STUDIA UNIVERSITATIS MOLDAVIAE
Revista științifică a Universtității de Stat din Moldova, 2024, nr. 1(171)

CZU: 591.5:579.873.7:631.4(478) **https://doi.org/10.59295/sum1(171)2024_14**

ÎNVĂȚAREA SPAȚIALĂ ȘI MEMORIA ȘOBOLANILOR ALBI ÎN LABIRINTUL RADIAL CU OPT BRAȚE SUB INFLUENȚA BIOMASEI DE STREPTOMICETE IZOLATE DIN SOLURILE REPUBLICII MOLDOVA

Anastasia GARBUZNEAC, Vladimir ȘEPTIȚCHI, Ana LEORDA,
Universitatea de Stat din Moldova,

Svetlana BURȚEVA, Maxim BÎRSA,
Universitatea Tehnică a Moldovei

În experimente pe șobolani albi de ambele sexe, s-a stabilit, că consumul pe termen lung a biomasei de streptomicete a tulpinilor *Streptomyces massasporeus CNMN-06* și, într-o măsură mai mică, *Streptomyces fradiae CNMN-Ac-11*, izolate din solurile din Republica Moldova, stimulează semnificativ procesul de învățare în labirintul radial cu opt brațe și contribuie la facilitarea elaborării memoriei de lucru și activării memoriei spațiale pe termen lung, ceea ce argumentează perspicacitatea unor cercetări ulterioare în scopul izolării și identificării substanțelor cu efecte neuroprotective și proprietăți nootropice din biomasa acestor tulpini de streptomicete. Au fost depistate diferențe dintre sexe la învățarea șobolanilor albi în labirintul radial cu opt brațe și la activarea memoriei spațiale de lucru, ceea ce poate mărturisi în favoarea prezenței dimorfismului sexual în zonele creierului, responsabile de învățarea spațială.

Cuvinte-cheie**:** *învățare spațială, memorie spațială de lucru pe termen lung, labirint radial cu opt brațe, streptomicete, biomasă, metaboliți cu acțiune neuroprotectoare și nootropă.*

SPATIAL LEARNING AND MEMORY OF WHITE RATS IN THE EIGHT-ARM RADIAL MAZE UNDER THE INFLUENCE OF THE BIOMASS OF STREPTOMYCETES ISOLATED FROM THE SOILS OF THE REPUBLIC OF MOLDOVA

In experiments on white rats of both sexes, it was established that long-term consumption of biomass of streptomycetes of the *Streptomyces massasporeus* CNMN-06 strains and, to a lesser extent, *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11, isolated from the soils of the Republic of Moldova, significantly stimulates the learning process in the eight-arm radial maze and promotes facilitating the development of working and activation of long-term spatial memory, which shows the promise of further research with the aim of isolating and identifying substances with neuroprotective and nootropic properties from the biomass of these strains of streptomycetes. Sex differences were found in the learning of white rats in the radial eight-arm maze and the activation of working spatial memory, which may indicate the presence of sexual dimorphism in the brain areas responsible for spatial learning.

Keywords: *spatial learning, spatial working and long-term memory, eight-arm radial maze, streptomycetes, biomass, metabolites with neuroprotective and nootropic effects.*

Introducere

Cercetările mecanismelor neurochimice și moleculare ale memoriei și învățării neurologice sunt foarte intensive în ultimele decenii. Cu toate acestea, în pofida volumului imens de material experimental, a îmbunătățirii constante a tehnicilor experimentale și a succeselor indiscutabile obținute de diverși cercetători, o gamă largă de probleme rămân încă neclare, iar tentativele de creare a unei teorii unificate, care ar explica în mod cuprinzător și consecvent toate aspectele acestui fenomen complex se confruntă cu dificultăți semnificative [1, 2, 3]. Reacția organismului animalului la circumstanțele, care se repetă se dovedește ade-

sea a fi complet diferită de ceea ce se întâmplă atunci când se confruntă cu acestea pentru prima dată. Acest lucru se întâmplă din cauza capacității sistemelor vii de a învăța, adică a prezenței unei astfel de caracteristici specifice precum memoria, a cărei existență determină, în mare măsură, comportamentul individual al fiecărui animal și persoană, condiționat de experiența sa personală [4, 5].

Testarea neurocomportamentală este un instrument important și extrem de comod la realizarea cercetărilor, deoarece permite obținerea datelor noi despre diverse manifestări ale funcțiilor cognitive la animalele studiate, evaluarea cu precizie a capacității lor de a învăța, percepția spațială, memoria [6] și, de asemenea, permite depistarea prezenței leziunilor în anumite zone ale creierului ca urmare a dezvoltării unui sau altui proces patologic [7, 8]. Capacitatea de a studia funcțiile cognitive și diferitele tipuri de memorie, folosind modele experimentale de animale, utilizând teste neurocomportamentale prezintă o sursă deosebit de importantă de informații despre schimbările care apar sub influența preparatelor nutriționale sau farmacologice și reprezintă, de asemenea, un avantaj indiscutabil în comparație cu modelele *in vitro* [9].

Labirintul radial și labirintul de apă Morris sunt instrumente importante pentru studiul învățării și memoriei spațiale la șobolani în condiții controlate [10-12].

În ultimele decenii, s-a descoperit, că metaboliții secundari ai unui șir de tulpini de streptomicete sunt capabili să exercite un efect neuroprotector în diferite modele de neurodegenerare [13-20]. O serie de studii au arătat, că capacitatea idioliților streptomicetelor de a preveni neurodegenerările se datorează în primul rând efectului lor antioxidant, precum și capacității de a inhiba toxicitatea L-glutamatului și de a stimula neuritogeneza și etapele neurogenezei. Din produsele metabolice ale diferitelor tulpini de streptomicete au fost izolați inhibitori specifici ai peroxidării lipidice a membranelor celulare, cum ar fi benzastatine, pirazine, alcaloizi pirolizidinici, antiostatine, carbazochinocine, bentocianine și este demonstrată importanța lor ca substanțe neuroprotectoare puternice în condițiile inducerii peroxidării lipidelor [21-25]. O serie de studii au constatat, că astfel de metaboliți secundari ai streptomicetelor precum aestivofoeninele A și B, benzastatinele C, D, H și I, fenazostatinele, mescengricina, carquinostatinul B, fenazinele [26-28], precum și pontemazinele A și B, izolate din tulpina *Streptomyces sp. UT1123* își exercită efectul neuroprotector ca inhibitori ai toxicității glutamatului.

În pofida numărului tot mai mare de rapoarte privind efectele produselor metabolice ale streptomicetelor asupra proceselor neuronale, efectul acestora asupra comportamentului animal a fost studiat foarte puțin. Datele obținute în rezultatul acestor studii prezintă, fără îndoială, un mare interes pentru elaborarea preparatelor farmacologice cu proprietăți neuroprotectoare și nootrope, bazate pe metaboliții secundari ai streptomicetelor. La studierea efectelor metaboliților secundari ai tulpinilor *Streptomyces avermectilis* și *Streptomyces lincolniensis* – avermectinelor doramectină și ivermectină asupra reacțiilor comportamentale ale șobolanilor albi, în special, a fost evidențiat efectul lor anxiolitic [29-31]. Folosind tehnicile Open Field, Elevated Plus Maze și Conflict Behavior, s-a constatat că, în doze terapeutice, acești metaboliți secundari ai streptomicelor reduc nivelul anxietății și al stresului și protejează șobolanii de efectele convulsive ale pentilentetrazolului și picrotoxinei.

În studiile efectuate anterior la Institutul de Fiziologie și Sanocreatologie al AȘM în colaborare cu colegii de la Institutul de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM, folosind un model de evitare bilaterală a influențelor negative într-o cameră naveta (*shuttle box*), s-a constatat, că pe termen lung (60-90 zile) consumul de către șobolani albi de ambele sexe, a biomasei tulpinilor *Streptomyces massasporeus CNMN-Ac-06* și *Streptomyces fradiae CNMN-Ac-11*, izolate din solurile din zona centrală a Republicii Moldova, facilitează dezvoltarea reflexelor condiționate defensive și contribuie la creșterea vitezei reacțiilor motorii direcționate [15, 16]. Ulterior, în experimente pe șobolani de diferite vârste, s-a depistat, că biomasa tulpinilor de streptomicete sus-menționate stimulează într-o măsură mai mare dezvoltarea reflexului condiționat de evitare activă la animalele senile cu simptome de neurodegenerare, comparativ cu cele tinere, facilitând astfelîn în mod semnificativ, procesul de învățare reflector condiționată și încetinirea „stingerii” vestigiilor memoriei reflector condiționate (într-o măsură mai mare la animalele senile) [17]. Până în prezent, efectul metaboliților streptomiceților asupra învățării și memoriei spațiale la șobolani nu a fost studiat. Datele unor astfel de studii prezintă un interes major pentru elaborarea preparatelor cu proprietăți neuroprotectoare și nootrope pe baza metaboliților secundari ai streptomicetelor.

Scopul acestei lucrări este de a studia efectul consumului pe termen lung a biomasei tulpinilor *Streptomyces massasporeus CNMN-Ac-06* și *Streptomyces fradiae CNMN-Ac-11*, izolate din solurile din zona centrală a Republicii Moldova, asupra învățării și memoriei spațiale a șobolanilor albi Wistar de ambele sexe într-un labirint radial cu opt brațe.

Metode și materiale

Studiile au fost efectuate pe șobolani albi de laborator de ambele sexe din rasa Wistar (36 masculi și 18 femele), întreținuți în condiții standard de vivariu cu acces liber la apă și hrană, 12/12 ore de lumină și întuneric, ținând cont de recomandările Convenției europene privind tratamentul uman al animalelor de laborator. Ca aditiv alimentar biologic activ, a fost utilizată biomasa tulpinilor de streptomicete *Streptomyces massasporeus CNMN-Ac-06* și *Streptomyces fradiae CNMN-Ac-11*, din Colecția Națională de Microorganisme Nepatogene a Institutului de Microbiologie și Biotehnologie al Universității Tehnice a Moldovei, izolate din probe de sol din partea centrală a Republicii Moldova. Cultivarea tulpinilor de streptomicete a fost efectuată în Institutul de Microbiologie și Biotehnologie pe un mediu nutritiv standard (g/l): făină de porumb – 2,0, făină de soia – 1,0, NaCl – 0,5, CaCO – 0,1, pH 7,0-7,2.

Investigațiile învățării spațiale și memoriei în labirintul radial cu opt brațe. au fost efectuate pe șobolani albi de ambele sexe (36 masculi și 36 femele). Animalele din fiecare grup sexual (câte 6 șobolani fiecare) au fost împărțite în trei subgrupe: martor și două experimentale. Mai mult, pentru a compara cele două durate de retard diferite, jumătate dintre animale au fost testate cu o întârziere de 30 s, iar cealaltă jumătate au fost lăsate în centrul labirintului pentru o întârziere de 10 min. Studiile în labirintul de apă Morris au fost efectuate pe 18 șobolani masculi albi, care au fost împărțiți în trei subgrupe: martor și două experimentale (în fiecare câte 6 șobolani).

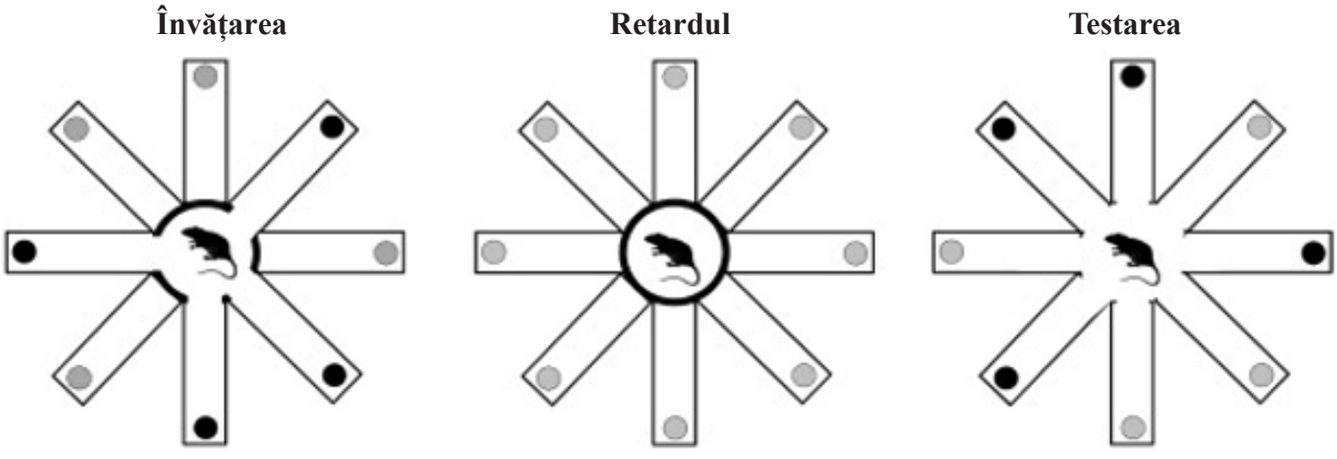
Animalele din loturile martor au fost întreținute cu o dietă standard; animalele din loturile experimentale, începând cu vârsta de 8 săptămâni, au primit zilnic biomasă uscată de tulpini de streptomicete ca aditiv alimentar la dieta standard timp de 90 de zile în doză de 250 mg/ kg greutate corporală: lotul experimental nr. 1 – *Streptomyces massasporeus CNMN-Ac-06* (BM1), și grupul experimental nr. 2 – *Streptomyces fradiae CNMN-Ac-11* (BM2). La 90 de zile de la începerea hrănirii animalelor cu hrană, care conținea biomasă de streptomicete și la atingerea lor a vârstei de 5 luni, s-a inițiat studierea învățării spațiale și memoriei, folosind două instalații: un labirint radial cu opt brațe și un labirint de apă Morris. Pe tot parcursul experimentului, animalele din subgrupele experimentale au continuat să primească biomasă de streptomicete cu hrana.

Să precăutăm în calitate de instalație experimentală de laborator un labirint radial cu opt brațe pentru evaluarea memoriei spațiale, de lucru și a memoriei pe termen lung [10, 19, 20, 32]. Pentru testare, s-a utilizat un dispozitiv cu o lungime a brațelor radiale de 85 cm, o lățime a brațelor radiale de 12,5 cm, cu un diametru al părții centrale de 34 cm, o înălțime a peretelui de 20 cm, o înălțime deasupra podelei de 70 cm, la confecționarea căruia s-a folosit clorură de polivinil (PVC) galbenă. Fiecare braț al labirintului este separat de platforma centrală printr-o ușă-ghilotină detașabilă, iar la capătul brațului se afla o hrănitoare de carton pentru recompensarea cu hrană.

Experimentul a constat din următoarele etape: obișnuire (timp de 5 zile), învățare și testare (timp de 10 zile). În timpul etapei de obișnuire, animalul a fost plasat în centrul labirintului timp de 5 zile pentru a se familiariza cu dispozitivul. După un minut, toate cele opt uși-ghilotină au fost deschise simultan, cu o recompensă alimentară (o bucată de ou fiert) plasată în prealabil la capătul fiecărui braț, iar animalul a fost lăsat să exploreze întregul aparat timp de 10 min. Faza de obișnuire s-a încheiat atunci, când fie au fost consumate toate cele opt recompense alimentare, fie au trecut 10 min. Folosind o cameră video digitală cu trepied portabil, s-a înregistrat numărul de brațe ale labirintului, care au fost vizitate și numărul de bucăți de ou consumate (maximum 8).

Animalele au fost testate o dată pe zi timp de 10 zile. Fiecare încercare a constat din trei faze: de învățare, de retard și o fază de testare, care au fost întotdeauna efectuate în același mod (fig. 1). În timpul experimentului, a fost luată o pauză în zilele a 8-a și a 9-a pentru a evalua activarea memoriei pe termen lung în a 10-a zi. Evaluarea memoriei spațiale pe termen lung a fost efectuată în a 30-a zi a experimentului.

Fig. 1. Procedura de testare în labirintul radial cu opt brațe: fazele de învățare și testare separate printr-un retard de 30 de s sau 10 min.



În timpul fazei de învățare, patru brațe selectate aleatoriu au fost deschise, iar celelalte patru brațe ale labirintului au fost blocate de ușile-ghilotină. Șobolanii au fost lăsați să intre în cele patru brațe deschise și să scoată recompensa alimentară timp de 5 min. După ce a primit toate cele patru recompense, animalul a fost lăsat în centrul labirintului cu retard de 30 s sau 10 min. Ulterior, toate cele opt uși au fost deschise simultan și animalul a început faza de testare. În această etapă, recompensa alimentară a fost plasată în acele brațe care au fost blocate în timpul fazei de învățare (fig.1). Astfel, era de așteptat, ca șobolanul să intre în acele brațe, care nu au fost vizitate în timpul fazei de antrenament. Faza de testare a început cu deschiderea ușilor, permițând șobolanului să intre în brațe și s-a încheiat când șobolanul a preluat ultima recompensă alimentară.

Pe durata experimentului, au fost înregistrate numărul de intrări corecte în brațe (cu extragerea unei recompense alimentare) și numărul de erori (orice intrare incorectă în braț), urmate de o evaluare a memoriei spațiale (în puncte) folosind formula: (numărul de intrări corecte) – (numărul de intrări incorecte) / (numărul de intrări corecte) + (numărul de intrări incorecte). Metoda de calcul descrie performanța individuală a memoriei: indicatorul 1 reflectă executarea fără erori a testului, iar indicatorul -1 indică rezultatul opus (nici o intrare corectă).

Datele obținute au fost prelucrate statistic prin ANOVA folosind testul t Student.

Rezultate și discuții

Analiza dinamicii punctajului mediu al memoriei spațiale (PMMS) la șobolanii din grupurile martor arată, că durata fazei de retard (FR) la testarea animalelor în labirintul radial cu opt brațe are un impact semnificativ asupra procesului de învățare, în special la etapa inițială a experimentului (fig. 2-5). Astfel, la șobolanii masculi din loturile martor în condiții FR de 30 s în prima zi de învățare, PMMS a fost (-0,68±0,12 puncte), în a doua – (-0,61±0,19 puncte), în a treia – (-0,56±0,24 puncte), în a patra – (-0,49±0,17 puncte), iar în a cincea – (-0,38±0,08 puncte), în timp ce în condițiile FR de 10 min în prima zi a constituit (-0,36±0,12 puncte), în a doua – (-0,31±0,11 puncte), în a treia – (-0,25±0,14 puncte), în a patra – (- 0,17±0,16 puncte), iar în a cincea – (-0,09±0,13 puncte). Diferențele dintre PMMS la șobolanii masculi din grupurile martor cu diferite FR în zilele 1-5 de antrenament au variat de la 0,29±0,11 la 0,32±0,21 puncte (fig. 2 și 3). La etapa ulterioară a învățării (zilele 6-10), diferențele dintre PMMS la șobolanii masculi din grupurile martor cu diferite FR au variat de la 0,20±0,09 la 0,22±0,12 puncte. Trebuie de menționat, că aceste date contrazic rezultatele obținute mai devreme, unde odată cu creșterea duratei întârzierii sunt observate dereglări în procesul de învățare [11], dar coincid cu datele obținute ulterior, care arată efectul pozitiv al creșterii duratei de retard în anumite limite și la o anumită etapă a experimentelor [20].

Fig. 2. Dinamica punctajului mediu al memoriei spațiale la șobolanii masculi în labirintul radial cu opt brațe cu un retard de 30 s sub influența biomasei tulpinilor Streptomyces massasporeus CNMN-Ac-06 (BM1) și Streptomyces fradiae CNMN-Ac-11 (BM2).

***- diferențe semnificative față de martor p<0,05, **- diferențe semnificative între BM1 și BM2 p<0,05.**

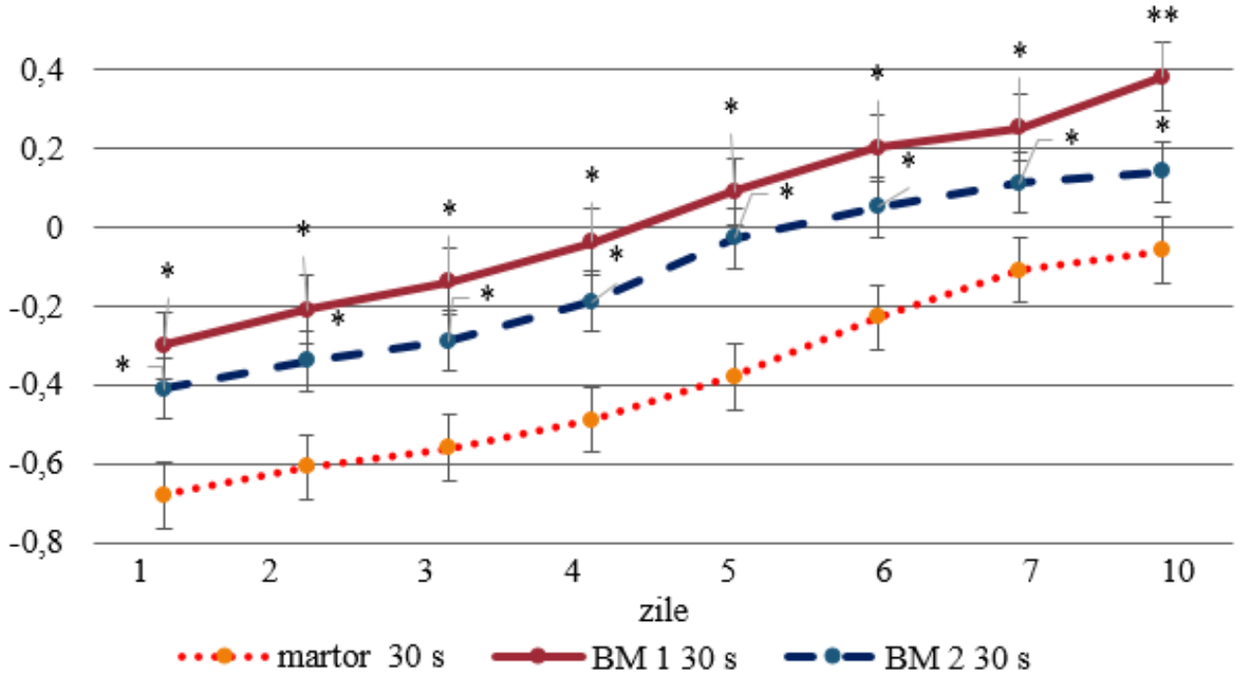


Fig. 3. Dinamica punctajului mediu al memoriei spațiale la șobolani masculi în labirintul radial cu opt brațe cu un retard de 10 min sub influența biomasei tulpinilor Streptomyces massasporeus CNMN-Ac-06 (BM1) și Streptomyces fradiae CNMN-Ac-11 (BM2).

***- diferențe semnificative față de martor p<0,05, **- diferențe semnificative între BM1 și BM2 p<0,01-0,05.**

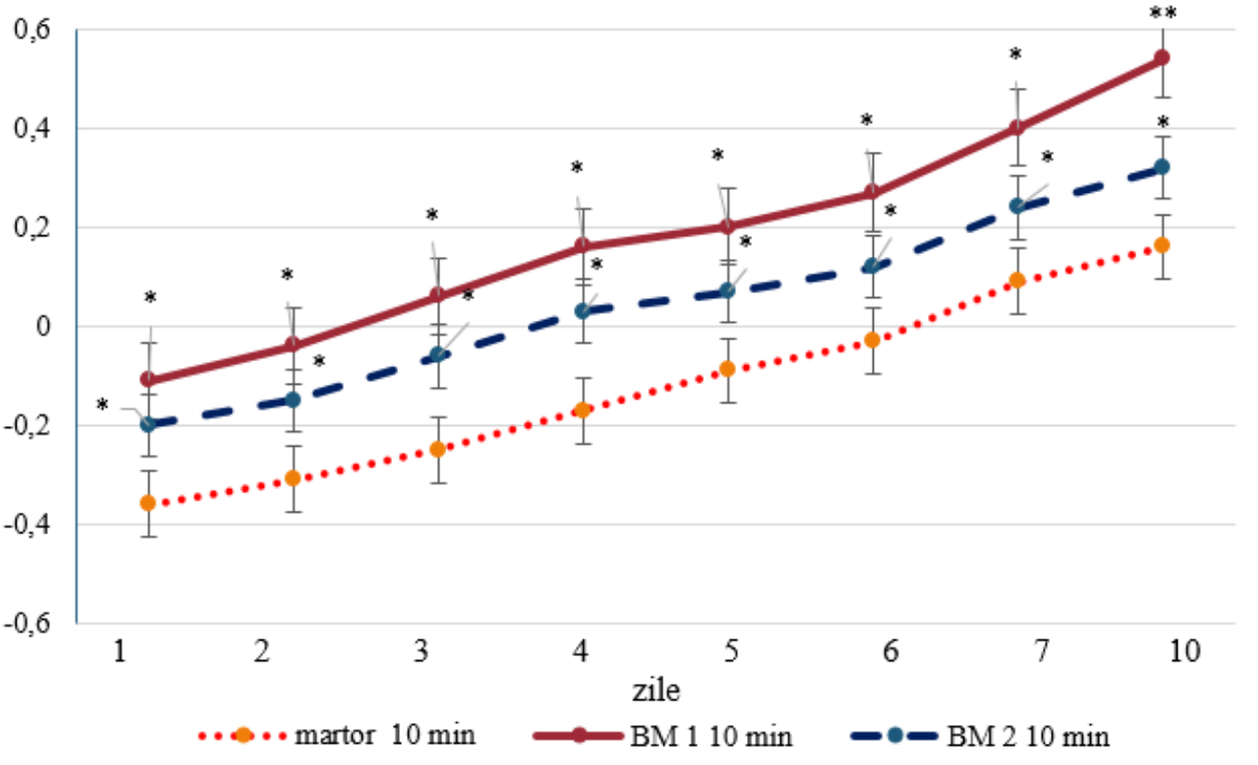


Fig. 4. Dinamica punctajului mediu al memoriei spațiale la femelele de șobolan în labirintul radial cu opt brațe cu un retard de 30 s sub influența biomasei tulpinilor Streptomyces massasporeus CNMN-Ac-06 (BM1) și Streptomyces fradiae CNMN-Ac-11 (BM2).

***- diferențe veridice față de martor p<0,05, **- diferențe veridice între BM1 și BM2 p<0,05.**

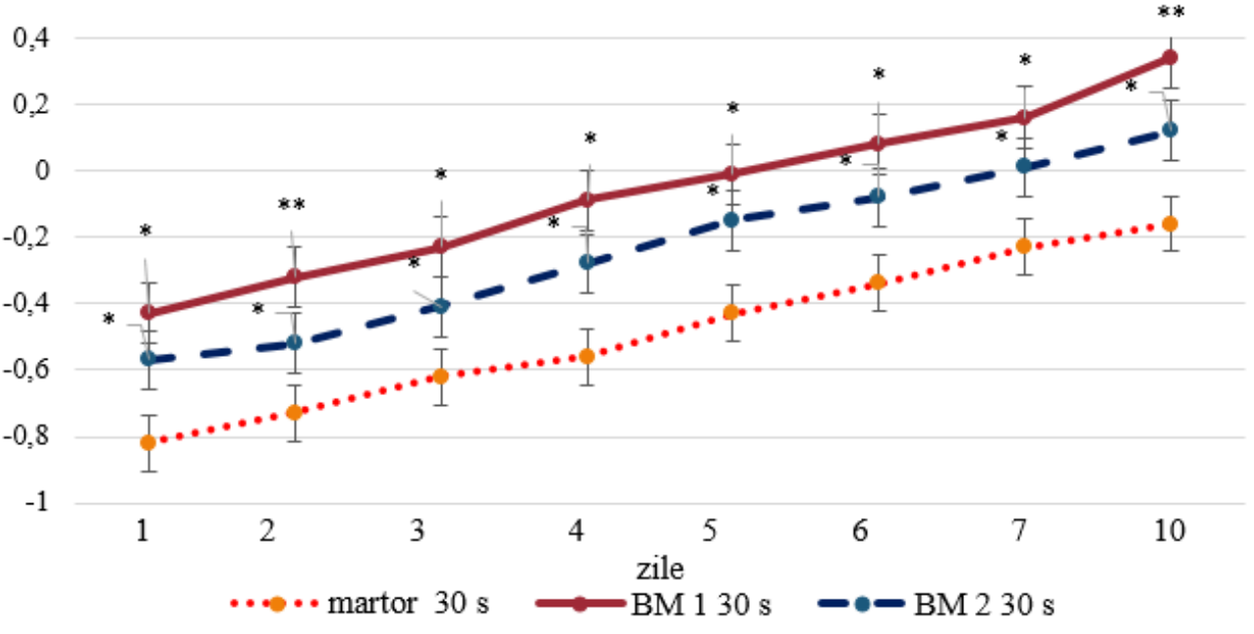
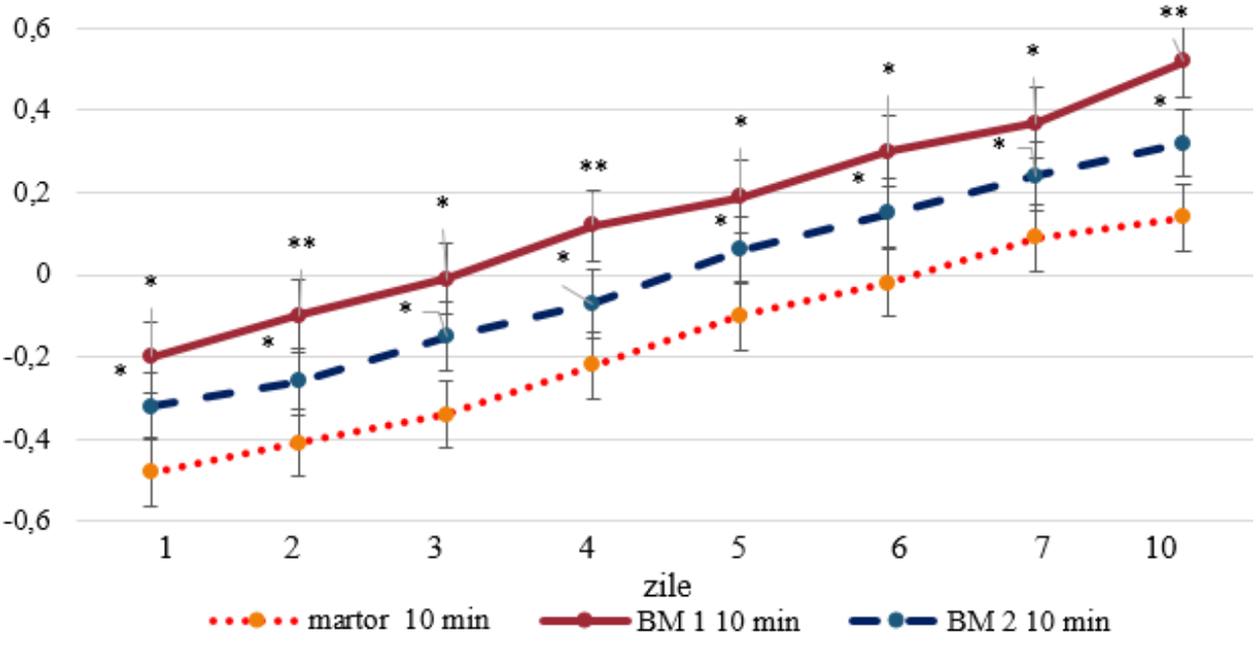


Fig. 5. Dinamica punctajului mediu al memoriei spațiale la femelele de șobolan în labirintul radial cu opt brațe cu un retard de 10 min sub influența biomasei tulpinilor Streptomyces massasporeus CNMN-Ac-06 (BM1) și Streptomyces fradiae CNMN-Ac-11 (BM2).

***- diferențe veridice față de martor p<0,01, **- diferențe veridice între BM1 și BM2 p<0,01.**



În rezultatul observațiilor privind efectul retardului asupra comportamentului animalelor, se poate presupune, că șobolanii în condițiile de FR de 30 s au avut nevoie de mai mult timp pentru a finaliza faza de testare, și la acești șobolani, memorarea a fost în mod clar mai proastă. Utilizarea ușilor-ghilotină provoacă acestor animale o reacție de oprire bruscă pe termen scurt – comportament pe care șobolanii îl prezintă, de obicei, în situații stresante. Astfel, procedura de deschidere și închidere a ușilor-ghilotină la începutul

fazei de testare ar putea reprezenta un factor de stres incontrolabil, care perturbă atenția animalelor. Timp de 10 min acești factori de stres au fost dispersați în timp, permițând animalelor să se recupereze după stimulii stresori din timpul testării. Și invers, stimulii potențial stresori au acționat o perioadă scurtă de timp în condiția FR de 30 s și, posibil ca șobolanii să nu fi reușit să se recupereze complet în urma primului factor de stres înainte de apariția factorului de stres ulterior. Ca urmare, atenția a fost afectată numai la animalele din grupurile cu retard de scurtă durată, iar învățarea a fost afectată în condițiile FR de 30 s, dar nu și de 10 min.

La fel ca la șobolanii masculi, la femele durata FR a influențat PMMS, și o durata mai lungă a FR duce la creșterea PMMS (fig. 4 și 5). Prezintă interes faptul, că la femelele de șobolan PMMS este mai mic decât la masculi, atât în condițiile FR de 30 s, cât și 10 min. Astfel, la femelele din loturile martor în condițiile FR de 30 s în prima zi de învățare, PMMS a constituit (-0,82±0,19) puncte, în a doua – (-0,73±0,29) puncte, în a treia – (-0,62±0,21) puncte, în a patra – (-0,53±0,27) puncte, iar a cincea – (-0,43±0,12) puncte, în timp ce în condițiile FR de 10 min în prima zi de învățare PMMS a fost de (-0,48±0,12) puncte, în a doua – (-0,41±0,15) puncte, în a treia – (-0,34±0,21) puncte, pe a patra – (-0,22±0,18) puncte, iar a cincea – (-0,10±0,09) puncte. Diferențele dintre PMMS la femelele de șobolan din grupurile martor cu FR diferite în zilele 1-5 de învățare au variat de la 0,28±0,09 la 0,34±0,13 puncte (fig. 4 și 5). La etapa ulterioară de învățare (zilele 6-10), diferențele dintre PMMS la femelele din grupurile martor cu FR diferite au variat de la 0,30±0,18 la 0,32±0,21 puncte. Astfel, la femelele de șobolan, reflexele condiționate spațiale sunt elaborate mai greu, decât la masculi în stadiul inițial de antrenament. În cercetările noastre anterioare a fost arătat că, spre deosebire de aceasta, la femelele de șobolan reflexele condiționate defensive în camera-navetă, la utilizarea unui stimul electrocutanat în calitate de recompensă necondiționată, se elaborează cu aceeași viteză și uneori mai ușor, decât la masculi [15, 16].

Conform literaturii de specialitate, este cunoscut, că memoria de lucru, în anumite zone ale creierului, reprezintă dimorfism sexual [33], iar în labirintul radial a fost observat un avantaj mare și de încredere al șobolanilor masculi. Funcțiile prefrontale sunt diferențiate în funcție de sex, iar memoria indusă emoțional pare să fie diferențiată după sex în corpul amigdaloid. Dar, mai important este și faptul că nucleul suprachiasmatic (forma, numărul de celule), precum și hipocampul (densitatea spinilor dendritici în neuronii hipocampali, conectivitatea lor), sunt strâns asociate cu învățarea și memoria [34] și reprezintă structuri cu dimorfism sexual. De fapt, hipocampul masculin diferă de cel feminin semnificativ privind structura sa anatomică (având un volum mai mare al hipocampului), neurochimia și răspunsul la situații stresante. S-a remarcat în literatură, de asemenea, că ciclul estrusului influențează strategia de învățare a labirintului la femelele de șobolan [12]. Hormonii sexuali, cum ar fi estrogenii, pot modifica excitabilitatea activității hipocampului, pot influența legarea receptorilor NMDA și plasticitatea neuronală, precum și potențarea pe termen lung. Acest lucru sugerează că hipocampurile masculin și feminin diferă semnificativ în răspunsul lor la situații stresante.

Rezultatele cercetării învățării spațiale și memoriei sub influența biomasei tulpinilor *Streptomyces massasporeus CNMN-Ac-06* (BM1) și *Streptomyces fradiae CNMN-Ac-11* (BM2) cu utilizarea labirintului radial cu opt brațe au arătat, că consumul pe termen lung de biomasă de streptomicete de către șobolanii albi de ambele sexe contribuie la o creștere vizibilă a numărului de intrări corecte în brațele labirintului cu extragerea recompenselor alimentare și o reducere a numărului de erori (orice intrare incorectă în brațe), ceea ce duce la o creștere vizibilă a valorii PMMS, altfel spus, ajută la facilitarea procesului de învățare, la activarea și păstrarea unui vestigiu al memoriei spațiale (fig. 2-5).

După cum am menționat mai sus, folosind un alt model, am constatat că consumul pe termen lung al lichidului de cultură și, în special, de biomasă a tulpinilor *Streptomyces massasporeus CNMN-Ac-06* și *Streptomyces fradiae CNMN-Ac-11* de către șobolanii albi de ambele sexe facilitează dezvoltarea reflexelor condiționate defensive și contribuie la creșterea vitezei reacțiilor motorii direcționate [15, 16]. Biomasa acestor tulpini de streptomicete stimulează într-o măsură mai mare elaborarea reacției condiționate de evitare activă la animalele senile cu semne de neurodegenerare, comparativ cu cele tinere și, de asemenea, reduce semnificativ perioada de latență a reacției de evitare la diferite termene după dezvoltarea reacției condiționate de evitare activă, contribuind la încetinirea dispariției vestigiilor memoriei reflector condiționate (într-o măsură mai mare la animalele senile) [17, 35].

Continuând să descriem datele noastre, trebuie remarcat faptul, că biomasa tulpinilor *Streptomyces massasporeus CNMN-Ac-06* și *Streptomyces fradiae CNMN-Ac-11* facilitează în diferită măsură dezvoltarea memoriei spațiale. După cum se poate observa în fig. 2-5, consumul pe termen lung al preparatului BM1 de către șobolanii albi crește PMMS într-o măsură mai mare, comparativ cu preparatul BM2. În unele cazuri, efectele BM1 și BM2 asupra procesului de învățare sunt semnificativ diferite, în special în a doua etapă a testării, după o pauză în zilele a 8-a și a 9-a.

De remarcat, de asemenea, că eficiența biomasei de streptomicete este mai mare la FR de 30 s, comparativ cu cea de 10 min și, în special, în stadiul inițial al experimentelor (zilele 1-4). De exemplu, la șobolanii masculi în condiții FR de 30 s, preparatul BM1 contribuie la o creștere a PMMS în prima zi – cu 0,38±0,11 puncte, în a doua – cu 0,4±0,25 puncte, în ziua a treia – cu 0,42±0,19 puncte, în ziua a patra – cu 0,42±0,17 puncte, iar în condițiile FR de 10 min în prima zi – cu 0,25±0,13 puncte, în a doua – cu 0,27±0,14 puncte, în ziua a treia – cu 0,31±0,18 puncte, în ziua a patra – cu 0,33±0,22 puncte. La femelele de șobolan, preparatul BM1 contribuie la o creștere a PMMS în ziua 1 – cu 0,34±0,16 puncte, în ziua 2 – cu 0,39±0,18 puncte, în ziua 3 – cu 0,41±0,20 puncte, în ziua 4 – cu 0,45±0,23 puncte și în condițiile FR de 10 minute în ziua 1 – cu 0,28±0,09 puncte, în ziua 2 – cu 0,31±0,12 puncte, în ziua 3 – cu 0,33±0,19 puncte, iar în ziua 4 – cu 0,34±0,27 puncte.

Se poate presupune, că eficiența mai semnificativă a biomasei de streptomicete cu FR de 30 s față de 10 min în stadiul de învățare al animalelor este asociată cu efectul lor antioxidant, care a contribuit la reducerea consecințelor negative ale stresului asupra celulelor nervoase. Cu toate acestea, eficiența biomasei de streptomicete rămâne semnificativă chiar și în cazul FR de 10 minute, precum și în a doua etapă de antrenament, după obișnuirea animalelor și reducerea nivelului de stres. Aceasta sugerează prezența în biomasa streptomicetelor, alături de metaboliți cu efecte antioxidante care au efect neuroprotector, și a metaboliților cu capacitate de a stimula neurogeneza și sinaptogeneza.

S-a demonstrat, că mecanismul de acţiune al inubozinelor A şi B, produse de tulpina *Streptomyces sp. IFM 11440* izolată din solurile din Prefectura Kiba (Japonia), care accelerează diferențierea celulelor stem neuronale, este asociat cu creșterea expresiei ARNm ai factorilor de transcripție proneurali neurogeninele 1 și 2 (Ngn1 și Ngn2), factorului de diferențiere neurogenă 2 (NeuroD2) și factorului proneural neurotrofic de creștere a neurotrofinei 3 (NT-3) [36]. Spre deosebire de inubosina A, inubosina B este capabilă să activeze semnificativ neurogenina 2 (Ngn2) [37], care reprezintă un factor proneural de transcripție bHLH implicat atât în neurogeneză, cât și în specificația neuronală [38]. Această proteină se leagă de elementele de reglare a casetei de amplificare pe promotorii multor gene asociate cu neurogeneza și specificația neuronală. Prin urmare, activatorii promotorului Ngn2, cum ar fi inubosina B, pot accelera diferențierea celulelor stem neuronale. Deoarece inubozina A nu manifestă activitate de promotor Ngn2, mecanismul acțiunii sale asupra diferențierii celulelor stem neuronale este realizat pe alte căi [36].

Lactacistina, sintetizată de tulpina de streptomicete *Streptomyces lactacystinaeus*, izolată din solurile japoneze, este un inductor al neuritogenezei în celulele neuroblastomului [39]. Autorii au demonstrat, că ținta pentru lactacistină este proteazomul – un complex multiproteic, care realizează pas cu pas hidroliza selectivă, proces metabolic cu capacitate energetică înaltă, precum și procesarea proteinelor intracelulare cu implicarea proteolizei până la peptide scurte. Lactacistina a fost primul inhibitor non-peptidic al proteazomilor descoperit datorită afinității sale pentru anumite subunități catalitice proteazomale [39].

Concluzii

1. Consumul pe termen lung al biomasei tulpinilor de streptomicete *Streptomyces massasporeus CNMN-06* și, într-o măsură mai mică, *Streptomyces fradiae CNMN-Ac-11*, izolate din solurile Republicii Moldova, stimulează semnificativ procesul de învățare al șobolanilor albi de ambele sexe în labirintul radial cu opt brațe și contribuie la facilitarea elaborării la aceștea a memoriei de lucru și activării celei spațiale pe termen lung, ceea ce indică perspicacitatea unor cercetări ulterioare cu scopul de a izola și identifica substanțe cu proprietăți neuroprotectoare și nootrope din biomasa acestor tulpini de streptomicete.

2. Durata fazei de retard în procesul de învățare al animalelor afectează formarea memoriei spațiale, precum și eficacitatea biomasei de streptomicete în raport cu activitatea reflector-condiționată. La o fază de

retard mai lungă (10 min), crește punctajul mediu și general al memoriei spațiale, iar la o durată mai scurtă a fazei de retard (30 s), crește eficiența biomasei de streptomicete, ceea ce poate mărturisi despre prezența în compoziția lor, de rând cu metaboliți cu capacitate stimulatoare a neurogenezei și sinaptogenezei, și a celor cu efecte antioxidante.

3. Au fost depistate diferențe dintre sexe la învățarea șobolanilor albi în labirintul radial cu opt brațe și la activarea memoriei spațiale de lucru, ceea ce poate mărturisi în favoarea prezenței dimorfismului sexual în zonele creierului, responsabile de învățarea spațială.

Referințe:

1. BALABAN, P. M., ROSHCHIN, M., TIMOSHENKO, A. K., GAINUTDINOV, K. L., BOGODVID, T. K., MURANOVA, L. N., ZUZINA, A. B., KORSHUNOVA, T. A. *Nitric oxide is necessary for labilization of a consolidated context memory during reconsolidation in terrestrial snails*. In: *Eur. J. Neurosci*. 2014, 40: 2963-2970.
2. BALABAN, P. M., ROSHCHIN, M., TIMOSHENKO, A. K., ZUZINA, A. B., LEMAK, M., IERUSALIMSKY, V. N., ASEYEV, N. A., MALYSHEV, A. Y. *Homolog of protein kinase Mζ maintains context aversive memory and underlying long-term facilitation in terrestrial snail Helix.* In: *Front. Cell. Neurosci*. 2015, 9: 222.
3. BISAZ, R., TRAVAGLIA, A., ALBERINI, C. M. *The neurobiological bases of memory formation: from physiological conditions to psychopathology.* In: *Psychopathology,* 2014, 47(6):347-356.
4. ALDERSON, R. M., KASPER, L. J., PATROS, C. H., HUDEC, K. L., TARLE, S. J., LEA, S. E. *Working memory deficits in boys with attention deficit/hyperactivity disorder (ADHD): An examination of orthographic coding and episodic buffer processes.* In: *Child Neuropsychol,* vol. 15, 2014, p. 1-22.
5. SAIDOV, KH. M., ANOKHIN, K. V. *New Approaches in Cognitive Neurobiology: Methods of Molecular Marking and Ex Vivo Imaging of Cognitively Active Neurons.* In: *Neuroscience and Behavioral Physiology*, 2018, vol. 48, № 7, p. 804-812.
6. VAN DER STAAY., F. J., ARNDT, S. *Evaluation of animal models of neurobehavioral disorders*. In: *Behavioral and brain functions: BBF*, 2009, 5:11.
7. XIONG, Y., MAHMOOD, A., CHOPP, M. *Animal models of traumatic brain injury.* In: *Nat Rev Neurosci.* 2013, 14 (2): 128-142.
8. MORRIS, R. *Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat.* In: *J. Neuroscience Methods*, 1984, 11 (1): 47-60.
9. VAN DER STAR, B. J., VOGEL, D. *In vitro and in vivo models of multiple sclerosis.* In: *CNS & Neurological Disorders Drug Targets*, 2012, 11 (5): 570-88.
10. KANDEL, E. R., DUDAI, Y., MAYFORD, M. R. *The molecular and systems biology of memory*. *Cell.* 2014, 157(1):163–186.
11. EVUARHERHE, O., BARKER, G. R. I., SAVALLI, G., WARBURTON, E. C., BROWN, M. W. *Early memory formation disrupted by atypical PKC inhibitor ZIP in the medial prefrontal cortex but not hippocampus.* In: *Hippocampus*, 2014, 24: 934-942.
12. САТКЛИФФ, ДЖ., МАРШАЛЛ, К. М., НИЛ, ДЖ. К. *Влияние пола на рабочую и пространственную память в новой задаче распознавания объектов у крыс.* In: *Behavioral Brain Research*, vol. 177, 1, 2007, p. 117-125.
13. 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. 1224.
14. SPINOSA, H. S., STILCK, S. R., BERNARDI, M. M. et al. *Possible anxiolytic effects of ivermectin in rats.* In*: Vet. Res. Commun.,* 2002, vol. 26, nr. 4, p. 309-321.
15. ШЕПТИЦКИЙ, В. А., БРАТУХИНА, А. А., БУРЦЕВА, С. А. *Условно-рефлекторная деятельность белых крыс при длительном потреблении биопрепаратов на основе метаболитов Streptomyces massasporeus.* В: *Buletinul AŞM. Ştiinţele vieţii,* 2011, nr. 2 (302), p. 7-12.
16. ШЕПТИЦКИЙ, В. А., БЕРЕЗЮК, Ю. Н., БУРЦЕВА, С. А. *Условно-рефлекторная деятельность белых крыс при длительном потреблении биомассы штамма Streptomyces fradiae CNMN-Ac-11.* В: *Buletinul AŞM. Ştiinţele vieţii,* 2017, nr. 1 (331), p. 16-24.

17. ŞEPTIŢCHI, V., VASILICIUC, A., GARBUZNEAC, A., LEORDA, A., MANGUL, O., BURŢEVA, S., FILIPENCO, E., TIHONENCOVA, L. *Influenţa consumului pe termen lung al biomasei tulpinilor Streptomyces massasporeus CNMN-06 şi Streptomyces fradiae CNMN Ac-11 asupra învăţării şi memoriei reflector- condiţionate a şobolanilor albi de diferite vârste*. În: *Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţele vieţii,* 2021, nr. 2 (344), p. 72-82. ISSN 1857-064X.
18. GOTO, A., BOTA, A., MIYA, K., WANG, J., TSUKAMOTO, S. et al. *Synaptic plasticity events drive the early phase of memory consolidation.* In: *Science,* 374, 2021, p. 857-863.
19. HAYASHI, Y. *Molecular mechanism of hippocampal long-term potentiation - towards multiscale understanding of learning and memory.* In: *Neurosci. Res*, 175, 2022, p. 3-15.
20. ORMEROD, B. K., BENINGER, R. J. *Water maze versus radial maze: differential performance of rats in a spatial delayed match-to-position task and response to scopolamine.* In: *Behavioural Brain Research*, 2002, 128: 139-152.
21. WANG, L. Y., XING, M. Y., DI, R., LUO, Y. P. *Isolation, identification and antifungal activities of Streptomyces aureoverticillatus HN6.* In: *J. Plant Pathol. Microb.,* 2015, vol. 6, p. 281.
22. WANG, P., XI, L., LIU, P. et al. *Diketopiperazine derivatives from the marine-derived actinomycete Streptomyces sp. FXJ7.328.* In: *Mar. Drugs.,* vol. 11, 2013, p. 1035-1049.
23. WANG, Y., WANG, L., ZHUANG, Y. et al. *Phenolic Polyketides from the Cultivation of Marine-Derived Penicillium sp. WC-29-5 and Streptomyces fradiae 007.* In: *Marine Drugs,* vol. 12, 2014, p. 2079-2088.
24. ВИНОГРАДОВА, К. А., БУЛГАКОВА, В. Г., ПОЛИН, А. Н. *Стрептомицеты в свете концепции «многоклеточности» бактерий.* В: *Материалы конференции*, 2016, с. 33-47.
25. ГОЛЬДИН, Е. Б. *Биологическая активность микроводорослей и значение в межвидовых взаимоотношениях*. В: *Экосистемы, их оптимизация и охрана*, 9, 2013, с. 49-76.
26. 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: *Journal of Natural Products,* 2015, vol. 78, nr. 2, p. 311-314.
27. HULME, A. J., MAKSOUR, S., ST-CLAIR GLOVER, M. et al. *Making neurons, made easy: The use of Neurogenin-2 in neuronal differentiation. Stem.* In: *Cell. Reports,* 2022, vol. 17, nr. 1, p. 14-34.
28. SER, H. L., TAN, T.-H., PALANISAMY, U. D. et al. *Streptomyces antioxidans sp. nov., Novel Mangrove Soil Actinobacterium with Antioxidative Potentials.* In: *Frontiers in Microbiology*, 2016, nr. 7, p. 899.
29. KIM, W. G., ICK-DONG, Y. Benzastatin J. *New Demethylated Derivative of Benzastatin B Produced by Controlled Fermentation of Streptomyces nitrosporeus.* In: *J. Microbiol. Biotechnol,* vol. 12, nr. 5, 2002, p. 838-840.
30. 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. 1224.
31. SPINOSA, H. S., GERENUTTI, M., BERNARDI, M. M. *Anxiolytic and anticonvulsant properties of doramectin in rats: behavioral and neurochemistric evaluations*. In: *Comp. Biochem. Physiol. &Toxicol. Pharmacol.,* 2000, vol. 127, nr. 3, p. 359-366.
32. MURPHY, H. M., EKSTRAND, D., TARCHICK, M., WIDEMAN, C.H. *Modafinil as a cognitive enhancer of spatial working memory in rats.* In: *Physiol. Behav.* 142, 2015, p. 126-130.
33. DUFF, SJ., HAMPSON, E. *Половые различия в новой задаче пространственной рабочей памяти у людей.* In: *Brain and Cognition,* vol. 47, 3, 2001, p. 470-493.
34. КОРОЛЬ, Д. Л., МАЛИН, Э. Л., БОРДЕН, К. А., БАСБИ, Р. А., КУПЕР-ЛЕО, ДЖ. *Сдвиги в предпочтительной стратегии обучения в течение эстрального цикла у самок крыс.* В: *Гормоны и поведение,* т. 1, с. 45, 5, 2004, стр. 330-338.
35. GARBUZNEAC, A., BIRSA, M., BURTSEVA, S. et al. *Changes in lipid composition of Streptomyces massasporeus CNMN-Ac-06 biomass after long-term storage.* In: *Микробиологический журнал,* Украина, г. Киев, том 80, № 5, 2020, с. 41-47.
36. 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: *Journal of Natural Products,* 2015, vol. 78, nr. 2, p. 311-314.

37. HULME, A. J., MAKSOUR, S., ST-CLAIR GLOVER, M. et al. *Making neurons, made easy: The use of Neurogenin-2 in neuronal differentiation. Stem.* In: *Cell. Reports*, 2022, vol. 17, nr. 1, p. 14-34.
38. JESPERSEN, N., EHRENBOLGER, K., WINIGER, R. R. et al. *Structure of the reduced microsporidian proteasome bound by PI31-like peptides in dormant spores*. In: *Nat. Commun.* 2022: 6962.
39. 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.

Date despre autori:
Anastasia GARBUZNEAC, doctorandă, Universitatea de stat din Moldova.
ORCID: 0000-0003-0649-7006
E-mail: 11_lav_11@mail.ru

Vladimir ȘEPTIȚCHI, doctor habilitat în științe biologice, conferenţiar cercetător, cercetător ştiinţific principal, Institutul de Fiziologie şi Sanocreatologie, Universitatea de stat din Moldova.
ORCID: 0000-0002-6306-7021
E-mail: septitchi@mail.ru

Ana LEORDA, doctor în științe biologice, conferenţiar cercetător, cercetător ştiinţific coordonator, Institutul de Fiziologie şi Sanocreatologie, Universitatea de stat din Moldova.
ORCID: 0000-0002-2923-8843
E-mail: leorda-ana64@mail.ru

Svetlana BURȚEVA, doctor habilitat în științe biologice, profesor-cercetător, cercetător științific principal, Universitatea Tehnică a Moldovei.
ORCID: 0000-0001-7412-7897
E-mail: svetlana.burteva@imb.utm.md

Maxim BÎRSA, doctor în biologie, cercetător științific superior, Universitatea Tehnică a Moldovei.
ORCID: 0000-0003-3068-1719
E-mail: maxim.birsa@imb.utm.md

Prezentat la 28.03.2024