *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 (ВМ1) и *S. fradiae* CNMN-Ac-11 (ВМ2),
* – достоверные различия по сравнению с контролем (P<0,05)

Согласно полученным результатам, у старых животных УРАИ вырабатываются гораздо медленнее, чем у молодых (Рис. 5.2). Так, на 5-й день опыта доля условно-рефлекторных побежек в их общем количестве составила у молодых крыс контрольной группы 36%, в то время, как у старых – 5%, на 10-й день молодыми животными был достигнут 80%-й уровень выработки условных рефлексов, у старых – немногим более 32%. Полученные данные могут свидетельствовать о развитии у старых крыс в этот период процессов нейродегенерации.

Сравнительный анализ влияния потребления животными биомассы *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 и *S. fradiae* CNMN-Ac-11 у молодых и старых животных показывает, что эффективность как ВМ1, так и ВМ2 существенно выше у старых крыс по сравнению с молодыми (Рис. 5.1 и 5.2). Так, добавление в корм белым крысам ВМ1 приводит к более выраженному эффекту в отношении процесса условно-рефлекторного научения у старых по сравнению с молодыми животными на 4-9-й дни эксперимента (более, чем в 2 раза).

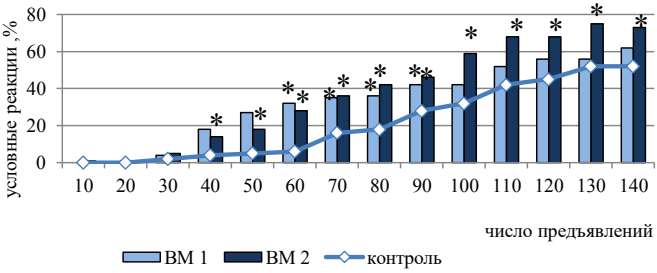


Рис. 5.2. Динамика условно-рефлекторного обучения с аверсивным подкреплением у старых крыс при потреблении биомассы штаммов *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 (ВМ1) и *S. fradiae* CNMN-Ac-11 (ВМ2), * – достоверные различия по сравнению с контролем (P<0,05)

При сравнении результатов эффективности ВМ2, полученных на молодых и старых животных, видно, что у старых крыс действие ВМ2 в отношении процесса научения

заметно более выражено: на 5-й день ВМ2 увеличивает долю условно-рефлекторных реакций в общем количестве побежек у молодых крыс менее чем в 2 раза, а у старых – в 4 раза, на 10-й день – у молодых животных – на 15,6%, а у старых – почти в 3 раза. Следует отметить, что у старых животных ВМ1 оказывает влияние на процесс обучения только на первой стадии эксперимента, в то время, как эффект ВМ2 сохраняется на протяжении всего эксперимента. Это может отражать специфику состава биомассы каждого из исследуемых штаммов стрептомицетов, а именно состава метаболитов, имеющих нейрофизиологические эффекты.

Сохранение следа памяти у белых крыс исследовали путем определения динамики ЛПРИ на протяжении 45 суток после выработки УРАИ. Добавление в корм молодым животным биомассы обоих штаммов стрептомицетов примерно в равной степени способствует снижению ЛПРИ на 40-е и 45-е сутки исследования. Следовательно, метаболиты, содержащиеся в биомассе стрептомицетов, способствуют предупреждению процессов забывания и улучшению процессов запоминания и хранения следа памяти (Рис. 5.3).

Фоновые значения ЛПРИ у старых крыс всех групп не имели статистически достоверных отличий. ЛПРИ у старых крыс прогрессивно увеличивался, начиная с 15-х суток после выработки УРАИ, намного интенсивнее, чем у молодых животных, что свидетельствует о более выраженном процессе угасания следов памяти (Рис. 5.4). У старых крыс при потреблении ВМ1 наблюдаются достоверно более низкие значения ЛПРИ на 30-е и 45-е сутки исследования по сравнению с контролем, а у животных, получавших ВМ2 – на протяжение всего эксперимента, начиная с 15-х суток. На основании этих данных можно предположить, что метаболиты, входящие в состав биомассы местных штаммов стрептомицетов, способствуют предупреждению преждевременного угасания памяти у старых животных и поддержанию процессов памяти в саногенных лимитах.

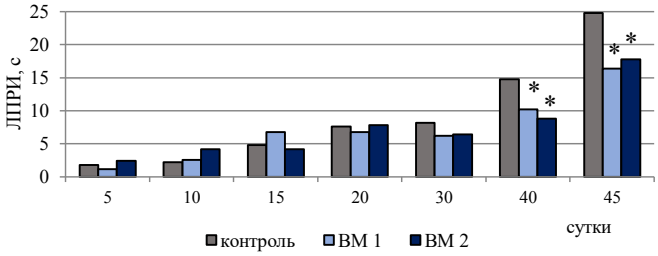


Рис. 5.3. Динамика ЛПРИ у молодых крыс в течение 45 суток после выработки УРАИ при потреблении биомассы штаммов *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 (ВМ1) и *S. fradiae* CNMN-Ac-11 (ВМ2), * – достоверные различия по сравнению с контролем (P<0,05)

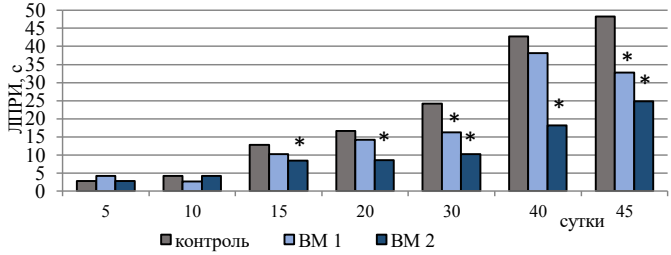


Рис. 5.4. Динамика ЛПРИ у старых крыс в течение 45 суток после выработки УРАИ при потреблении биомассы штаммов *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 (ВМ1) и *S. fradiae* CNMN-Ac-11 (ВМ2), * – достоверные различия по сравнению с контролем (P<0,05)

Таким образом, потребление биомассы штаммов стрептомицетов приводит к заметному облегчению процесса обучения навыку активного избегания и улучшению условно-рефлекторной памяти молодых и, особенно, старых животных. Как уже было упомянуто выше, из биомассы различных штаммов стрептомицетов выделен ряд «новых» ингибиторов перекисного окисления липидов и показано их значение как мощных нейропротекторных веществ в условиях индукции липидной пероксидации [18, 30]. Исходя из этого, можно предположить, что зафиксированный в работе эффект облегчения выработки оборонительных условных рефлексов под влиянием биомассы стрептомицетов обусловлен нейропротекторным действием входящих в ее состав антиоксидантов по отношению к индуцируемой в условиях болевого стрессирования, сопровождающего выработку УРАИ с электрокожным подкреплением в челночной камере, активации свободно-радикального окисления. Это предположение в определенной мере находит подтверждение в результатах экспериментов на старых животных. Тот факт, что эффективность применения биомассы стрептомицетов у старых животных существенно выше, чем у молодых, учитывая роль окислительного стресса в развитии возрастных нейродегенеративных изменений на фоне снижения активности многоуровневой антиоксидантной системы нервных клеток, свидетельствует в пользу предположения о нейропротекторном механизме эффектов метаболитов биомассы штаммов стрептомицетов в отношении процессов условно-рефлекторной деятельности и памяти. Исходя из наличия метаболитов стрептомицетов, обладающих способностью стимулировать нейритогенез и дифференцировку нейрональных стволовых клеток [14, 25, 33], нельзя исключить, что обнаруженный эффект биомассы исследуемых штаммов стрептомицетов обусловлен и ее влиянием на нейрональные процессы, лежащие в основе обучения и памяти.

Результаты исследования пространственного обучения и памяти под влиянием биомассы штаммов *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 (BM1) и *S. fradiae* CNMN-Ac-11 (BM2) с помощью ВРЛ с применением пищевого подкрепления показали, что длительное потребление белыми крысами обоих полов биомассы стрептомицетов способствует заметному увеличению числа корректных входов в рукава с извлечением пищевой награды и сокращению числа ошибок, т.е. любых некорректных входов в рукава, что приводит к заметному увеличению значения среднего балла пространственной памяти (СБПП), другими словами, способствует облегчению процесса обучения и активации рабочей памяти. Установлено, что потребление животными BM1 в большей степени увеличивает СБПП по сравнению с BM2 (Рис. 5.5-5.7), особенно, на втором этапе тестирования, после перерыва на 8 и 9 дни (Рис. 5.5 и 5.6), что способствует активации долговременной памяти на 10-й день опыта. Интересно отметить, что анализ динамики СБПП у крыс контрольных и опытных групп показывает, что длительность фазы задержки (ДФЗ) оказывает существенное влияние на процесс обучения, особенно, на 1-4 дни опыта. У белых крыс обоих полов практически во всех случаях СБПП при ДФЗ 10 мин заметно выше, чем при ДФЗ 30 с. Известно, что использование гильотинных дверей вызывает кратковременную реакцию замирания – поведение, которое обычно демонстрируют крысы в стрессовых ситуациях [34]. Открытие и закрытие дверей ВРЛ в начале фазы тестирования могли представлять собой неконтролируемый стрессор, нарушающий внимание крыс. В течение 10 минут эти стрессоры были рассредоточены во времени, что позволяло животным восстанавливаться после стрессовых раздражителей во время тестирования. Напротив, потенциально стрессовые стимулы действовали в течение короткого периода времени в условиях ДФЗ 30 с, и крысы, возможно, не смогли полностью восстановиться от первого стрессора до того, как возник последующий стрессор. Нарушалось внимание и ухудшалось обучение у крыс в условиях ДФЗ 30 с, но не 10 мин. Следует отметить, что эффективность биомассы стрептомицетов выше при ДФЗ 30 с по сравнению с 10 мин и, особенно, на начальном этапе опытов. Можно предположить, что это связано с их антиоксидантным действием, что способствовало снижению отрицательных последствий стресса в отношении нервных клеток. Однако, эффективность биомассы стрептомицетов остается существенной и при ДФЗ 10 мин, а также на втором этапе обучения, после привыкания

животных и снижения уровня стресса. Это позволяет предположить о наличии в составе биомассы стрептомицетов наряду с метаболитами с антиоксидантным действием, оказывающим нейропротекторное действие, метаболитов, обладающих способностью стимулировать нейрогенез и синаптогенез.

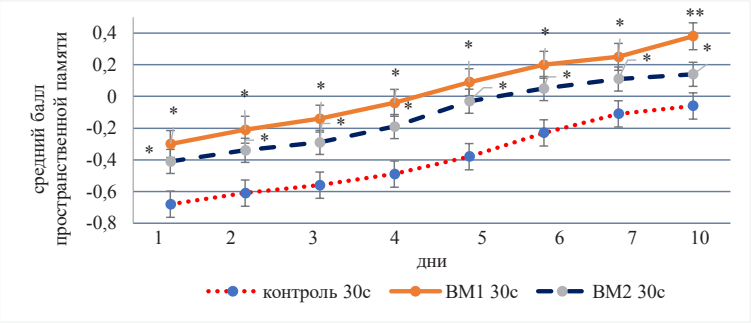


Рис. 5.5. Динамика СБПП крыс-самцов в ВРЛ с задержкой 30 с под влиянием биомассы штаммов *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 (ВМ1) и *S. fradiae* CNMN-Ac-11 (ВМ2), *– достоверные различия по сравнению с контролем (P<0,05), **– достоверные различия ВМ1 по сравнению с ВМ2 (P<0,05)

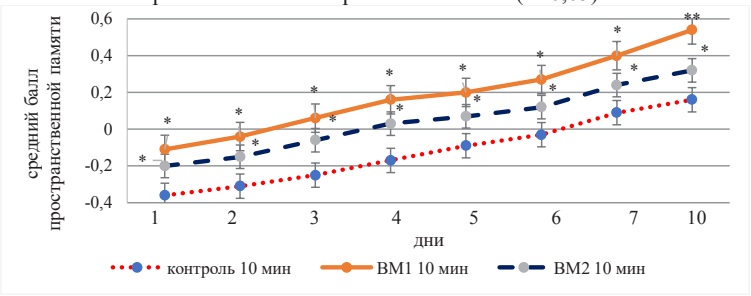


Рис. 5.6. Динамика СБПП крыс-самцов в ВРЛ с задержкой 10 мин под влиянием биомассы штаммов *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 (ВМ1) и *S. fradiae* CNMN-Ac-11 (ВМ2), *– достоверные различия по сравнению с контролем (P<0,05). **– достоверные различия ВМ1 по сравнению с ВМ2 (P<0,05)

На этапе изучения сохранности следов пространственной долговременной памяти спустя 20 дней после завершения тестирования (на 30-й день эксперимента), было обнаружено, что СБПП у крыс обоих полов, получавших ВМ1 и ВМ2, заметно выше, чем у контроля (Рис. 5.7). Следовательно, биомасса штаммов *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 и *S. fradiae* CNMN-Ac-11 способствует не только облегчению процесса обучения и активации пространственной памяти, но и увеличению сохранности следов памяти.

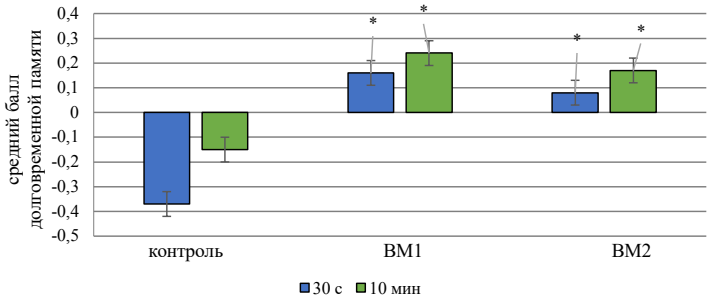


Рис. 5.7. Динамика СБПП в ВРЛ у белых крыс-самцов под влиянием биомассы штаммов *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 (ВМ1) и *S. fradiae* CNMN-Ac-11 (ВМ2) на 30-й день эксперимента, * – достоверные различия по сравнению с контролем (P<0,01-0,05)

Таким образом, исследования пространственного обучения и памяти в ВРЛ показали, что потребление белыми крысами обоих полов биомассы стрептомицетов способствует облегчению выработки рабочей, активации долговременной пространственной памяти и снижению скорости угасания следа памяти.

Одной из широко распространённых и хорошо зарекомендовавших себя методик, для оценки пространственного обучения и памяти, где, в отличие от ассоциативного обучения, не требуется локальных ориентиров, является ВЛМ. Этот метод позволяет исследовать процессы пространственного обучения и памяти (рабочая и долговременная), где рабочая память рассматривается как оперативная составляющая кратковременной памяти. С помощью данного теста исследовали длительность ЛП, в течение которого крыса находила платформу и забиралась на нее, и длину ПП, который животное проходило от места помещения в воду до платформы, определяли время нахождения в каждом из секторов (%). Анализ полученной динамики показателей пространственного обучения и рабочей памяти в ВЛМ – ЛП и ПП показывает существенные их изменения под влиянием биомассы стрептомицетов.

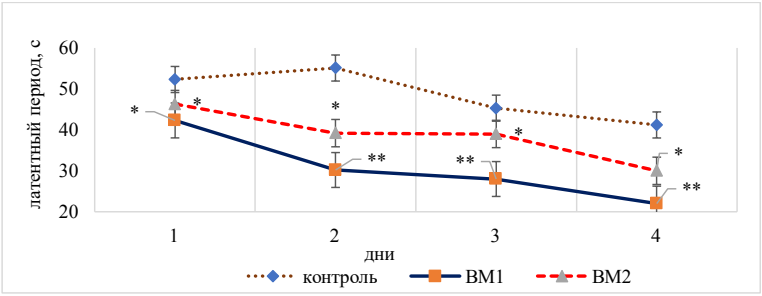


Рис. 5.8. Динамика ЛП крыс-самцов в ВЛМ под влиянием биомассы штаммов *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 (ВМ1) и *S. fradiae* CNMN-Ac-11 (ВМ2). * – достоверные различия по сравнению с контролем (P<0,01-0,05), **–достоверные различия ВМ1 по сравнению с ВМ2 (P<0,01-0,05)

Обнаружено, что длительное потребление биомассы способствует существенному облегчению процесса пространственного обучения, при этом показано, что биомасса штаммов *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 и *S. fradiae* CNMN-Ac-11 в разной степени способствует облегчению обучения в ВЛМ. В отличие от ВМ2, ВМ1 уже на 1-й день

обучения вызывает достоверное снижение ЛП (на 20,2±6,2%), на 2-й день обучения у крыс, потреблявших ВМ2, ЛП на 29,9±4,6% ниже контроля, а у крыс, потреблявших ВМ1 – на 45,2±5,9%, на 3-й день, соответственно, – на 16,0±6,3% и на 38,2±4,9%, на 4-й день, соответственно, – на 27,2±5,4% и на 46,7±4,6% (Рис. 5.8). Сходная картина наблюдается и при исследовании другого показателя пространственного обучения в ВРЛ – ПП (Рис. 5.9).

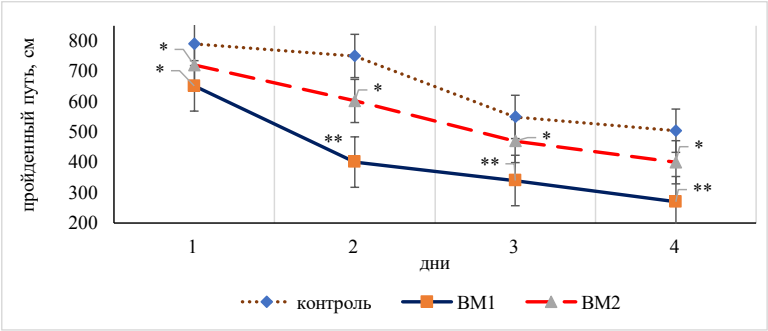


Рис. 5.9. Динамика ПП крыс-самцов в ВЛМ под влиянием биомассы штаммов *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 (ВМ1) и *S. fradiae* CNMN-Ac-11 (ВМ2), * – достоверные различия по сравнению с контролем (P<0,05), **– достоверные различия ВМ1 по сравнению с ВМ2 (P<0,01-0,05)

Согласно методике, для исследования активации долговременной пространственной памяти находили классический критерий запоминания – время нахождения крыс в целевом секторе после окончания обучения (на 5-й день), когда платформу убирали из бассейна. Обнаружено, что животные, потреблявшие биомассу стрептомицетов, бóльшую часть времени проводили в целевом секторе по сравнению с контролем, что свидетельствует о стимуляции у них процесса активации долговременной пространственной памяти, процесса консолидации энграммы. При этом, животные, потреблявшие ВМ1 и ВМ2, находились в целевом секторе примерно одинаковую часть времени (37,2±3,5 и 40,1±4,2%, соответственно) (Рис. 5.10).

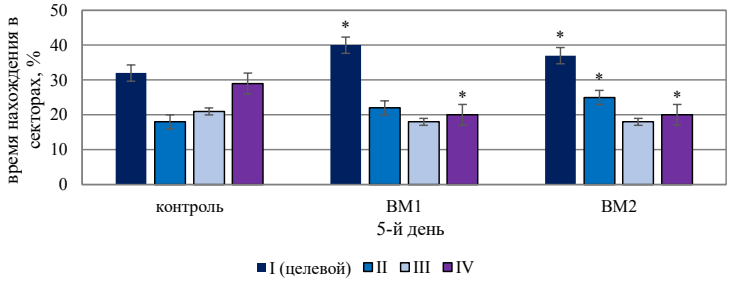


Рис. 5.10. Продолжительность пребывания крыс-самцов в секторах ВЛМ на 5-й день тестирования под влиянием биомассы штаммов *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 (ВМ1) и *S. fradiae* CNMN-Ac-11 (ВМ2), * – достоверные различия по сравнению с контролем (P<0,01-0,05)

Для оценки сохранности следа памяти и, соответственно, пространственной долговременной памяти, согласно методике, определяли время нахождения крыс в целевом и нецелевых секторах лабиринта на 9-й, а затем 30-й день после начала обучения.

Полученные результаты показали, что на 9-й день опыта, т.е. спустя 5 дней после окончания обучения крысы, получавшие с кормом ВМ1 и ВМ2, относительно больше времени находятся в целевом секторе по сравнению с контролем и даже несколько больше по сравнению с 5-м днем опыта (45,3±3,3% и 40,1±2,8%, соответственно), что свидетельствует о сохранности следов памяти и эффективности метаболитов стрептомицетов в отношении сохранения следа памяти (Рис. 5.11).

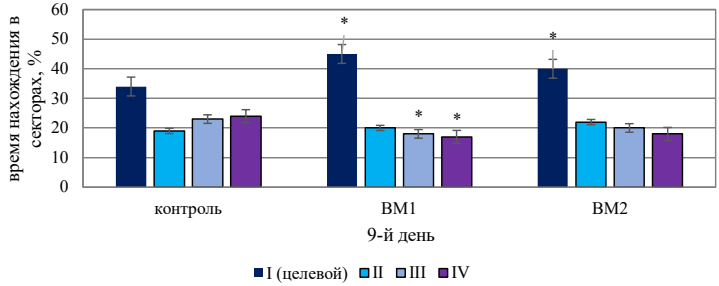


Рис. 5.11. Продолжительность пребывания крыс-самцов в секторах ВЛМ на 9-й день тестирования под влиянием биомассы штаммов *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 (ВМ1) и *S. fradiae* CNMN-Ac-11 (ВМ2), * – достоверные различия по сравнению с контролем (P<0,05).

Результаты тестирования на 30-й день опыта показали, что даже спустя длительное время, крысы, потреблявшие биомассу стрептомицетов, в отличие от контроля, сохраняют следы памяти о месте нахождения платформы и чаще находятся в целевом секторе ВЛМ (Рис. 5.12), при этом, эффективность ВМ1 больше по сравнению с ВМ2. Следовательно, биомасса штаммов *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 (в большей степени) и *S. fradiae* CNMN-Ac-11 способствует улучшению сохранности следов памяти.

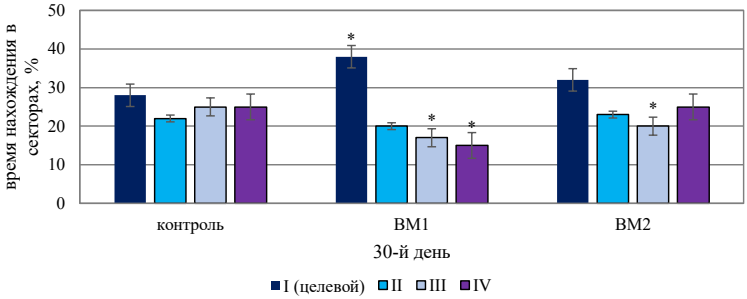


Рис. 5.12. Продолжительность пребывания в секторах ВЛМ крыс-самцов на 30-й день под влиянием биомассы штаммов *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 (ВМ1) и *S. fradiae* CNMN-Ac-11 (ВМ2), *– достоверные различия по сравнению с контролем(P<0,05)

Следует отметить, что исследования процесса пространственного обучения и памяти животных в ВЛМ, как и в ВРЛ, под влиянием биомассы штаммов *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 и *S. fradiae* CNMN-Ac-11 были проведены впервые. Полученные данные могут косвенно демонстрировать влияние вторичных метаболитов биомассы исследуемых штаммов на те или иные механизмы обучения, рабочей и долговременной памяти у белых крыс, что, по-видимому, определяется неодинаковым составом биомассы этих штаммов.

Таким образом, биомасса штаммов *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 и, в меньшей степени, *S. fradiae* CNMN-Ac-11, способствует существенному облегчению процесса

пространственного обучения белых крыс-самцов в ВЛМ, активации рабочей и долговременной пространственной памяти, увеличению длительности хранения следа памяти. Эффективность биомассы исследуемых штаммов в отношении процессов обучения и памяти, очевидно, обусловлена нейропротекторным действием входящих в ее состав антиоксидантов (хорошо известно, что плавание в модели ВЛМ является достаточно сильным стрессовым фактором для крыс на начальном этапе обучения [24, 26]), а также метаболитов, способных стимулировать и поддерживать нейрональные процессы, лежащие в основе обучения и памяти, о чем свидетельствуют и результаты, полученные ранее в Институте физиологии и санокреатологии совместно с сотрудниками Института микробиологии и биотехнологии [11, 12].

6. ОСОБЕННОСТИ ОБУЧЕНИЯ И ПАМЯТИ БЕЛЫХ КРЫС ПОД ДЕЙСТВИЕМ БИОМАССЫ ШТАММА *STREPTOMYCES MASSASPOREUS* CNMN-AC-06, ВЫРАЩЕННОГО НА СРЕДЕ SP-I С ДОБАВЛЕНИЕМ ПАРААМИНОБЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТЫ

Результаты исследования, полученные при изучении пространственного обучения и памяти белых крыс в ВРЛ и ВЛМ показали, что биомасса штамма *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, культивированного на питательной среде SP-I, в большей степени способствует облегчению процесса пространственного обучения, активации рабочей и долговременной памяти и увеличению сохранности следов памяти. В последние десятилетия было установлено, что штаммы стрептомицетов синтезируют ряд метаболитов с выраженными нейропротекторными свойствами, обусловленными, прежде всего, их антиоксидантной активностью. Одними из наиболее мощных нейропротекторов являются бензастатины [21]. С целью выявления роли бензастатинов, выявленных нами нейрофизиологических эффектов биомассы в питательную среду для культивирования штамма *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 мы добавляли ПАБК, являющуюся исходным материалом для синтеза бензастатинов. Поэтому для дальнейших исследований обучения и памяти в челночной камере, ВРЛ и ВЛМ была использована биомасса штамма *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 при культивировании на среде SP-I с добавлением ПАБК.

При изучении процессов условно-рефлекторного обучения с аверсивным подкреплением в челночной камере было обнаружено, что биомасса штамма *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, культивированного на среде SP-I, содержащей 1,37 г/л ПАБК (BM1PABA1), вызывает заметное увеличение выработки УРАИ у крыс обоих полов как по сравнению с контролем (на 3-4-й и 6-15-й дни эксперимента), так и по сравнению с животными, получавшими биомассу штамма *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, культивированного на стандартной питательной среде SP-I (BM1) (на 3-й и 6-15-й дни эксперимента) (Рис. 6.1). Увеличение содержания ПАБК в среде для культивирования штамма *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 до 2,74 г/л (BM1PABA2) приводит к ослаблению эффективности биомассы в отношении выработки условных рефлексов. Согласно полученным результатам, у животных, получавших BM1PABA2, УРАИ вырабатываются медленнее, чем BM1PABA1, однако быстрее, чем у контроля.

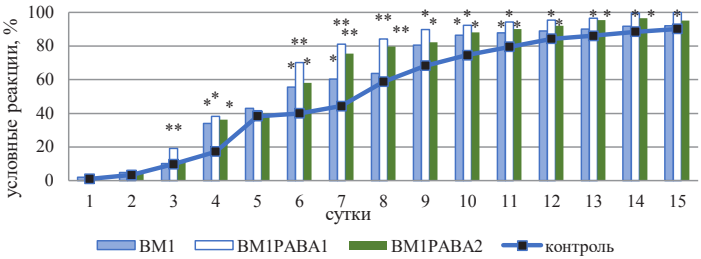


Рис. 6.1. Динамика условно-рефлекторного обучения с аверсивным подкреплением у самцов при потреблении биомассы штамма *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, выращенного на среде SP-I с добавление ПАБК, * – достоверные различия по сравнению с контролем (P<0,05), ** - достоверные различия по сравнению с ВМ1 (P<0,05)

При исследовании процессов условно-рефлекторной памяти было обнаружено, что добавление в среду для культивирования штамма *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 ПАБК в дозе 1,37 г/л и, в меньшей степени, 2,74 г/л способствует снижению величины ЛПРИ у крыс-самцов как по сравнению с контролем, так и, в некоторых случаях, по сравнению с ВМ1 (Рис. 6.2). Подобная динамика наблюдалась и у крыс-самок.

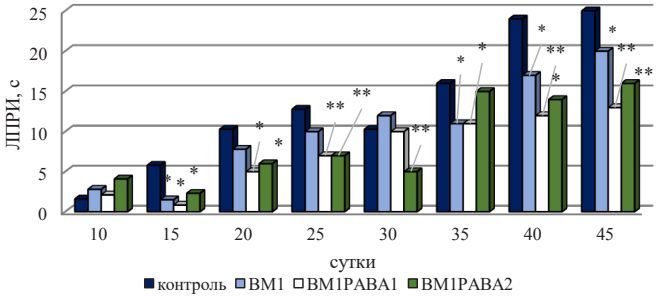


Рис. 6.2. Динамика ЛПРИ у крыс-самцов в течение 45 суток после выработки УРАИ при длительном потреблении биомассы штамма *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, выращенного на среде SP-I с добавлением ПАБК, * – достоверные различия по сравнению с контролем P<0,05, ** – достоверные различия по сравнению с ВМ1 (P<0,05)

Таким образом, добавление в питательную среду для культивирования штамма *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 ПАБК в дозе 2,74 г/л и, особенно, 1,37 г/л вызывает заметную интенсификацию выработки оборонительных условных рефлексов активного избегания и способствует увеличению эффективности биомассы в отношении процессов условно-рефлекторной памяти и сохранности следов долговременной памяти белых крыс обоих полов.

Результаты опытов по исследованию пространственного обучения и памяти белых крыс обоих полов показали, что добавление в среду для культивирования штамма *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 ПАБК в дозе 1,37 г/л (ВМ1РАВА1) приводит к заметному увеличению СБПП как по сравнению с контролем, так и по сравнению с животными, получавшими биомассу штамма *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 без ПАБК (ВМ1), как с ДФЗ 30 с, так и 10 мин. Интересно, что при добавлении в питательную среду 2,74 г/л ПАБК (ВМ1РАВА2) эффективность биомассы в отношении пространственного обучения и памяти достоверно практически не отличаются от ВМ1 (Рис. 6.3 и 6.4, на примере самцов).

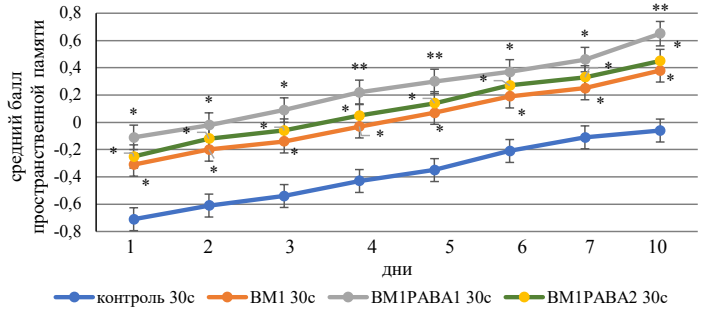


Рис. 6.3. Динамика СБПП крыс-самцов в ВРЛ с задержкой 30 с под влиянием биомассы штамма *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, культивированного на среде SP-I с добавлением ПАБК, *– достоверные различия по сравнению с контролем (P<0,05), **– достоверные различия по сравнению с BM1 (P<0,05)

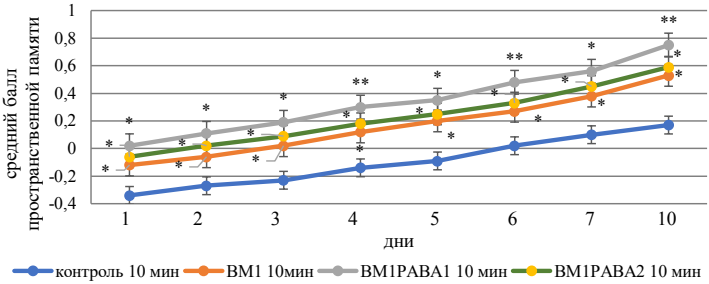


Рис. 6.4. Динамика СБПП крыс-самцов в ВРЛ с задержкой 10 мин под влиянием биомассы штамма *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, культивированного на среде SP-I с добавлением ПАБК, * – достоверные различия по сравнению с контролем (P<0,05), ** – достоверные различия по сравнению с BM1 (P<0,05)

Важно отметить, что увеличение содержания ПАБК в среде для культивирования штамма *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 до 2,74 г/л приводит к снижению эффективности биомассы и в отношении условно-рефлекторного обучения в челночной камере. Эффективность BM1PABA1 значительно выше и на 10-й день эксперимента (после перерыва на 8 и 9 дни) по сравнению с контролем, а также BM1 и BM1PABA2, что свидетельствует о его стимулирующем влиянии на активацию пространственной долговременной памяти у белых крыс.

Результаты исследования сохранности следов долговременной памяти на 30-й день эксперимента показали, что добавление в корм крыс BM1PABA1 приводит к увеличению СБПП по отношению к контролю как при ДФЗ 30 с, так и 10 мин – на 0,67±0,22 и 0,63±0,35 балла, соответственно, а у животных, получавших BM1PABA2 – на 0,51±0,45 и 0,35±0,49 балла, соответственно, в тоже время, добавление в корм животным биомассы без ПАБК – на 0,45±0,31 и 0,29±0,53 балла, соответственно. Следовательно, животные, получавшие с кормом биомассу штамма *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 с добавлением ПАБК в дозе 1,37 г/л, и, в меньшей степени, 2,74 г/л, продемонстрировали значительно лучшее воспроизведение пространственной долговременной памяти как по сравнению с контролем, так и BM1 без ПАБК.

Таким образом, биомасса штамма *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, культивированного на среде SP-I с добавлением ПАБК, существенно стимулирует процесс обучения белых крыс обоих полов в ВРЛ и способствует облегчению выработки рабочей памяти, активации и сохранности долговременной пространственной памяти как по сравнению с контролем, так и с биомассой штамма *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, культивированного на стандартной питательной среде SP-I.

Результаты исследования показателей ЛП и ПП, полученные при изучении пространственного обучения в ВЛМ, показывают, что биомасса штамма *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, культивированного на среде SP-I с добавлением ПАБК в дозе 1,37 г/л (BM1PABA1), в большей степени способствует облегчению процесса пространственного обучения, чем в дозе 2,74 г/л (BM1PABA2), а также без добавления ПАБК (BM1) (Рис. 6.5 и 6.6). При сравнении групп животных, потреблявших BM1 и BM1PABA2, достоверных отличий ЛП и ПП не выявлено, хотя наблюдается тенденция к их повышению под влиянием BM1PABA2 по сравнению с BM1.

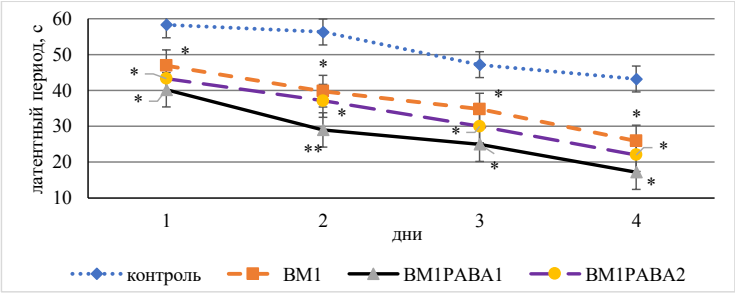


Рис. 6.5. Динамика ЛП у крыс-самцов в ВЛМ под влиянием биомассы штамма *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, культивированного на среде SP-I с добавлением ПАБК, *– достоверные различия по сравнению с контролем (P<0,05), **– достоверные различия по сравнению с BM1 (P<0,05)

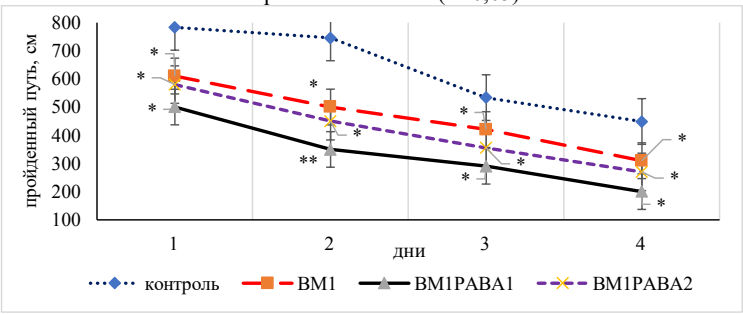


Рис. 6.6. Динамика ПП крыс-самцов в ВЛМ под влиянием биомассы штамма *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, культивированного на среде SP-I с добавлением ПАБК, *– достоверные различия по сравнению с контролем (P<0,05), **– достоверные различия по сравнению с BM1 (P<0,01-0,05)

Для оценки сохранности следа памяти и, соответственно, пространственной долговременной памяти, согласно методике, определяли время нахождения крыс в целевом и нецелевых секторах лабиринта на 9-й и 30-й день эксперимента. Полученные результаты показали, что на 9-й день крысы контрольной группы находились в целевом секторе 30,3±2,2%, а крысы, получавшие BM1 – 39,2±1,8%. Обнаружено, что у крыс, получавших

BM1PABA1 и BM1PABA2, время нахождения в целевом секторе составило 49,1±1,1% и 42,0±1,5%, соответственно. Следовательно, животные, получавшие с кормом BM1PABA1, наиболее длительно находятся в целевом секторе, что способствует активации пространственной долговременной памяти у белых крыс.

Результаты исследования на 30-й день эксперимента показали, что потребление крысами-самцами BM1PABA1 в большей степени оказывает положительное действие на процесс длительности удержания следов пространственной долговременной памяти как по сравнению с контролем, так и BM1 (Рис. 6.7). Интересно, что при сравнении групп, получавших BM1 и BM1PABA2, не выявлено достоверных отличий по времени нахождения в целевом секторе, при этом наблюдается тенденция к их повышению по сравнению с контролем.

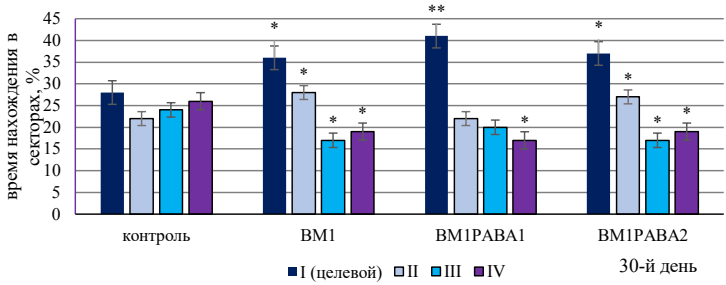


Рис. 6.7. Продолжительность пребывания в секторах ВЛМ крыс-самцов на 30-й день тестирования под влиянием биомассы штамма *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, культивированного на среде SP-I с добавлением ПАБК, * – достоверные различия по сравнению с контролем (P<0,05), ** – достоверные различия по сравнению с BM1 (P<0,05)

Таким образом, биомасса штамма *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, культивированного на питательной среде SP-I с добавлением ПАБК (в большей степени, в дозе 1,37 г/л), способствует существенному облегчению процесса пространственного обучения, выработки рабочей памяти, активации и сохранности следов долговременной пространственной памяти у белых крыс в ВЛМ как по сравнении с контролем, так и с биомассой штамма *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, культивированного на стандартной питательной среде SP-I.

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

Проведенные исследования и анализ полученных результатов привели к следующим выводам:

1. Биомасса стрептомицетов штаммов *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 и *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11, выращенных на определенных питательных средах, характеризуется высоким уровнем содержания биологически активных веществ (заменимые и незаменимые аминокислоты, различные липидные фракции), непосредственно участвующих в регулировании пластического обмена веществ и психогенной активности организма.
2. Под влиянием биомассы штамма *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06, культивируемого на питательной среде, содержащей парааминобензойную кислоту в концентрации 1,37 г/л, происходит существенное повышение прироста массы тела, резистентности к действию теплового стресса, плодовитости, а также улучшение процессов развития потомства белых крыс в большей степени, чем под влиянием биомассы штаммов стрептомицетов *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 и *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11, культивируемых на стандартной комплексной среде SP-I.

3. Сравнительное изучение нейрофизиологических эффектов биомассы штаммов стрептомицетов *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 и *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11, культивируемых на комплексной среде SP-I, показало, что они в различной степени оказывают влияние на процессы обучения, активизацию кратковременной памяти и сохранение следа памяти; более выраженный эффект на условно-рефлекторное обучение и память оказывает биомасса штамма *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11, а на пространственное обучение и память – *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06.

4. Продолжительное потребление биомассы стрептомицетов оказывает более выраженное влияние в отношении процессов формирования нового поведения, стимуляции условно-рефлекторного обучения и продолжительности хранения следа долговременной памяти у старых животных по сравнению с молодыми.

5. Интенсификация процессов условно-рефлекторного и пространственного обучения, активизация рабочей памяти, пролонгирование сохранности следов долговременной памяти более выражены в условиях потребления белыми крысами биомассы штамма *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06, культивированного на питательной среде с добавлением парааминобензойной кислоты в концентрации 1,37 г/л, по сравнению с биомассой, полученной при его культивировании на стандартной питательной среде.

6. Биомасса стрептомицетов *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 и *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11, оказывает полифункциональное влияние на деятельность организма: улучшает не только процессы обучения и памяти, но и способствует увеличению прироста массы тела, плодовитости белых крыс, роста и развития потомства, что предполагает проведение дальнейших исследований по идентификации биологически активных веществ биомассы для их использования в практике.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Биомасса штаммов стрептомицетов *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 и *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11, выделенных из почв центральной части Республики Молдова, может быть рекомендована для получения на ее основе новых эффективных препаратов с выраженными нейропротекторными и ноотропными свойствами.

2. Препараты на основе биомассы штаммов *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 и *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11 могут быть использованы в животноводстве для увеличения прироста массы тела и плодовитости сельскохозяйственных животных.

3. Для увеличения эффективности биомассы стрептомицетов в отношении процессов обучения и памяти, а также увеличения прироста массы тела и плодовитости животных рекомендуется в состав питательных сред для культивирования стрептомицетов включать парааминобензойную кислоту в концентрации 1,37 г/л.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. БАУЭР, Г., ЭНГЕЛЬГАРД, Х., ХЕНШЕН, А. и др. Высокоэффективная жидкостная хроматография в биохимии. В: *Мир*, 1988. 687 с.

2. ДРОЖЖИНА, Н.А., МАКСИМЕНКО, Л.В., КИЧА, Д.И. Особенности пищевого поведения студентов Российского университета дружбы народов. В: *Вопросы питания.* 2012, № 1, с. 57–62.

3. АРАЙСКАЯ, И.Ю. Системный анализ оборонительного поведения крыс Вистар при обучении двустороннему избеганию. В: *Журнал ВНД,* 1995, т. 45, № 3, с. 472-478.

4. КЕЙТС, Е.М. Техника липидологии. В: *Москва: Мир,* 1985, 304 с.

5. МАЛАНИН, Л.П., МОРОЗОВ, А.П., СЕЛИВАНОВА, А.С. Методические указания по определению токсических свойств препаратов, применяемых в ветеринарии и животноводстве. В: *Ветеринарные препараты.* Москва: Агропромиздат, 1988, 319 с.

6. ПОСТОЛАКИЙ, О.М., БРАТУХИНА, А.А., БУРЦЕВА, С.А. Липидный состав биомассы стрептомицетов после воздействия электромагнитного излучения миллиметрового

диапазона низкой интенсивности. В: *Электронная обработка материалов*, 2015, № 51(4), с. 84–89.
7. ФУРДУЙ, Ф.И, ЧОКИНЭ, В.К., ВУДУ, Л.Ф. Новое видение о психическом здоровье. В: *Fiziologia şi sănătatea.* 2012, с.11-18.
8. ФУРДУЙ, Ф.И., ЧОКИНЭ, В.К., ФУРДУЙ В.Ф., ГЛИЖИН, А.Г., ВРАБИЕ, В.Г., ШЕПТИЦКИЙ, В.А. *Трактат о научных и практических основах санокреатологии. Том 1. Проблема здоровья. Санокреатология. Потребность общества в ее развитии.* Chişinău: Tipografia AŞM, 2016, 228 p.
9. ФУРДУЙ, Ф.И., ЧОКИНЭ, В.К., ФУРДУЙ, В.Ф., ГЛИЖИН, А.Г., ВРАБИЕ, В.Г., ШЕПТИЦКИЙ, В.А. *Трактат о научных и практических основах санокреатологии. Том 2. Психическое здоровье. Психосанокреатология. Необходимость общества в ее развитии.* Chişinău: Tipogr. AŞM, 2018, 360 p.
10. ЧОКИНЭ, В.К., ВРАБИЕ, В.Г., ГЛИЖИН, А.Г., БУЛАТ, О.В., ДИДИЛИКЭ, И.М., ШАВДАРЬ, Л.В., ДУБ, В.М., ТАКУ, Н.Н. Саногенная память и ее определение. In: *Neuroscience for medicine and psychology: XII International interdisciplinary congress.* Судак, Крым, Россия, 2016, с.448.
11. ШЕПТИЦКИЙ, В.А., БЕРЕЗЮК, Ю.Н., БУРЦЕВА, С.А. Условно-рефлекторная деятельность белых крыс при длительном потреблении биомассы штамма Streptomyces fradiae CNMN-Ac-11. In: *Buletinul AŞM, Ştiinţele vieţii.* 2017, nr. 1, p. 16-24.
12. ШЕПТИЦКИЙ, В.А., БРАТУХИНА, А.А., БУРЦЕВА, С.А. Условно-рефлекторная деятельность белых крыс при длительном потреблении биопрепаратов на основе метаболитов Streptomyces massasporeus. In: *Buletinul AŞM. Ştiinţele vieţii.* 2007, nr. 2 (302), p. 7-12.
13. AKBEROVA, S.I., STROEVA, O.G., MAGOMEDOV, N.M. Comparative evaluation of the antioxidant activity of para-aminobenzoic acid and emoxipine in the cornea and lens (experimental studies). In: *Vestn. oftal'mologii.* 2001, p.25–29.
14. ARAI, M.A., KORYUDZU, K., ISHIBASHI, M. Inubosins A, B, and C are acridine alkaloids isolated from a culture of Streptomyces sp. IFM 11440 with Ngn2 promoter activity. In: *J. Nat. Prod*. 2015, vol. 78, nr. 2, p. 311-314.
15. BREM, A., RAN, K., PASCUAL-LEONE, A. Learning and memory. In: *Handbook of clinical neurology*. *Elsevier. Brain stimulation*. 2013, vol. 116, p. 693–737.
16. BONDA, D.J., WANG, X., PERRY, G. et al. Oxidative stress in Alzheimer disease: a possibility for prevention. In: *Neuropharmacology*. 2010, vol. 59, p. 290–294.
17. BOORTSEVA, S., BEREZIUK, Y., BYRSA, M. et al. Qualitative and quantitative composition of lipids of biomass of streptomycetes after cultivation on media with different composition. In: *Analele Universităţii din Oradea,* 2015, t. XXII, is. 2, p. 57-62.
18. EL-NAGGAR, N., EL-EWASY, S. Bioproduction, characterization, anticancer and antioxidant activities of extracellular melanin pigment produced by newly isolated microbial cell factories *Streptomyces glaucescens* NEAE-H. In: *Scientific Reports,* 2017, nr. 7, p. 1-19.
19. GORINA, Y., LOPATINA, O., KOMLEVA, Y. et al. Radial arm maze as a tool for assess the spatial learning and memory in mice. In: *Siberian Medical Review*. 2016, vol. 5, p. 46-52.
20. JOSSELYN, S.A., FRANKLAND, P.W. Memory Allocation: Mechanisms and Function. In: *Annu. Rev. Neurosci.* 2018, vol. 41, p. 389–413.
21. KIM, W.G., RYOO, I.J., PARK, J.S. et al. Benzastatins H and I, new benzastatin derivatives with neuronal cell protecting activity from Streptomyces nitrosporeus. In: *J Antibiot, Tokyo.* 2001, vol. 54, nr. 6, p. 513-516.
22. KISELEV, A.L., VOROBYOV, G.M. Para-aminobenzoic acid as a stimulator of growth and development of living organisms. In: *Bulletin of the Russian Agrarian University*. 2006, vol. 1, nr. 6, p. 129-132.
23. MORÉN, C., DE SOUZA, R.M., GIRALDO, D.M. et al. Antioxidant Therapeutic Strategies in Neurodegenerative Diseases. In: *J. Mol. Sci*. 2022, vol. 23, p. 9328.
24. MORRIS, R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. In: *J. Neuroscience Methods.* 1984, vol. 11, nr. 1, p. 47-60.

25. ŌMURA, S., CRUMP, A. Lactacystin: first-in-class proteasome inhibitor still excelling and an exemplar for future antibiotic research. In: *The Journal of Antibiotics,* 2019, vol.72, p.189–201.
26. PENLEY, S.C., GAUDET, C.M., THRELKELD, S.W. Use of an eight-arm radial water maze to assess working and reference memory following neonatal brain injury. In: *J. Vis. Exp.* 2013, vol. 82, p. 78-84.
27. SAMADIAN, M., GHOLIPOUR, M., HAJIESMAEILI, M. et al. The Eminent Role of microRNAs in the Pathogenesis of Alzheimer's disease. In: *Front. Aging Neurosci,* 2021, vol. 13, p. 641.
28. ŞEPTIŢCHI, V., VASILCIUC, A., **GARBUZNEAC, A**. et al. Influența consumului pe termen lung al biomasei tulpinilor Streptomyces massasporeus CNMN-36 și Streptomyces fradiae CNMN-ac-11 asupra învățării și memoriei reflector-condiționate a șobolanilor albi de diferite vârste. In: *Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţele vieţii.* 2021, nr. 2, p. 72-82.
29. SER, H.L., AB MUTALIB, N.S., YIN, W.F. et al. Genome sequence of Streptomyces antioxidans MUSC 164^T isolated from mangrove forest. In: *Prog Microbes Mol. Biol.,* 2018, vol. 1, nr. 1, p. 1-3.
30. SER, H.L., PALANISAMY, U.D., YIN, W. et al. Presence of antioxidative agent, pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione, hexahydro- in newly isolated *Streptomyces mangrovisoli* sp. nov. In: *Front. Microbiol.,* 2015, vol. 6, p. 854.
31. SCHMITZ, G., ASSMANN, G., BOWYER, D. E. A quantitative densitometric method for the rapid separation and quantitation of the major tissue and lipoprotein lipids by high-performance thin-layer chromatography. I. Sample preparation, chromatography, and densitometry. In: *J Chromatogr.* 1984, vol. 307, nr. 1, p. 65-79.
32. SPINOSA, H.S., STILCK, S.R., BERNARDI, M.M. Possible anxiolytic effects of ivermectin in rats. In: *Vet. Res. Commun.* 2002, vol. 26, nr. 4, p. 309-321.
33. SUNAZUKA, T., HIROSE, T., OMURA, S. Efficient total synthesis of novel bioactive microbial metabolites. In: *Acc. Chem. Res*. 2008, vol. 41, p. 302–314.
34. VARESI, A., CHIRUMBOLO, S., CAMPAGNOLI, L.I.M. et al. The Role of Antioxidants in the Interplay between Oxidative Stress and Senescence. In: *Antioxidants*. 2022, vol. 11, p. 12-24.
35. XINCUI, F., JING, Z., JIANPING, Z. et al. Effect of Resveratrol Combined with Donepezil Hydrochloride on Inflammatory Factor Level and Cognitive Function Level of Patients with Alzheimer's Disease. In: *Journal of Healthcare Engineering.* 2022, p. 1-7.
36. ZHENG, J.C., CHEN, S. Translational Neurodegeneration in the era of fast growing international brain research. In: *Transl. Neurodegener.* 2022, p. 45-48.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ АВТОРА ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

2. Статьи в научных журналах

2.1 в научных журналах из базы данных *Web of Science и SCOPUS*

1. **GARBUZNEAC, A.,** BYRSA, M., BURTSEVA, S., CHISELITSA, N., CHISELITA, O. Changes in lipid composition of *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 biomass after long-term storage. In: *Mikrobiolohichnyi Zhurnal,* Kyiv, Ukraine, 2020, nr. 5 (82), p. 41-47. ISSN 1028-0987. https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57219709787
2. ŞEPTIŢCHI, V., VASILICIUC, A., **GARBUZNEAC, A.,** LEORDA, A., MANGUL, O., BURŢEVA, S., FILIPENCO, E., TIHONENCOVA, L. Influența consumului pe termen lung al biomasei tulpinilor *Streptomyces massasporeus* CNMN-06 și *Streptomyces fradiae* CNMN Ac-11 asupra învățării și memoriei reflector-condiționate a șobolanilor albi de diferite vârste. In: *Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţele vieţii*. 2021, nr. 2 (344), p. 72-82. ISSN 1857-064X. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/152771
3. **GARBUZNEAC,** A., BURTSEVA, S., SYRBU, T., BYRSA, M., CHISELITSA, N., CHISELITA, O. Accumulation by *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 strain of biomass and lipids during cultivation on complex medium with 4-aminobenzoic acid. In: *Analele Universitatii din Oradea*, *Fascicula Biologie*. 2023, vol. 30, p. 82-88. ISSN 1224-5119. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/188828

2.3 в научных журналах из Национального Реестра профильных сборников

4. **GARBUZNEAC, A.,** ŞEPTIŢCHI, V., LEORDA, A., BURŢEVA, S., BÎRSA, M. Învățarea spațială și memoria șobolanilor albi în labirintul radial cu opt brațe sub influența biomasei de streptomicete izolate din solurile Republicii Moldova. In: *Studia Universitatis Moldaviae*, 2024, nr. 1 (171), p. 116-126. ISSN 1814-3237. **(Categoria B)** https://natural.studiamsu.md/wp-content/uploads/2024/06/14_Garbuzneac_et_al.pdf

3. Статьи в сборниках научных конференций

3.2 в материалах национальных научных конференций с международным участием

5. БЫРСА, М., БЕРЕЗЮК, Ю., **ГАРБУЗНЯК, А.,** КАРАМАН, М., ЧЕБОТАРЬ, В., БУРЦЕВА, С. Липидный состав биомассы стрептомицетов при культивировании на средах сложного состава. In: *Instruire prin cercetare pentru o societate prosperă. Universitatea de stat din Tiraspol, Facultatea biologie şi chimie, Ediția VIII,* Chișinău, 2021, vol. 1, p. 284-290. ISBN 978-9975-76-327-1.

3.3 в материалах национальных научных конференций

6. **GARBUZNEAC, A.** Historical aspects of studying the streptomyces metabolites influence on the nervous system activity. In: *Materialele Conferinței Științifice a Doctoranzilor „Tendințe contemporane ale dezvoltării științei: viziuni ale tinerilor cercetători",Ediția a VIII-a.* 2019, p. 101-104. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/80734/gscholar

7. **GARBUZNEAC, A.** Compoziția lipidică a biomasei tulpinilor de streptomicete în urma cultivării pe medii complexe după păstrare îndelungată. In: *Tendințe contemporane ale dezvoltării științei: viziuni ale tinerilor cercetători, Ediția IX*, Chișinău, Republica Moldova: Tipogr. „Biotehdesign", 2020, vol. 1, p. 187-191. ISBN 978-9975-108-66-9.

8. **GARBUZNEAC, A**. Caracteristici comparative ale activităţii reflexe condiţionate a şobolanilor de diferite vârste sub influenţa biomasei tulpinilor *Streptomyces massasporeus* CNMN-AC-06 și *Streptomyces fradiae* CNMN-AC-11. In: *Metodologii contemporane de cercetare şi evaluare: Ştiinţe biologice şi chimice Ştiinţe fizice şi matematice Ştiinţe economice, Chişinău: CEP USM,* 2021, p. 37-42. ISBN 978-9975-159-16-6. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/154698

9. **GARBUZNEAC, A.,** SHEPTITSKY, V., BURTSEVA, S., BYRSA, M. Influence of long-term consumption of streptomycete biomass on conditional-reflex learning and memory in white rats of different ages. In: *Conferința Științifică Națională, consacrată jubileului de 95 ani din ziua nașterii academicianului Boris Melnic, CEP USM*. Chisinau. 2023, vol. 1, p. 57-60. ISBN 978-9975-62-496-1. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/175037

3.4 в материалах международных научных конференций (за рубежом)

10. БЫРСА, М., БУРЦЕВА, С., ВАСИЛЬЧУК, А., **ГАРБУЗНЯК, А.,** ЧЕБОТАРЬ, В. Антимикробная активность штамма *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 после длительного хранения в лиофильном виде. В: *Микроорганизмы и плодородие почвы*, Киров, Россия: Вятский ГАТУ. 2022, с. 19-23.

4. Тезисы в сборниках научных конференций

4.1 в материалах международных научных конференций (Республика Молдова)

11. **GARBUZNEAC, A.,** BYRSA, M., BURTSEVA, S. *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11 after storage by subculturing and cultivation on complex media. In*: Microbial Biotechnology, Chișinău, Republica Moldova: Artpoligraf,* 2022, vol. 5, p. 33. ISBN 978-9975-3555-6-8.

4.2 в материалах национальных научных конференций с международным участием

12. **GARBUZNEAC, A.,** SHEPTITSKY, V. Conditioned reflex learning and memory of white rats of different ages under the influence of the biomass of streptomycetes isolated from the soils of the Republic of Moldova. In: *Life sciences in the dialogue of generations: connections between universities, academia and business community, Chișinău, Moldova State University,* 2022, vol. 2, p. 131. ISBN 978-9975-159-80-7. https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag_file/131_12.pdf

13. **GARBUZNEAC, A.,** SHEPTITSKY, V. Spatial learning and memory of male and female white rats under the influence of biomass of streptomycetes isolated from the soils of the Republic of Moldova. In: *Natural sciences in the dialogue of generations. Chișinău: CEP USM*. 2023, p. 116. ISBN 978-9975-3430-9-1. https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag_file/57-60_58.pdf

4.3 в материалах международных научных конференций (за рубежом)

14. FURDUI, T., SHEPTITSKY, V., LISTOPADOVA, L, **GARBUZNEAC, A.** On the possibility of using antioxidant microelements for the maintenance of mental health. In: *Neuroscience for medicine and psychology: proceedings of the XVI International Interdisciplinary Congress.* Sudak, Crimea. 2020, p. 489-490. ISBN 978-5-317-06406-8.
15. ВАСИЛЬЧУК, А., БЫРСА, М., БЕРЕЗЮК, Ю., **ГАРБУЗНЯК, А.,** КАРАМАН, М. Продуктивность биомассы и образование липидов у стрептомицетов на средах сложного состава. В: *Биология – наука XXI века, Пущино, Россия: Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук, Ediția a 24-a*. 2020, p. 343. ISBN 978-5-91874-901-2. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/115422
16. **ГАРБУЗНЯК, А.,** ШЕПТИЦКИЙ, В. Сравнительный анализ влияния биомассы *S. fradiae* CNMN-AC-11 и *S. massasporeus* CNMN-AC-06 на выработку оборонительных условных рефлексов у белых крыс. В: *Биология – наука XXI века. Пущино, Россия: Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук, Ediția a 24-a.* 2020, p. 229-230. ISBN 978-5-91874-901-2. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/115404
17. SHEPTYTSKY, V**., GARBUZNEAC, A.,** MANGUL, O., BEREZIUC, I., VASILCIUC, A., BURTSEVA, S. Neuroprotective and nootropic effects of the products of vital activity of Streptomyces. In: *Neuroscience for medicine and psychology: proceedings of the XVIII International Interdisciplinary Congress*. Sudak, Crimea. 2022, p. 387-388. ISBN 978-5-317-06792-2
18. BÎRSA M., BURŢEVA S., SÎRBU T., **GARBUZNEAC A.,** ŞEPTIŢCHI V. *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 – source of biologically active substances for agriculture. In: *Proceedings of the 15th Edition of European exibition of creativity and innovation „Euroinvent – 2023*". Iaşi, România, 2023, p. 103-104 (Medalie de argint).
19. BÎRSA M., BURŢEVA S., SÎRBU T., **GARBUZNEAC A.,** ŞEPTIŢCHI V. *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 – source of biologically active substances for agriculture. In: *The 27rd internaţional exhibition of inventics „INVENTICA 2023*", Iaşi, România, 2023 (Medalie de aur).
20. BÎRSA M., BURŢEVA S., SÎRBU T., **GARBUZNEAC A.,** ŞEPTIŢCHI V. Application of microbial biomass as an additive to fortify the diet of homeothermic animals. In: *Salonul Internaţional de Invenţii şi Inovaţii „TRAIAN VUIA"*, ed. a IX –a, Timişoara, România, 2023 (Medalie de aur).
21. BÎRSA M., BURŢEVA S., SÎRBU T., **GARBUZNEAC A.,** ŞEPTIŢCHI V. *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 – source of biologically active substances for agriculture. In: *Salonul Internaţional al Cercetării ştiinţifice, Inovării şi Invenţii*, ed. XXI, Cluj-Napoca, România, 2023, p. 276-277. ISSN: 3008-458X (Diploma de Excelenta şi Medalie PRO INVENT).

5. Патенты

1. BÎRSA, M., BURŢEVA, S., SÎRBU, T., **GARBUZNEAC, A.,** ŞEPTIŢCHI, V. *Mediu nutritiv pentru cultivarea tulpinii Streptomyces massasporeus CNMN-Ac-06.* Cerere de brevet Nr. Intrare AGEPI 2337.08.09.2022.
2. BÎRSA, M., **GARBUZNEAC, A.,** ŞEPTIŢCHI, V., BURŢEVA, S., SÎRBU, T. *Procedeu de hrănire a animalelor cu sânge cald*. Cerere de brevet Nr. Intrare AGEPI 2338.08.09.2022.

ADNOTARE

Anastasia Garbuzneac „Învățarea și memoria șobolanilor în consumul biomasei de streptomicete", teza de doctor în științe biologice, Chișinău, 2024.

Structura tezei: Lucrarea este prezentată pe 125 de pagini de text principal, constă din introducere, 6 capitole, concluzii generale și recomandări, conține 7 tabele, 48 figuri, bibliografie din 192 titluri, 5 anexe. Rezultatele obținute sunt prezentate în 23 lucrări științifice și 2 brevete.

Cuvinte-cheie: șobolani albi, învățare reflector-condiționată și spațială, memorie de lucru și pe termen lung, streptomicete, biomasă, acid para-aminobenzoic, aminoacizi, lipide.

Scopul lucrării: Studierea particularităților de învățare și memorie la șobolani albi sub influența consumului pe termen lung de biomasă a tulpinilor *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 și *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11, izolate din solul din partea centrală a Republicii Moldova.

Obiectivele cercetării: Studiul proprietăților de biosinteză ale tulpinilor *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 și *S. fradiae* CNMN-Ac-11*,* cultivate pe medii cu diferite compoziții pentru a obține biomasă, ipotetic având cel mai mare impact asupra învățării și memoriei; studiul particularităților dinamicii masei corporale, fertilității șobolanilor albi și dezvoltării puilor de șobolan sub influența biomasei de streptomicete; studiul particularităților de învățare și memorie ale șobolanilor albi în condițiile consumului pe termen lung a biomasei tulpinilor *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 și *S. fradiae* CNMN-Ac-11, cultivate pe mediul nutritiv complex SP-I, precum și pe mediul SP-I cu adăugarea acidului para-aminobenzoic.

Noutatea și originalitatea științifică: Pentru prima dată, a fost dezvăluit efectul stimulator al biomasei de streptomicete asupra procesului de învățare spațială și memorie a șobolanilor albi în labirintul radial cu opt brațe și în labirintul cu apă Morris. Pentru prima dată, s-a depistat, că adăugarea acidului para-aminobenzoic (PABA) la mediul nutritiv îmbunătățește semnificativ efectul stimulator al biomasei asupra învățării reflector-condiționate și spațiale și a memoriei. Au fost obținute date noi cu referire la particularitățile influenței biomasei streptomicetelor în raport cu învățarea reflector-condiționată și memoria la șobolani de diferite vârste. Au fost obținute noi date, privind efectul stimulator al biomasei de streptomicete cultivate pe mediu nutritiv cu adaos de PABA în raport cu masa corporală și fertilitatea, care sunt brevetate. A fost propus un nou mediu nutritiv pentru cultivarea tulpinii *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, care îmbunătățește proprietățile ei biosintetice, a cărui elaborare a fost finalizată prin brevetare.

Problema științifică soluționată: consta de obținerea de noi cunoștințe argumentate științific despre particularitățile învățării și memoriei reflector-condiționate și spațiale la șobolanii albi în condițiile consumului de biomasă a tulpinilor autohtone de streptomicete ca aditiv alimentar, folosind un complex de metode fiziologice (comportamentale), biochimice și microbiologice, ceea ce a condus la stabilirea efectului stimulator semnificativ al biomasei asupra proceselor cognitive studiate și a permis demonstrarea perspicacității tulpinilor *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 și *S. fradiae* CNMN-Ac-11 în scopul izolării și identificării substanțelor biologic active cu proprietăți neuroprotectoare și nootrope, precum și de a propune un mediu nutritiv nou pentru cultivarea streptomicetelor cu adaos de PABA, utilizarea căruia permite creșterea eficienții biomasei asupra proceselor de învățare și memorie.

Rezultatele fundamental noi pentru știință și practică: în baza metodelor moderne fiziologic (comportamentale), microbiologice și biochimice, s-au obținut rezultate principial noi, privind impactul biomasei de streptomicete asupra proceselor de învățare și memorie, care pot fi utilizate în obținerea substanțelor cu efect nootrop și neuroprotector.

Semnificația teoretică: Rezultatele obținute extind și aprofundează abordările științifice ale particularităților proceselor învățării reflector-condiționate și spațiale și ale memoriei sub influența substanțelor biologic active de origine microbiană cu proprietăți neuroprotectoare și neurostimulatoare.

Valoarea aplicativă: Rezultatele obținute demonstrează perspicacitatea cercetărilor ulterioare asupra tulpinilor *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 și *S. fradiae* CNMN-Ac-11 cu scopul de a izola și identifica substanțe biologic active cu proprietăți neuroprotectoare și nootrope. A fost obținut un nou mediu nutritiv prin cultivarea tulpinii de *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 cu adaos de PABA, au fost îmbunătățite proprietățile sale biosintetice și efectul stimulator asupra proceselor de învățare și memorie. Rezultatele obținute demonstrează posibilitatea obținerii preparatelor în baza biomasei tulpinilor locale de streptomicete în zootehnie pentru a stimula creșterea în greutate și fertilitatea animalelor.

Implementarea rezultatelor științifice: rezultatele sunt implementate în procesul didactic al Facultății de Geografie și Științe Naturale a Universității de Stat din Tiraspol „T.G. Șevcenco". Au fost primite 2 brevete, 4 medalii la expoziții internaționale de inovație.

ANNOTATION

Garbuzneac Anastasia „Learning and memory of rats when consumpting streptomycetes biomass", PhD thesis in biological sciences, Chisinau, 2024.

Thesis structure: The dissertation is presented on 125 pages, consists of an introduction, 6 chapters, general conclusions and recommendations, contains 5 tables, 48 figures, a bibliography of 192 titles, 5 appendices. The results obtained were presented in 23 scientific papers and 2 patents.

Keywords: white rats, conditioned reflex and spatial learning, working and long-term memory, streptomycetes, biomass, para-aminobenzoic acid, amino acids, lipids.

Purpose: Studying the characteristics of learning and memory of white rats under the influence of long-term consumption of biomass of the strains *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 and *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11, isolated from the soil of the central part of the Republic of Moldova.

Objectives: To study the biosynthetic properties of the strains *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 and *S. fradiae* CNMN-Ac-11, cultivated in media of different compositions to obtain biomass, presumably having the greatest effect on learning and memory; to study the characteristics of the dynamics of body weight, fertility of white rats and the development of rat pups under the influence of streptomycete biomass; to study the features of learning and memory of white rats under conditions of long-term consumption of biomass of the strains *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 and *S. fradiae* CNMN-Ac-11, cultivated on a complex nutrient medium SP-I, as well as on SP-I medium with the addition of para-aminobenzoic acid acids.

Scientific novelty and originality: The stimulating effect of streptomycete biomass on spatial learning and memory processes in white rats was revealed for the first time using an eight-arm radial maze and a Morris water maze. For the first time, it was discovered that the addition of PABA to the nutrient medium significantly enhances the stimulating effect of biomass on conditioned reflex and spatial learning and memory. New data have been obtained on the peculiarities of the influence of streptomycete biomass in relation to conditioned reflex learning and memory in rats of different ages. New data have been obtained on the stimulating effect of the biomass of streptomycetes cultivated on a nutrient medium with the addition of PABA in relation to body weight and fertility, which are patented. A novel nutrient medium for cultivating the strain *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 has been proposed, improving its biosynthetic properties, the development of which has been completed by patenting.

The solved scientific problem: new scientific knowledge about the characteristics of conditioned reflex and spatial learning and memory in white rats when they consume biomass of local strains of streptomycetes as a dietary supplement was obtained, using a complex of physiological (behavioural), biochemical and microbiological methods, which led to the establishment of a significant stimulating effect of biomass on the studied cognitive processes and made it possible to demonstrate the promise of the strains *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 and *S. fradiae* CNMN-Ac-11 in order to obtain new biologically active substances with neuroprotective and nootropic properties, as well as propose a new nutrient medium for the cultivation of streptomycetes with the addition of PABA, the use of which can increase the efficiency of biomass on learning and memory processes.

Main results: Based on modern physiological (behavioral), microbiological and biochemical methods, fundamentally new results were obtained on the effect of streptomycete biomass on learning and memory processes, which can be used in the production of substances with nootropic and neuroprotective effects.

Theoretical significance: The results obtained expand and deepen scientific understanding of the peculiarities of the processes of conditioned reflex and spatial learning and memory under the influence of biologically active substances of microbial origin with neuroprotective and neurostimulating properties.

Applicative value: The results obtained demonstrate the promise of further research on the strains *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 and *S. fradiae* CNMN-Ac-11 with the aim of isolating and identifying biologically active substances with neuroprotective and nootropic properties. A new nutrient medium was obtained by cultivating the *S. massasporeus* strain CNMN-Ac-06 with the addition of PABA, its biosynthetic properties and stimulating effect on learning and memory processes were improved. The results obtained demonstrate the possibility of obtaining drugs based on the biomass of local strains of streptomycetes in animal husbandry to stimulate weight gain and fertility.

Implementation of scientific results: The results were introduced into the educational process of the Faculty of Geography and Natural Sciences of T.G. Shevchenko Tiraspol State University. 2 patents and 4 medals at international innovation exhibitions were received.

АННОТАЦИЯ

Гарбузняк Анастасия «Обучение и память крыс при потреблении биомассы стрептомицетов», диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук, Кишинэу, 2024 г.

Структура диссертации: Диссертация представлена на 125 страницах основного текста, состоит из введения, 6 глав, общих выводов и рекомендаций, содержит 5 таблиц, 48 рисунков, список литературы из 192 наименований, 5 приложений. Полученные результаты были представлены в 23 научных работах, 2 патентах.

Ключевые слова: белые крысы, условно-рефлекторное и пространственное обучение, рабочая и долговременная память, стрептомицеты, биомасса, парааминобензойная кислота, аминокислоты, липиды.

Цель работы: Изучение особенностей обучения и памяти белых крыс под влиянием длительного потребления биомассы штаммов *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 и *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11, выделенных из почвы центральной части Республики Молдова.

Задачи исследования: Изучить биосинтетические свойства штаммов *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 и *S. fradiae* CNMN-Ac-11, культивированных на средах разного состава для получения биомассы, предположительно, оказывающей наибольшее влияние на обучение и память; исследовать особенности динамики массы тела, плодовитости белых крыс и развития крысят под действием биомассы стрептомицетов; изучить особенности обучения и памяти белых крыс в условиях длительного потребления биомассы штаммов *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 и *S. fradiae* CNMN-Ac-11, культивированных на комплексной питательной среде SP-I, а также на среде SP-I с добавлением парааминобензойной кислоты.

Научная новизна и оригинальность: Впервые выявлено стимулирующее влияние биомассы стрептомицетов на процесс пространственного обучения и памяти белых крыс в восьмирукавном радиальном лабиринте и водном лабиринте Морриса. Впервые обнаружено, что добавление в питательную среду ПАБК существенно усиливает стимулирующий эффект биомассы в отношении условно-рефлекторого и пространственного обучения и памяти. Получены новые данные об особенностях влияния биомассы стрептомицетов в отношении условно-рефлекторного обучения и памяти у крыс разного возраста. Получены новые данные о стимулирующем влиянии биомассы стрептомицетов, культивированных на питательной среде с добавлением ПАБК, в отношении массы тела и плодовитости, которые запатентованы. Предложена новая питательная среда для культивирования штамма *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, улучшающая его биосинтетические свойства, разработка которой завершена патентованием.

Решенная научная проблема: состоит в получении новых научно обоснованных знаний об особенностях условно-рефлекторного и пространственного обучения и памяти у белых крыс в условиях потребления ими в качестве пищевой добавки биомассы местных штаммов стрептомицетов с применением комплекса физиологических (поведенческих), биохимических и микробиологических методов, что привело к установлению существенного стимулирующего влияния биомассы на исследуемые когнитивные процессы и позволило продемонстрировать перспективность штаммов *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 и *S. fradiae* CNMN-Ac-11 для получения новых биологически активных веществ с нейропротекторными и ноотропными свойствами, а также предложить новую питательную среду для культивирования стрептомицетов с добавлением ПАБК, применение которой позволяет повысить эффективность биомассы в отношении процессов обучения и памяти.

Полученные принципиально новые результаты для науки и практики: на основе современных физиологических (поведенческих), микробиологических и биохимических методов получены принципиально новые результаты о влиянии биомассы стрептомицетов на процессы обучения и памяти, которые могут найти применение при получении веществ с ноотропным и нейропротекторным действием.

Теоретическое значение: Полученные результаты расширяют и углубляют научные представления об особенностях процессов условно-рефлекторного и пространственного обучения и памяти под влиянием биологически активных веществ микробного происхождения с нейропротекторными и нейростимулирующими свойствами.

Прикладное значение: Полученные результаты демонстрируют перспективность дальнейших исследований штаммов *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 и *S. fradiae* CNMN-Ac-11 для выделения и идентификации биологически активных веществ с нейропротекторными и ноотропными свойствами. Получена новая питательная среда для культивирования штамма *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 с добавлением ПАБК, улучшены его биосинтетические свойства и стимулирующий эффект биомассы на процессы обучения и памяти. Полученные результаты демонстрируют возможность получения на основе биомассы местных штаммов стрептомицетов препаратов для животноводства с целью стимуляции привесов и плодовитости.

Внедрение научных результатов: результаты внедрены в учебный процесс естественного-географического факультета ПГУ им. Т.Г. Шевченко. Получены 2 патента, 4 медали на международных выставках инноваций.

UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA
ȘCOALA DOCTORALĂ ȘTIINȚE ALE NATURII

Consorțiul: Universitatea de Stat din Moldova, Institutul de Dezvoltare a Societății Informaționale, Universitatea de Stat „Bogdan Petriceicu Hasdeu" din Cahul

Cu titlu de manuscris
C.Z.U. 57.02+57.024+591.1

GARBUZNEAC ANASTASIA

ÎNVĂȚAREA ȘI MEMORIA ȘOBOLANILOR ÎN CONSUMUL BIOMASEI DE STREPTOMICETE

165.01. Fiziologia omului și animalelor

Rezumatul tezei de doctor în științe biologice

Chișinău, 2024

ГАРБУЗНЯК АНАСТАСИЯ

ОБУЧЕНИЕ И ПАМЯТЬ КРЫС ПРИ ПОТРЕБЛЕНИИ БИОМАССЫ СТРЕПТОМИЦЕТОВ

165.01. Физиология человека и животных

Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук

Aprobat spre tipar: 09.09.2024
Hârtie ofset. Tipar ofset.
Coli de tipar: 2.0

Formatul hârtiei: 60×84 1/16
Tiraj: 15 exemplare
Comanda 2-09/24

„Tipocart-Print” S.R.L.
Str. A. Pușkin, 22, of. 523, Chișinău, MD-2012