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

Teza a fost elaborată în cadrul Institutului de Fiziologie și Sanocreatologie al Universității de Stat din Moldova, Institutului de Microbiologie și Biotehnologie al Universității Tehnice din Moldova, Școala Doctorală Științe ale Naturii, Universitatea de Stat din Moldova.

Conducători științifici:

ȘEPTIȚCHI Vladimir	doctor habilitat în științe biologice, conferențiar cercetător, Institutul de Fiziologie și Sanocreatologie, Universitatea de Stat din Moldova
BURȚEVA Svetlana	doctor habilitat în științe biologice, profesor cercetător, Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, Universitatea Tehnică din Moldova

Componența Comisiei de Doctorat:

CRIVOI Aurelia	doctor habilitat în științe biologice, profesor universitar, Universitatea de Stat din Moldova – ***președinte***
ȘEPTIȚCHI Vladimir	doctor habilitat în științe biologice, conferențiar cercetător, Institutul de Fiziologie și Sanocreatologie, Universitatea de Stat din Moldova – ***conducător de doctorat***
CIOCHINĂ Valentina	doctor în științe biologice, conferențiar cercetător, Institutul de Fiziologie și Sanocreatologie, Universitatea de Stat din Moldova – ***referent***
VOVC Victor	doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”– ***referent***
MOȘANU-ȘUPAC Lora	doctor în științe biologice, conferențiar universitar, Universitatea Pedagogică de Stat „Ion Creangă” din Chișinău – ***referent***

Susținerea va avea loc la 21 octombrie 2024, ora 15.00 în cadrul Ședinței Comisiei de susținere publică a tezei de doctorat din cadrul Școlii Doctorale Științe ale Naturii, USM. Sediul – Universitatea de Stat din Moldova (http://www.usm.md), str. M. Kogălniceanu, 65 A, blocul 3, sala 332, MD-2009, Chișinău, Republica Moldova.

Teza de doctor și rezumatul pot fi consultate la Biblioteca Națională a Republicii Moldova, Biblioteca Centrală a Universității de Stat din Moldova (MD 2009, mun. Chișinău, str. Alexei Mateevici 60), pe pagina web a ANACEC (http://www.anacec.md) și pe pagina web a USM (http://www.usm.md).

Rezumatul a fost expediat la „16” septembrie 2024

Președintele Comisiei de Doctorat
doctor habilitat în științe biologice,
profesor universitar **CRIVOI Aurelia**

Conducători științifici
doctor habilitat în științe biologice,
conferențiar cercetător **ȘEPTIȚCHI Vladimir**
doctor habilitat în științe biologice,
profesor cercetător **BURȚEVA Svetlana**

Autor **GARBUZNEAC Anastasia**

© Garbuzneac Anastasia, 2024

CUPRINS

REPERELE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII …….……..... 4
CONȚINUTUL TEZEI …….....…… 7
1. CONCEPTE MODERNE DESPRE MECANISMELE MEMORIEI NEUROLOGICE, SUBSTANȚE BIOLOGIC ACTIVE SINTETIZATE DE STREPTOMICETE ȘI INFLUENȚA LOR ASUPRA PROCESELOR DE ÎNVĂȚARE ȘI MEMORIE…….. 7
2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE.....…… 7
3. STUDIEREA SUBSTANȚELOR BIOLOGIC ACTIVE, CONȚINUTE ÎN BIOMASA TULPINILOR *STREPTOMYCES MASSASPOREUS* CNMN-AC-06 ȘI *STREPTOMYCES FRADIAE* CNMN-AC-11, UTILIZATE ÎN EXPERIMENTELE DE INVESTIGARE A PROCESELOR DE ÎNVĂȚARE ȘI MEMORIE……...…… 8
4. IMPACTUL BIOMASEI STREPTOMICETELOR ASUPRA CREȘTERII MASEI CORPORALE, FERTILITĂȚII ȘOBOLANILOR ALBI ȘI DEZVOLTĂRII PUILOR DE ȘOBOLAN…….....…… 10
5. INFLUENȚA COMPARATIVĂ ASUPRA ÎNVĂȚĂRII ȘI PĂSTRĂRII VESTIGIULUI ÎN MEMORIE A BIOMASEI TULPINILOR *STREPTOMYCES MASSASPOREUS* CNMN-AC-06 ȘI *STREPTOMYCES FRADIAE* CNMN-AC-11, CRESCUTĂ PE MEDIUL NUTRITIV COMPLEX SP-I…….....…. 13
6. PARTICULARITĂȚILE ÎNVĂȚĂRII ȘI MEMORIEI LA ȘOBOLANII ALBI SUB INFLUENȚA BIOMASEI TULPINII *STREPTOMYCES MASSASPOREUS* CNMN-AC-06, CRESCUTĂ PE MEDIUL SP-I CU ADAOS DE ACID PARA-AMINOBENZOIC……..... 20

CONCLUZII GENERALE. ……. 24

RECOMANDĂRI PRACTICE ……..……..…….. 25

BIBLIOGRAFIE .....……..…….. 25
LISTA PUBLICAȚIILOR AUTORULUI LA TEMA TEZEI ……..…..... 27
ADNOTARE.....……..... 30
ANNOTATION …….....……..…… 31
АННОТАЦИЯ …….....……..……... 32

REPERELE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII

Actualitatea și importanța temei abordate. Studiul învățării și memoriei la diferite niveluri de organizare, în pofida istoriei sale lungi, rămâne una dintre compartimentele centrale atât ale neurofiziologiei, cât și ale științei fundamentale în general. Învățarea este un proces complex de dezvoltare a unui nou comportament, iar studiul său multilateral este important pentru înțelegerea mecanismelor funcționării sistemului nervos. Memoria neurologică este un proces vital, care asigură adaptarea organismului viu la mediul extern, modificări adaptative în comportament, în funcționarea rețelelor nervoase, în structura moleculară subcelulară. Învățarea și memoria sunt strâns legate și au o importanță fundamentală pentru organismul viu [3, 8].

În conformitate cu conceptul sănătății psihice, procesele de învățare sunt considerate procese de formare a sistemelor psihofuncționale și evaluativ-executive [31, 33]. Potrivit conceptului memoriei sanogene, memoria este un proces psihic de reflectare adecvată a realității prin memorare (imprimare, consolidare), stocare (conservare, asigurare), recunoaștere și reproducere ulterioară a informației obiective, senzațiilor, emoțiilor, mișcărilor, cunoștințelor experienței anterioare, care determină activitatea creativă și sanogenă a activității, analiza și interpretarea obiectivă a evenimentelor, fenomenelor, organizarea rațională a activităților cotidiene, orientarea în timp, spațiu, lumea subiectivă și obiectivă în concordanță cu situația reală [34].

Clarificarea cauzelor îmbătrânirii precoce a creierului însoțită de procese cognitive afectate, inclusiv a memoriei, și explorarea modalităților de prevenire a acesteia au căpătat în present actualitate deosebită. Insuficiența calitativă a alimentelor, stresul, influențele negative ale mediului, bolile, care activează procesele de formare ai radicalilor liberi, contribuie la îmbătrânirea timpurie a organismului. Ca urmare a acestor procese omenirea se confruntă mult mai mult cu patologii, care sunt însoțite de procese neurodegenerative precum bolile Alzheimer, Parkinson etc. [4, 15, 23], acestea progresează rapid, în special, în țările dezvoltate [24], iar unul dintre cele mai importante motive pentru creșterea prevalenței tulburărilor neuropsihologice cognitive reprezintă stresul psihogen cronic, stilul de viață stresogen și schimbările bruște ale condițiilor de viață ale omului modern [32, 33].

Una dintre direcțiile promițătoare pentru prevenirea și corecția patologiei cognitive în stadiile inițiale ale bolilor neurodegenerative reprezintă utilizarea complexă a neuroprotectorilor cu diferite ținte, sau a preparatelor, care combină activitatea nootropă cu proprietăți neuroprotectoare. În acest sens, una dintre modalitățile de rezolvare a problemei diminuării precoce a memoriei este identificarea unor substanțe cu proprietăți neuroprotectoare și antioxidante, care afectează diferite formațiuni neuronale ale creierului, implicate în procesele de învățare și memorie [4, 11]. Abordările sanocreatologice pentru creșterea sanogenității organismului și preîntâmpinarea degradării timpurii a funcțiilor, inclusiv a celor psihice, includ și obținerea substanțelor sanogene de origine naturală [32].

În ultimii ani au fost obținute date care indică influența metaboliților din biomasa anumitor tulpini de streptomicete și a componentelor acestora asupra capacității de a preveni neurodegenerarea provocată de stresul oxidativ, a fost demonstrată importanța lor ca substanțe neuroprotectoare puternice în condiții de inducere a peroxidării lipidice [6, 18]. În prezent sunt cunoscuți o serie de metaboliți secundari, sintetizați de tulpini de streptomicete, care au proprietăți antioxidante semnificative [4, 6, 17, 18]. Mai mult, unii dintre metaboliții streptomicetelor posedă capacitatea de a stimula neuritogeneza, influențând organizarea ultrastructurală a diferitelor formațiuni neuronale ale creierului [13, 21] și diferențierea celulelor stem neurale [2].

În pofida numărului tot mai mare de rapoarte, privind impactul produselor activității vitale ale streptomicetelor asupra proceselor neuronale, efectul acestora asupra comportamentului animal a fost încă foarte puțin studiat. Anterior s-a constatat, că consumul pe termen lung de către șobolanii albi de ambele sexe al lichidului de cultură și în special al biomasei tulpinilor *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 și *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11, izolate din solurile din zona centrală a Republicii Moldova, facilitează elaborarea reflexelor condiționate defensive si contribuie la cresterea vitezei reactiilor motorii directionate [16, 35, 36]. La studierea

efectelor metaboliților secundari ai *Streptomyces avermectilis* și *Streptomyces lincolniensis* – avermectinelor doramectină și ivermectină asupra reacțiilor comportamentale ale șobolanilor albi, a fost dezvăluit, în particular, efectul lor anxiolitic. Folosind metodele Open Field, Elevated Plus Maze, precum și Conflict Behavior s-a constatat că, în doze terapeutice, metaboliții secundari ai streptomicetelor reduc nivelul de anxietate și stres, protejează șobolanii de efectele convulsive ale pentilenetetrazolului și picrotoxinei [20].

Studiul proceselor cognitive la animale, folosind teste neurocomportamentale sensibile de încredere reprezintă o sursă de informație deosebit de importantă despre modificările acestora, care apar sub influența preparatelor nutritive sau farmacologice și are un avantaj incontestabil în comparație cu modelele *in vitro*, permițând o evaluare precisă a capacității lor de a învăța, de a percepe spațiul, de păstrare a vestigiului de memorie, de a identifica prezența tulburărilor în activitatea anumitor compartimente ale creierului [7, 14].

Reieșind din datele din literatură, se poate presupune în mod rezonabil prezența în biomasa streptomicetelor a metaboliților secundari, care pot stimula și menține procesele neuronale, care stau la baza învățării și memoriei. În special, unul dintre acești metaboliți sunt benzastatinele, care demonstrează o activitate antioxidantă și neuroprotectoare puternică [9]. În acest sens, s-a decis de a se utiliza în mediul nutritiv pentru cultivarea streptomicetelor acidul para-aminobenzoic (PABA), care este materialul de pornire pentru sinteza benzastatinelor − alcaloizi din diferite grupe, un șir dintre care reprezintă cei mai răspândiți și puternici antioxidanți cu proprietăți neuroprotectoare [1, 10].

Scopul lucrării. Studierea particularităților de învățare și memorie ale șobolanilor albi în condiții de consum pe termen lung a biomasei tulpinilor *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 și *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11, izolate din solurile din partea centrală a Republicii Moldova.

Pentru atingerea acestui scop au fost stabilite următoarele obiective:

– investigarea proprietăților biosintetice ale tulpinilor *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 și *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11, cultivate pe medii cu diferite compoziții pentru a obține biomasă, având cel mai mare efect probabil asupra învățării și memoriei;

– studierea particularităților dinamicii masei corporale, fertilității șobolanilor albi și dezvoltarea puilor de șobolan sub influența biomasei de streptomicete;

– investigarea particularităților de învățare și memorie la șobolani albi în condiții de consum pe termen lung a biomasei tulpinilor *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 și *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11, cultivate pe mediul nutritiv complex SP-I;

– studierea particularităților învățării și memoriei șobolanilor albi sub influența biomasei tulpinii *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 crescută pe mediul SP-I cu adaos de acid para-aminobenzoic.

Ipoteza de cercetare: stimularea proceselor de învățare reflector-condiționată și spațială, activarea memoriei de lucru și creșterea duratei de stocare a vestigiilor în memorie la șobolanii albi este posibilă prin consumarea biomasei tulpinilor locale de streptomicete *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 și *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11, iar adăugarea în mediul nutritiv pentru cultivarea streptomicetelor a acidului para-aminobenzoic poate duce la creșterea eficienței biomasei în raport cu procesele de învățare și a memoriei.

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 de apă Morris. Pentru prima dată, s-a depistat, că adăugarea de PABA la mediul nutritiv îmbunătățește semnificativ efectul stimulator al biomasei asupra învățării reflector-condiționate și spațiale și memoriei. Au fost obținute date noi cu privire la particularitățile influenței biomasei streptomicetelor în raport cu învățarea reflector-condiționată și memoria la șobolani de diferite vârste, indicând efectul său neuroprotector. Au fost obținute noi date privind efectul stimulator al biomasei de streptomicete cultivate pe mediul nutritiv cu adaos de PABA în raport cu masa corporală și fertilitatea, care sunt brevetate. S-a propus un nou mediu nutritiv pentru cultivarea tulpinii *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, care îmbunătățește proprietățile sale biosintetice, a cărui elaborare a fost finalizată prin brevetare.

Problema ştiinţifică soluţionată: constă în obţinerea cunoştinţelor noi fundamentate ştiinţific despre particularităţile învăţării reflector-condiţionate şi spaţiale şi ale memoriei şobolanilor albi în condiţiile consumului biomasei de tulpini locale de streptomicete ca aditiv alimentar, folosind un complex de metode fiziologice (comportamentale), biochimice şi microbiologice, care au condus la stabilirea unui efect stimulator semnificativ al biomasei asupra proceselor cognitive studiate şi au făcut posibilă demonstrarea prospecţiunii tulpinilor *S. massasporeu*s CNMN-Ac-06 şi *S. fradiae* CNMN-Ac-11 în scopul obţinerii de noi substanţe biologic active cu proprietăţi neuroprotectoare şi nootrope, precum şi pentru a propune un nou mediu nutritiv pentru cultivarea streptomicetelor cu adaos de PABA, a cărui utilizare poate creşte eficienţa biomasei în raport cu procesele de învăţare şi memorie.

Rezultate principial noi pentru ştiinţă şi practică: pe baza metodelor fiziologice (comportamentale), microbiologice şi biochimice moderne, au fost obţinute rezultate principial noi, privind influenţa biomasei de streptomicete asupra proceselor de învăţare şi memorie ale şobolanilor albi, precum şi asupra presupusei prezenţe în biomasa streptomiceţilor a metaboliţilor secundari cu proprietăţi neuroprotectoare şi antioxidante pronunţate.

Semnificaţia teoretică: Rezultatele obţinute extind şi aprofundează înţelegerea ştiinţifică a trăsăturilor proceselor de reflexe condiţionate şi de învăţare şi memorie spaţială sub influenţa substanţelor biologic active de origine microbiană cu proprietăţi neuroprotectoare şi neurostimulatoare.

Valoarea aplicativă: Rezultatele obţinute demonstrează prospecţiunea unor studii ulterioare ale tulpinilor *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 şi *S. fradiae* CNMN-Ac-11 cu scopul de a izola şi identifica substanţe biologic active cu proprietăţi neuroprotectoare şi nootrope. A fost obtinut un nou mediu nutritiv pentru cultivarea tulpinii *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 cu adaos de PABA, cu ajutorul caruia i-au fost imbunătăţite proprietatile biosintetice si a fost sporit efectul stimulator al biomasei asupra proceselor de invatare si memorie. Rezultatele obţinute demonstrează posibilitatea obţinerii preparatelor noi pe baza biomasei tulpinilor locale de streptomicete pentru a stimula creşterea în greutate şi fertilitatea animalelor de fermă.

Implementarea rezultatelor ştiinţifice: rezultatele sunt impmementate în procesul didactic al Facultăţii de Geografie şi Ştiinţe Naturale a Universităţii de Stat din Tiraspol „T.G. Şevcenco”. Au fost obţinute 2 brevete, 4 medalii la expoziţii internaţionale de inovaţie.

Aprobarea lucrării: Materialele tezei au fost prezentate la următoarele conferinţe internaţionale: 24th International Pushchino School-Conference of Young Scientists „Biology - the Science of the 21st Century” (Pushchino, 2020); Conferinţa ştiinţifică Microbial Biotechnology (Chişinău, 2022). Conferinţe cu participare internaţională: Conferinţa ştiinţifico-practică cu participare internaţională „Instruire prin cercetare pentru o societate prosperă” (Chişinău, 2021); Life sciences in the dialogue of generations: connections between universities, academia and business community (Chişinău, 2022, 2023). Conferinţe Republicane: Tendinţe contemporane ale dezvoltării ştiinţei: viziuni ale tinerilor cercetători (Chişinău, 2019, 2020); Metodologii contemporane de cercetare şi evaluare: Ştiinţe biologice şi chimice, Ştiinţe fizice şi matematice, Ştiinţe economice (Chişinău, 2021); Conferinţa Ştiinţifică Naţională, consacrată jubileului de 95 ani din ziua naşterii academicianului Boris Melnic (Chişinău, 2023).

Materialele tezei au fost aprobate la Expoziţiile Internaţionale de Inovaţie: 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), unde au fost obţinute 4 medalii.

Contribuţia personală a autorului. Teza se bazează pe materialele cercetărilor învăţării şi memoriei la şobolani albi sub influenţa biomasei de streptomicete realizate de autor în perioada aa 2018-2023, autorul a formulat problema ştiinţifică, a stabilit scopul şi obiectivele, a analizat rezultatele cercetărilor, a formulat concluzii generale şi recomandări practice.

Publicaţii pe tema tezei. Au fost publicate 23 de lucrări ştiinţifice la tema tezei (inclusiv 3 fără coautori): articole în reviste ştiinţifice din baza de date Web of Science, SCOPUS – 3, articole în reviste ştiinţifice din Registrul naţional al revistelor de specialitate – 1, publicaţii în

materiale ale conferințelor științifice internaționale – 10, în materiale ale conferințelor științifice naționale cu participare internațională – 3, articole în materiale ale conferințelor științifice naționale – 4, brevete – 2.

Volumul și structura lucrării. Teza este expusă pe 125 de pagini de text principal, care include: adnotare (în română, engleză și rusă), introducere, 6 capitole, concluzii generale, recomandări, 5 anexe. Lucrarea conține 5 tabele, 47 de figuri și o bibliografie care cuprinde 192 de titluri.

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

CONȚINUTUL TEZEI

În **INTRODUCERE** este elucidată actualitatea, semnificația științifică și practică a studierii proceselor de învățare și memorie, inclusiv sub influența metaboliților streptomicetelor, este indicat scopul și obiectivele studiului, baza metodologică și științifico-teoretică a lucrării și noutatea sa științifică.

1. CONCEPTE MODERNE DESPRE MECANISMELE MEMORIEI NEUROLOGICE, SUBSTANȚE BIOLOGIC ACTIVE, SINTETIZATE DE STREPTOMICETE, ȘI INFLUENȚA LOR ASUPRA PROCESELOR DE ÎNVĂȚARE ȘI MEMORIEI

A fost realizată analiza publicațiilor științifice și sinteza cunoștințelor acumulate în domeniul mecanismelor neurochimice și moleculare ale diferitelor tipuri de memorie din punct de vedere neurofiziologic, precum și date științifice moderne, privind efectele fiziologice ale metaboliților streptomicetelor și, în special, a influenței acestora asupra proceselor neuronale, care stau la baza învățării și memoriei.

2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE

Obiectul studiului l-au constituit 246 de șobolani albi *Wistar* (144 masculi și 102 femele) cu vârsta cuprinsă între 2 și 6,5 luni (tineri) și cu vârsta cuprinsă între 12 și 16,5 luni (senili), întreținuți în condiții standard de vivariu cu acces liber la apă și hrană, regim 12/12 ore de lumină/întuneric, ținând cont de recomandările Convenției Europene, privind tratamentul uman al animalelor de laborator [26].

Pentru hrănirea animalelor s-a folosit biomasa a două tulpini de streptomicete, izolate din solurile din zona centrală a Republicii Moldova și depozitate în Colecția Națională de Microorganisme Nepatogene a Institutului de Microbiologie și Biotehnologie: *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 și *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11. Animalele din loturile experimentale, începând de la vârsta de 2 luni (tineri) sau de la 12 luni (senile), au primit biomasă uscată din tulpinile *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 sau *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11 cultivată pe medii nutritive de diverse compoziții, timp de 90 de zile în calitate de aditiv alimentar la dieta standard, zilnic în doză de 250 mg/kg masa corporală. În aceeași perioadă de timp animalele din grupurile martor au primit dieta standard fără adaos de biomasă.

Productivitatea tulpinilor de streptomicete depinde de compoziția mediului nutritiv. Pentru a determina cea mai productivă tulpină din punct de vedere al cantității de biomasă necesară pentru hrănirea animalelor, precum și din punct de vedere al compoziției lipidelor (lipide totale și fracții lipidice), tulpinile studiate au fost cultivate pe trei medii nutritive diferite (g/l): M-I (făină de porumb – 20,0, drojdie – 0,5, $CaCO_3$ – 0,15, pH 7,0-7,2); SP-I (făină de porumb – 20,0, făină de soia – 10,0, NaCl – 0,5, $CaCO_3$ – 1,0, pH 7,0-7,2); SP-III (făină de porumb – 20,0, făină de soia – 10,0, NaCl – 0,5, $CaCO_3$ – 1,0, K_2HPO_4 – 3,0, pH 7,0-7,2) [5, 30] . Extracția lipidelor intracelulare din biomasă a fost efectuată cu utilizarea metodei Folch [28]. Compoziția calitativă și cantitativă a lipidelor a fost determinată prin cromatografie pe strat subțire Sorbfil și prin metoda densitometrică [19].

Pentru a studia aportul activității antioxidante neuroprotectoare a metaboliților streptomiceților – benzastatinele la efectele neurofiziologice ale biomasei, pentru cultivarea

streptomicetelor au fost utilizate medii nutritive suplimentate cu PABA, care este materialul inițial pentru sinteza benzastatinelor [9]. Tulpina *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 a fost cultivată pe mediu nutritiv SP-I, care conține diferite cantități de PABA (1 – 0,685; 2 – 1,37; 3 – 2,74 g/l) și s-a efectuat un studiu comparativ al cantității de biomasă, lipide totale, fracții lipidice și aminoacizi, în funcție de conținutul de PABA din mediul nutritiv, comparativ cu martorul (mediul standard SP-I).

Pentru a determina compoziția de aminoacizi a biomasei tulpinii *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06, cultivată pe un mediu cu adaos de PABA, a fost folosită metoda cromatografiei de schimb ionic la analizorul de aminoacizi AAA-339 M „Microtehna" [25].

Au fost studiate proprietățile toxicologice ale biomasei tulpinilor de streptomicete, cultivate pe mediul nutritiv cu adaos sau fără adaos de PABA [29], precum și efectul acesteia asupra dinamicii masei corporale, fertilitatea șobolanilor albi și dezvoltarea postnatală a puiilor de șobolan. Masa corporală a animalelor a fost înregistrată la fiecare 7 zile, utilizând cântarul electronic de laborator A-2500 Axis (Polonia). Studiile masei corporale au fost efectuate atât în condiții fiziologice normale, cât și în condiții de stres termic. Animalele, care au fost supuse stresului termic au fost ținute 2 săptămâni, timp de 4 ore zilnic într-o cameră în care temperatura aerului constituia +34°C - +36°C.

Pentru a studia processul de învățare reflector-condiționată cu întărire aversivă sub influența biomasei de streptomicete, a fost utilizată metoda de elaborare a reacției condiționate de evitare activă (RCEA) a unui stimul electrodermic dureros [27]. Învățarea șobolanilor a fost realizată, folosind metoda bilaterala de evitare activa intr-o cameră navetă. Pentru a studia procesele memoriei reflector-condiționate și „stingerea" reflexului condiționat a fost determinată dinamica perioadei latente a reacției de evitare (PLRE). Dinamica PLRE a fost studiată în a 5-a, a 10-a, a 15-a, a 20-a, a 30-a și a 45-a zi după realizarea experimentului, privind dezvoltarea reflexelor condiționate de evitare activă.

Pentru a studia învățarea spațială și memoria sub influența biomasei de streptomicete a fost utilizată instalația comportamentală „Labirintul radial cu opt brațe" (LROB) (cu întărire alimentară) și metoda modernă „Labirintul cu apă Morris" (LAM), bine afirmată în laboratoare din diverse țări [7, 12, 14]. Aceste tehnici fac posibilă studierea proceselor de învățare spațială și memorie (de lucru și pe termen lung), unde memoria de lucru este considerată ca o componentă operațională a memoriei pe termen scurt. Un indicator important al procesului de învățare și testare în LROB este: punctajul mediu al memoriei spațiale (PMMS) cu durată diferită a fazei de retard (FR) de 30 s și 10 min. În a 30-a zi a experimentului, a fost evaluată memoria spațială pe termen lung. Folosind LAM, a fost studiată durata perioadei latente (PL, s) în care șobolanul a găsit platforma și a urcat pe ea și lungimea distanței parcurse (DP, cm) de animal de la locul în care a fost pus în apă până la platformă, a fost determinat timpul petrecut în fiecare din sectoare (%). În a 5-a, a 9-a și a 30-a zi ale experimentului, au fost evaluate activarea memoriei spațiale de lungă durată și durata reținerii vestigiilor în memorie.

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

3. STUDIEREA SUBSTANȚELOR BIOLOGIC ACTIVE, CONȚINUTE ÎN BIOMASA TULPINILOR *STREPTOMYCES MASSASPOREUS* CNMN-AC-06 ȘI *STREPTOMYCES FRADIAE* CNMN-AC-11 UTILIZATE ÎN EXPERIMENTELE DE INVESTIGARE A PROCESELOR DE ÎNVĂȚARE ȘI MEMORIE

Tulpinile studiate au fost cultivate pe trei medii lichide complexe a căror compoziție este prezentată mai sus. Rezultatele studiilor au arătat, că la cultivarea tulpinii *S. fradiae* CNMN-Ac-11 pe mediul nutritiv SP-III acumularea biomasei este semnificativ mai mare, decât pe mediile M-I și SP-I (de 1,61 și, respectiv, 1,52 ori). În același timp, în cazul tulpinii *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, cel mai mare randament de biomasă s-a observat la cultivarea pe mediul nutritiv SP-I (Tabelul 3.1).

Tabelul 3.1. Formarea biomasei şi a lipidelor totale a tulpinilor *S. fradiae* CNMN-Ac-11 şi *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, cultivate pe medii complexe

Mediul nutritiv	*BAU, g/l*		*Lipide totale, % în BAU*	
Tulpina	***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

Notă: * – diferenţe statistic veridice dintre SP-I şi/sau SP-III faţă de M-I (P<0,05),
** – diferenţe statistic veridice dintre SP-I şi SP-III (P<0,01-0,05)

La determinarea proporţiei de lipide totale în biomasa absolut uscată (BAU) în funcţie de mediul de cultură s-a depistat cel mai mare conţinut al acestora în biomasă tulpinii *S. fradiae* CNMN-Ac-11, precum şi *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, cultivate pe mediul SP-I (veridic faţă de M-I şi SP-I), iar cel mai mic – pe mediul M-I (Tabelul 3.1).

Rezultatele studiului fracţiilor lipidice (fosfolipide, steroli, trigliceride şi altele) au arătat, că cea mai mare cantitate de fosfolipide (procent din totalul lipidelor), care joacă un rol important în transmiterea impulsurilor nervoase şi a plasticităţii sinaptice − parametri importanţi ai proceselor memoriei, a fost observată la cultivarea tulpinii *S. fradiae* CNMN-Ac-11 pe mediile SP-I şi SP-III (11,11±1,87 şi, respectiv, 11,96±1,12%), iar a tulpinii *S. massasporeus* CNMN- Ac-06 – pe mediul SP-I (12,15±0,98%).

Astfel, rezultatele experimentale denotă, că mediul nutritiv complex SP-I a contribuit cel mai mult la creşterea cantităţii de biomasă a tulpinilor *S. fradiae* CNMN-Ac-11 şi *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, a conţinutului de lipide totale din aceasta şi, în special, este importantă creşterea cantităţii unei astfel de fracţiuni lipidice importante din punct de vedere fiziologic, precum fosfolipidele. Prin urmare, mediul nutritiv complex SP-I a fost selectat pentru cercetările ulterioare.

În scopul studiului aportului activităţii antioxidante neuroprotectoare a metaboliţilor streptomiceţilor – benzastatinelor la efectele neurofiziologice ale biomasei la cultivarea tulpinii de *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, a fost folosit mediul nutritiv SP-I cu adaos de PABA în trei concentratii: 0,685, 1,37 si 2,74 g/l. În urma cercetărilor realizate s-a stabilit, că adăugarea de PABA în mediul nutritiv în toate concentraţiile, în special de 1,37 g/l, contribuie la creşterea cantităţii de biomasă, iar adăugarea de PABA în doze de 1,37 şi 2,74. g/l contribuie aproximativ în mod egal la o creştere a conţinutului de lipide totale din biomasă (Tabelul 3.2).

Tabelul 3.2. Acumularea biomasei şi lipidelor de către tulpina *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 la cultivarea pe mediul complex SP-I cu adăugarea de PABA

Mediul nutritiv	*Biomasa*		*Lipide totale*	
	BAU, g/l	***% faţă de martor***	***Lipide, g/l***	***% faţă de martor***
1) SP-I – (martor)	7,99±1,12	-	1,48±0,19	-
2) SP-I + PABA (0,685 g/l)	10,91±1,07*	136,54*	1,49±0,14	100,84
3) SP-I+ PABA (1,37 g/l)	24,99±1,1*	312,76*	1,96±0,08*	132,28*
4) SP-I+PABA (2,74 g/l)	15,41±0,78*	192,86*	1,85±0,12*	124,94*

***Notă:** * – diferenţe statistic veridice faţă de martor (P<0,05).*

În figura 3.1 este demonstrat, că în cazul când PABA este adăugat la mediul nutritiv SP-I în concentraţii de la 0,685 la 2,74 g/l raportul fracţiilor lipidice se modifică. În acelaşi timp, proporţia de fosfolipide creşte la concentraţia maximă de PABA, proporţia de steroli şi trigliceride

crește la adaosul de PABA în oricare dintre concentrațiile indicate mai sus, în cea mai mare măsură – la concentrația de PABA de 1,37 g/l.

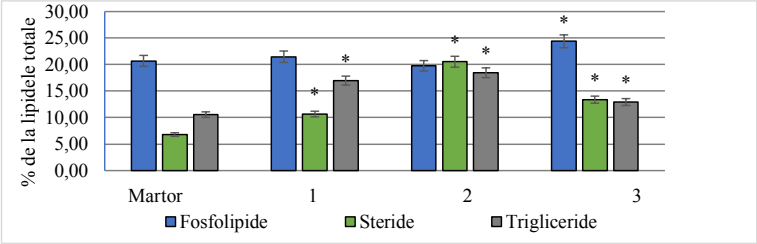


Fig. 3.1. Cantitatea fracțiilor lipidice principale din biomasa tulpinii *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 după cultivarea pe mediul complex SP-I cu adăugarea de PABA. Pe axa absciselor – mediile de cultură: 1 – SP-I (martor); 2 – SP-I + PABA 0,685 g/l; 3 – SP-I+ PABA 1,37 g/l; 4 – SP-I+PABA 2,74 g/l, *– diferențe statistic veridice față de martor (P<0,01-0,05)

Au fost efectuate studii ale conținutului de aminoacizi din biomasa tulpinii *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 la cultivarea pe mediul nutritiv complex SP-I cu adaos de PABA. Până în prezent, compoziția de lipide și aminoacizi a biomasei de streptomicete și modificarea cantității acesteia în cazul adaosului de PABA la mediul nutritiv nu au fost studiate.

Analiza conținutului de aminoacizi (au fost identificați 16 aminoacizi) din biomasa tulpinii *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 denotă, că cantitatea de aminoacizi, în special necesari, conform conceptelor moderne pentru procesele de învățare și memorie, a crescut comparativ cu martorul în cazul adaosului de PABA la mediul de cultură în trei concentrații (0,685, 1,37 și 2,74 g/l): acidul aspartic (cu 32,48±2,01, 63,69±1,75 și, respectiv 64,09±1,12%), treonina (cu 48,54±1,47, 57,28±1,09 și, respectiv, 28,15±2,68%), prolina (cu 15,38±2,13, 46,39±1,78 și, respectiv, 39,17±1,42%), fenilalanina (cu 30,30±1,78, 31,06±1,32 și, respectiv 11,36±2,12%). Conținutul de arginină a crescut odată cu adăugarea de PABA în doză de 1,37 și 2,74 g/l (cu 31,48±2,12 și, respectiv, 42,59±1,68%), iar a acidului glutamic și glicinei a crescut cu adăugarea de PABA − 1,37 g/l. Analiza conținutului de arginină a arătat o tendință de creștere la adăugarea de PABA 0,685 g/l, iar a cisteinei − în cazul când s-a adăugat PABA la o doză de 0,685 și 2,74 g/l. Ca urmare putem concluziona, că mediul nutritiv SP-I cu adaos de PABA 1,37 g/l este cel mai bun pentru obținerea biomasei cu o compoziție optimă de aminoacizi la cercetarea proceselor de învățare și memorie.

Astfel, optimizarea mediului nutritiv complex SP-I prin adăugarea de PABA contribuie la creșterea randamentului biomasei tulpinii *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, a conținutului de lipide totale, fosfolipide și steroli din acesta și, de asemenea, duce la o sporire a conținutului de aminoacizi, inclusiv a celor necesari pentru procesele de învățare și memorie. Cea mai mare eficiență în ceea ce privește formarea biomasei, a lipidelor totale, a fracțiilor acestora și a aminoacizilor este demonstrată prin adăugarea de PABA în doză de 1,37 g/l.

4. IMPACTUL BIOMASEI STREPTOMICETELOR ASUPRA CREȘTERII MASEI CORPORALE, FERTILITĂȚII ȘOBOLANILOR ALBI ȘI DEZVOLTĂRII PUILOR DE ȘOBOLAN

Au fost efectuate cercetări pentru a studia toxicitatea subcronică a biomasei tulpinilor *S. fradiae* CNMN-Ac-11 și *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, cultivate pe mediul nutritiv SP-I, precum și tulpinii *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, cultivată pe mediul SP-I cu adaos de PABA. Biomasa a fost administrată în formă amestecată cu hrana în doză terapeutică (250 mg/kg masă corporală), precum și într-o doză de trei ori mai mare decât doza terapeutică, timp de 90 de zile. Rezultatele cercetării au demonstrat, că biomasa tulpinilor studiate nu a avut un impact negativ asupra stării clinice a șobolanilor albi, nu au fost observate modificări în comportament,

comparativ cu grupul martor, care a primit o raţie alimentară standard. Moartea animalelor pe parcursul experimentului, precum şi abateri şi particularităţi ale structurii organelor şobolanilor albi nu au fost depistate în timpul examinării patomorfologice. Coeficienţii de masă a organelor interne ai şobolanilor albi nu se deoseveau semnificativ de indicatorii martor, ceea ce indică absenţa oricărui efect toxic al biomasei tulpinilor de streptomicete asupra organismului animalelor şi buna toleranţă a acestora.

La studierea dinamicii masei corporale în condiţiile consumului de biomasă de streptomicete de către şobolanii albi de ambele sexe s-a constatat, că în condiţii fiziologice normale şobolanii masculi, care consumau biomasa tulpinilor *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 (BM1) şi *S. fradiae* CNMN-Ac-11 (BM2) au înregistrat un adaos în greutate veridic mai mare, în comparaţie cu martorul în săptămânile 5-6 şi 8 ale experimentului (Fig. 4.1). La animalele, care au consumat biomasa tulpinii de *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, cultivată pe un mediu, cu conţinut de 1,37 g/l PABA (BM1PABA1) creşterea în greutate a fost veridic mai mare la a 2-3-a şi a 6-10-a săptămâni de experiment, comparativ cu animalele atât din grupul martor, cât şi cele din BM1 (Fig. 4.1).

În timp ce la şobolanii, care au consumat biomasa tulpinii de *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, cultivată pe mediul, care conţine 2,74 g/l PABA (BM1PABA2) adaosul în greutate a fost mai mare doar la săptămâna a 4-a şi a 9-10-a ale experimentului, comparativ cu grupurile martor şi BM1. Cercetările, privind dinamica masei corporale la femelele de şobolan, care au consumat biomasa tulpinilor de streptomicete, cultivate atât pe un mediu nutritiv standard, cât şi cu adăugarea de PABA au arătat rezultate similare cu cele obţinute în cazul şobolanilor masculi.

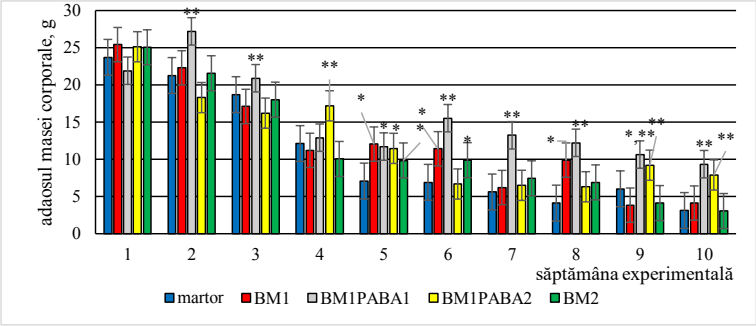


Fig. 4.1. Dinamica adaosului în greutate a şobolanilor albi masculi la consumul de biomasă din tulpinile *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 şi *S. fradiae* CNMN-Ac-11, cultivate pe mediul nutritiv standard SP-I şi pe mediul nutritiv cu conţinut de PABA, în condiţii fiziologice obişnuite, * – diferenţe statistic veridice faţă de martor (P<0,01-0,05), ** – diferenţe statistic veridice faţă de BM1 (P<0,01-0,05)

În condiţii de stres (a 3-4-a săptămâni experimentale) greutatea animalelor, care au consumat BM1 şi BM2 a scăzut într-o măsură mai mica, decât la martor, iar la animalele care au consumat biomasă din tulpina *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, cultivată pe medii cu conţinut de PABA greutatea lor a fost veridic mai mare în condiţii de stres, comparativ cu loturile de animale, care au consumat biomasa tulpinilor de streptomicete fără PABA, ceea ce indică o creştere a rezistenţei organismului lor la efectele stresului termic. În perioada post-stresorică (a 5-10-a săptămâni experimentale) adaosul în greutate al animalelor, care au consumat BM1PABA1 şi BM1PABA2 a fost aproximativ în mod egal mai mare, decât cel al animalelor din grupul martor şi BM1, contribuind astfel la o restabilire mai intensă a capacităţilor fiziologice după expunerea la condiţii nefavorabile de mediu. În acelaşi timp, adaosul în greutate al animalelor grupului BM1 a fost veridic mai mare în a 7-a şi a 9-a săptămâni experimentale, comparativ cu martorul, iar la cele din grupul BM2 – doar în a 6-a săptămână (Fig. 4.2).

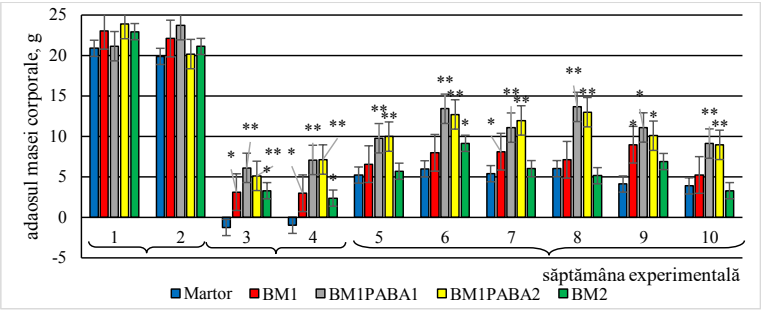


Fig. 4.2. Dinamica creşterii adaosului în greutate al şobolanilor albi masculi la consumul de biomasă din tulpinile *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 şi *S. fradiae* CNMN-Ac-11, cultivate pe mediul nutritiv standard SP-I şi pe mediul nutritiv cu conţinut de PABA, în condiţii de stres termic, * – diferenţe statistic veridice faţă de martor (P<0,05), ** – diferenţe statistic veridice faţă de BM1 (P<0,05)

Studiind impactul biomasei de streptomicete asupra fertilităţii şobolanilor albi, a fost constatat, că adăugarea la raţia alimentară a biomasei tulpinii *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, cultivată pe mediul nutritiv cu conţinut de PABA în doză de 1,37 g /l (BM1PABA1) contribuie la o creştere semnificativă a fertilităţii acestora, la o scădere a mortalităţii postnatale a puilor de şobolan şi la o creştere a masei corporale a puilor de şobolan după naştere şi în primele 6 săptămâni ale dezvoltării lor postnatale (Tabelul 4.1).

Tabelul 4.1. Indicii funcţiei de reproducere a şobolanilor albi şi a dezvoltării puilor de şobolan la consumul biomasei tulpinilor *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 şi *S. fradiae* CNMN-Ac-11, cultivate pe mediul nutritiv standard SP-I şi pe mediul nutritiv, care contine PABA

Indicii studiati	**Loturile de animale**			
	Martor	***BM1***	***BM1PABA1***	***BM2***
Numărul de pui de şobolani nou-născuţi per femelă, abs.	10,50±1,2	12,23±0,75 *	13,81±0,41 *	11,84±0,67 *
Indicele de fertilitate, % faţă de martor	-	116,47±1,12*	131,52±0,68*	107,33±0,98*
Mortalitatea postnatală a puilor de şobolani după 3 săptămâni, abs.	9	5*	2*	6*
Masa corporală a puiilor de şobolani nou-născuţi, g	4,85±1,18	5,71±0,75 *	6,90±0,62 *	5,98±0,54*
Dinamica masei corporale a puilor de şobolan, g				
1 săptămână	7,12±0,78	9,44±0,60 *	11,80±1,2 *	8,58±0,64 *
2 săptămâni	11,20± 1,02	15,71±0,98*	18,49±0,96 *	14,81±0,76*
3 săptămâni	18,51±0,93	26,31±1,09 *	32,14±1,02*	24,78±0,98 *
4 săptămâni	30,53±1,53	35,40±2,30	53,43±1,77 *	37,13±1,90*
5 săptămâni	54,90±2,02	65,13±3,02	78,01±3,24 *	64,21±3,13
6 săptămâni	74,08±3,78	88,57±4,54 *	99,10±6,18 *	86,71±3,98 *

***Nota:** * – diferenţe statistic veridice faţă de martor (P<0,05)*

Astfel, consumul de către şobolanii albi a biomasei tulpinilor *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 şi *S. fradiae* CNMN-Ac-11, cultivate pe mediul nutritiv SP-I, contribuie la creşterea masei corporale şi a fertilităţii. Adăugarea de PABA la mediul nutritiv favorizează o sporire mai semnificativă a masei corporale atât în condiţii fiziologice obişnuite, cât şi în condiţii de stres

termic, comparativ cu martorul și cu biomasa obținută prin cultivarea tulpinilor de streptomicete pe mediul nutritiv standard și, de asemenea, contribuie la creșterea semnificativă a fertilității șobolanilor albi, scăderea mortalității postnatale a puilor de șobolan și la creșterea masei corporale a puilor de șobolan după naștere și în primele 6 săptămâni ale dezvoltării lor postnatale.

5. INFLUENȚA COMPARATIVĂ ASUPRA ÎNVĂȚĂRII ȘI PĂSTRĂRII VESTIGIULUI ÎN MEMORIE A BIOMASEI TULPINILOR *STREPTOMYCES MASSASPOREUS* CNMN-AC-06 ȘI *STREPTOMYCES FRADIAE* CNMN-AC-11, CRESCUTĂ PE MEDIUL NUTRITIV COMPLEX SP-I

Studiile procesului de învățare reflector-condiționată cu întărire aversivă în camera navetă au fost efectuate pe șobolani masculi albi de diferite vârste (tineri și senili). Analiza rezultatelor elaborării RCEA denotă, că la animalele tinere din ambele loturi experimentale, care au consumat biomasa tulpinilor *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 (BM1) sau *S. fradiae* CNMN-Ac-11 (BM2) a fost observată o stimulare a activității reflector-condiționate, ceea ce, în general, confirmă datele obținute anterior în Institutul de Fiziologie și Sanocreatologie cu privire la efectul pozitiv al metaboliților tulpinilor de streptomicete studiate asupra procesului de elaborare a RCEA la șobolanii albi [35, 36].

Administrarea BM1 duce la o creștere a numărului de RCEA la șobolanii tineri în zilele 4-6 și 8-10 ale experimentului, comparativ cu lotul martor, în timp ce la consumul de către șobolani a BM2 proporția reflexelor condiționate a fost veridic mai mare începând cu ziua a 3-a până la a 10-a, precum și a 12-a și a 14-a zile ale experimentului (Fig. 5.1). Trebuie remarcat, în special, că utilizarea BM2 în calitate de aditiv alimentar contribuie la atingerea unui nivel de 100% al elaborării RCEA în zilele a 12-a și a 14-a ale experimentului.

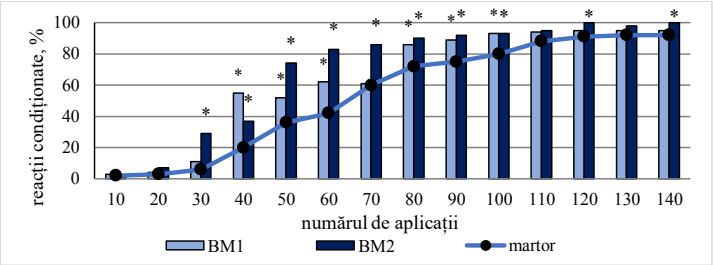


Fig. 5.1. Dinamica învățării reflector-condiționate cu întărire aversivă la șobolanii tineri la consumul pe termen lung a biomasei tulpinilor *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 (BM1) și *S. fradiae* CNMN-Ac-11 (BM2), * – diferențe statistic veridice față de martor (P<0,05)

Conform rezultatelor obținute, RCEA sunt elaborate la animalele senile mult mai lent, decât la animalele tinere (Fig. 5.2). Astfel, în a 5-a zi a experimentului ponderea alergărilor reflector-condiționate în numărul lor total a fost de 36% la șobolanii tineri din lotul martor, în timp ce la șobolanii senili a fost de 5%, în a 10-a zi animalele tinere au ajuns la nivelul de 80% de elaborare a reflexelor conditionate, iar la cei senili – puțin mai mare de 32%. Datele obținute pot mărturisi despre dezvoltarea proceselor neurodegenerative la șobolanii senili în această perioadă.

Analiza comparativă a efectului consumului de către animale a biomasei *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 și *S. fradiae* CNMN-Ac-11 la animalele tinere și senile arată, că eficacitatea ambelor BM1 și BM2 este semnificativ mai mare la șobolanii senili, comparativ cu cei tineri (Fig. 5.1 și 5.2). Astfel, adăugarea BM1 la hrana șobolanilor albi duce la un efect mai pronunțat asupra procesului de învățare reflector-condiționată la animalele senile, comparativ cu cele tinere în zilele 4-9 ale experimentului (de peste 2 ori).

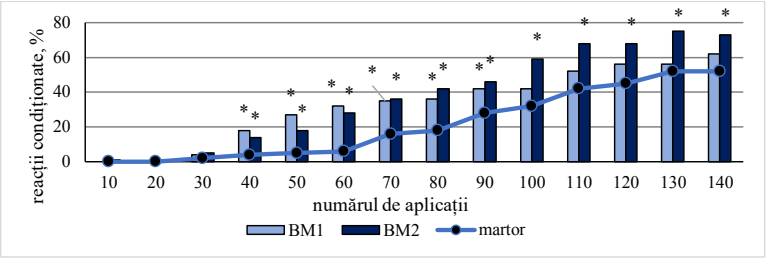


Fig. 5.2. Dinamica învățării reflector-condiționate cu întărire aversivă la șobolanii senili la consumul biomasei tulpinilor *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 (BM1) și *S. fradiae* CNMN-Ac-11 (BM2), * – diferențe statistic veridice față de martor (P<0,05)

Analiza comparativă a rezultatelor eficacității BM2, obținute pe animale tinere și senilie, denotă, că la șobolanii senili efectul BM2 în raport cu procesul de învățare este vizibil mai pronunțat: în a 5-a zi BM2 crește proporția reacțiilor reflector-condiționate în numărul total de alergări la șobolanii tineri de mai puțin de 2 ori, iar la animalele senile – de 4 ori, în a 10-a zi – la animalele tinere – de 15,6%, iar la cele bătrâne – de aproape 3 ori. Trebuie remarcat faptul, că la animalele senile BM1 afectează procesul de învățare doar în prima etapă a experimentului, în timp ce efectul BM2 persistă pe tot parcursul experimentului. Aceasta poate reflecta specificul compoziției biomasei fiecăreia dintre tulpinile de streptomicete studiate și anume − compoziția metaboliților, care posedă efecte neurofiziologice.

Păstrarea vestigiului în memorie la șobolanii albi a fost studiat prin determinarea dinamicii PLRE timp de 45 de zile după dezvoltarea RCEA. Adăugarea biomasei ambelor tulpini de streptomicete la hrana animalelor tinere contribuie aproximativ în mod egal la reducerea PLRE în a 40-a și a 45-a zi de studiu. Deci, metaboliții conținuți în biomasa streptomicetelor contribuie la prevenirea proceselor de uitare, la îmbunătățirea proceselor de memorare și la stocarea vestigiilor în memorie (Fig. 5.3).

Valorile de fond ale PLRE la șobolanii senili din toate grupurile nu au prezentat diferențe statistic veridice. PLRE la șobolanii senili a crescut progresiv, începând cu a 15-a zi după elaborarea RCEA mult mai intens, decât la animalele tinere, ceea ce indică un proces mai pronunțat de „stingere" a vestigiilor în memorie (Fig. 5.4). La șobolanii senili odată cu consumul de BM1, s-au observat valori statistic veridice mai mici ale PLRE în a 30-a și a 45-a zi de studiu, comparativ cu martorul, iar la animalele care au primit BM2 – pe tot parcursul experimentului, începând cu a 15-a zi. Pe baza acestor date se poate presupune, că metaboliții incluși în componența tulpinilor locale de streptomicete contribuie la prevenirea „stingerii" precoce a memoriei la animalele senile și la menținerea proceselor de memorie în limite sanogenice.

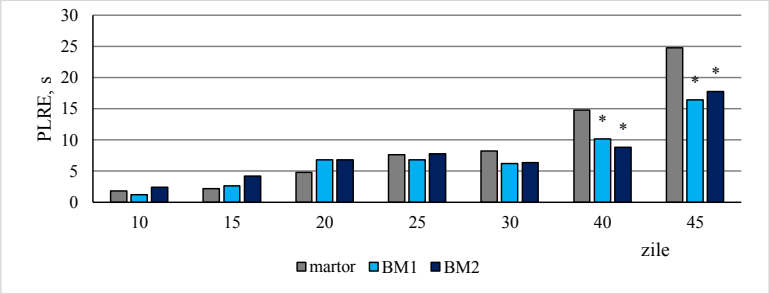


Fig. 5.3. Dinamica PLRE la șobolanii tineri în decurs de 45 de zile după elaborarea RCEA la consumul biomasei tulpinilor *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 (BM1) și *S. fradiae* CNMN-Ac-11 (BM2), * – diferențe statistic veridice față de martor (P <0,05)

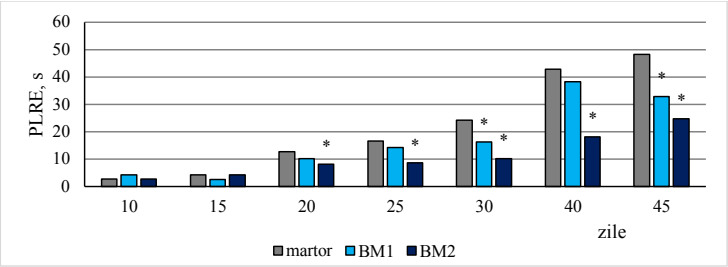


Fig. 5.4. Dinamica PLRE la șobolanii senili în decurs de 45 de zile de la elaborarea RCEA la consumul biomasei tulpinilor *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 (BM1) și *S. fradiae* CNMN-Ac-11 (BM2), * – diferențe statistic veridice față de martor (P <0,05)

Astfel, consumul de biomasă a tulpinilor de streptomicete conduce la o facilitare vizibilă a procesului de învățare, a deprinderii de evitare activă și la o îmbunătățire a memoriei reflector-condiționate a animalelor tinere și, mai ales, a celor senilie. După cum s-a menționat mai sus, au fost izolați din diferite tulpini de streptomicete un număr de inhibitori „noi" ai peroxidării lipidelor și a fost demonstrată importanța lor în calitate de substanțe neuroprotectoare puternice în condițiile inducerii peroxidării lipidelor [6, 18]. Pe baza acestui fapt, se poate presupune, că efectul de facilitare a elaborării reflexelor condiționate defensive sub influența biomasei de streptomicete, înregistrat în lucrare, se datorează efectului neuroprotector al antioxidanților săi constituenți în raport cu activarea oxidării liber-radicale, indusă în condițiile stresului provocat de durere, care însoțește elaborarea RCEA cu întărirea electrocutanată în camera navetă. Această presupunere este, într-o oarecare măsură, confirmată de rezultatele experimentelor asupra animalelor senile. Faptul, că eficacitatea utilizării biomasei de streptomicete la animalele senile este semnificativ mai mare, decât la animalele tinere, ținând cont de rolul stresului oxidativ în dezvoltarea modificărilor neurodegenerative legate de vârstă pe fondalul scăderii activității sistemului antioxidant pe mai multe niveluri al celulelor nervoase, mărturisește în favoarea presupunerii prezenței unui mecanism neuroprotector al efectelor metaboliților biomasei tulpinilor de streptomicete în raport cu procesele de activitate reflector-condiționată și memorie. Reieșind din prezența metaboliților streptomicetelor, care au capacitatea de a stimula neuritogeneza și diferențierea celulelor stem neuronale [2, 13, 21], nu poate fi exclus faptul, că efectul depistat al biomasei tulpinilor de streptomicete studiate să se datoreze și influenței acesteia asupra proceselor neuronale, care stau la baza învățării și memoriei.

Rezultatele studiului învățării spațiale și memoriei sub influența biomasei tulpinilor *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 (BM1) și *S. fradiae* CNMN-Ac-11 (BM2), folosind LROB cu utilizarea întăririi alimentare au arătat, că consumul pe termen lung al biomasei de streptomicete de către șobolanii albi de ambele sexe contribuie la o creștere vizibilă a numărului de intrări corecte în brațe cu extragerea recompenselor alimentare și o reducere a numărului de erori, adică orice intrări incorecte în brațe, ceea ce duce la o creștere vizibilă a PMMS, cu alte cuvinte, ajută la facilitarea procesului de învățare și la activarea memoriei de lucru. S-a constatat, că consumul de BM1 de către animale crește PMMS într-o măsură mai mare, comparativ cu BM2 (Fig. 5.5-5.7), în special la a doua etapă de testare după o pauză în zilele 8 și 9 (Fig. 5.5 și 5.6), ceea ce contribuie la activarea memoriei pe termen lung în a 10-a zi a experimentului.

Este interesant de remarcat, că analiza dinamicii PMMS la șobolanii din loturile martor și experimentale denotă, că durata fazei de retard (FR) are un impact semnificativ asupra procesului de învățare, în special în zilele 1-4 ale experimentului. La șobolanii albi de ambele sexe, practic în toate cazurile, PMMS la FR de 10 min este vizibil mai mare, decât la FR de 30 s. Este cunoscut faptul, că utilizarea ușilor-ghilotină induce un răspuns de oprire bruscă pe termen scurt – comportament manifestat de obicei de șobolani în situații stresante [22]. Deschiderea și închiderea ușilor LROB la începutul fazei de testare ar fi putut reprezenta un factor de stres incontrolabil, care a perturbat atenția șobolanilor. Timp de 10 min acești factori de stres au fost dispersați în timp,

permițând animalelor să se recupereze după stimulii stresanți din timpul testării. În schimb, stimulii potențial stresanți au fost prezenți pentru o perioadă scurtă de timp în condiția duratei FR de 30 de s și, posibil, șobolanii nu au putut să se recupereze complet de la primul factor de stres înainte de apariția factorului de stres ulterior. A fost afectată atenția, s-a înrăutățit învățarea la șobolani în condițiile duratei FR de 30 s, dar nu și de10 min.

De menționat, că eficiența biomasei de streptomicete este mai mare la durata FR de 30 s față de 10 min și, în special, în stadiul inițial al experimentelor. Se poate presupune, că acest lucru se datorează rolului lor antioxidant, care a contribuit la reducerea efectelor negative ale stresului asupra celulelor nervoase. Cu toate acestea, eficiența biomasei streptomicetelor rămâne semnificativă chiar și la FR de 10 minute, precum și în a doua etapă de învățare după ce animalele se obișnuiesc și nivelul de stres este redus. Aceasta sugerează prezența în biomasa streptomicetelor, de rând cu metaboliți cu efecte antioxidante cu efect neuroprotector, a metaboliților, care au capacitatea de a stimula neurogeneza și sinaptogeneza.

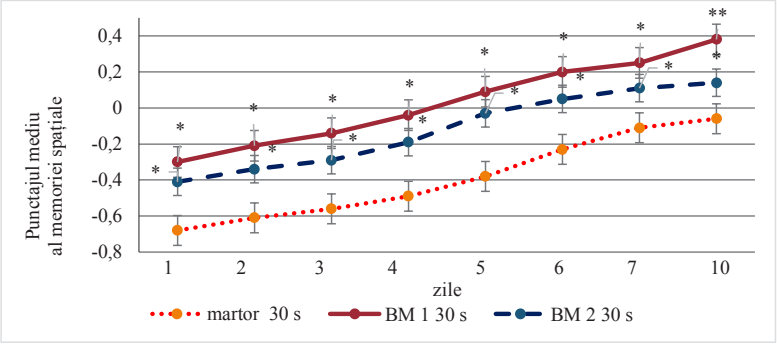


Fig. 5.5. Dinamica PMMS a șobolanilor masculi în LROB cu un retard de 30 s sub influența biomasei tulpinilor *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 (BM1) și *S. fradiae* CNMN-Ac-11 (BM2), * – diferențe statistic veridice față de martor (P<0,05), **– diferențe statistic veridice între BM1 și BM2 (P<0,05)

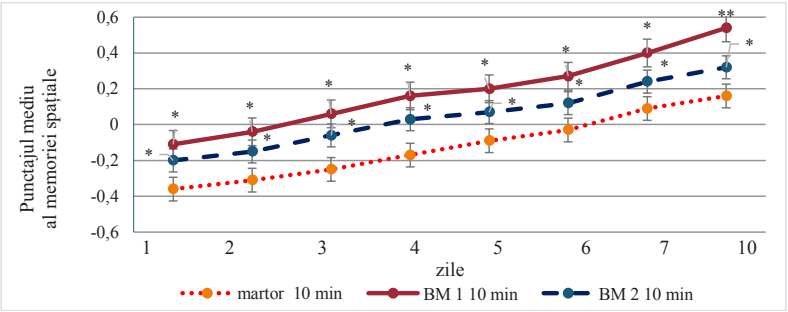


Fig. 5.6. Dinamica PMMS a șobolanilor masculi în LROB la un retard de 10 min sub influența biomasei tulpinilor *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 (BM1) și *S. fradiae* CNMN-Ac-11 (BM2), * – diferențe statistic veridice față de martor (P<0,05), **– diferențe statistic veridice între BM1 și BM2 (P<0,05)

La etapa de studiu a păstrării vestigiilor memoriei spațiale pe termen lung la 20 de zile după finalizarea testării (în a 30-a zi a experimentului) s-a constatat, că PMMS la șobolanii de ambele sexe care au primit BM1 și BM2 a fost vizibil mai înalt, comparativ cu martorul (Fig. 5.7). Astfel, biomasa tulpinilor *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 și *S. fradiae* CNMN-Ac-11 contribuie nu

numai la facilitarea procesului de învățare și la activarea memoriei spațiale, dar și la creșterea duratei păstrării vestigiilor în memorie.

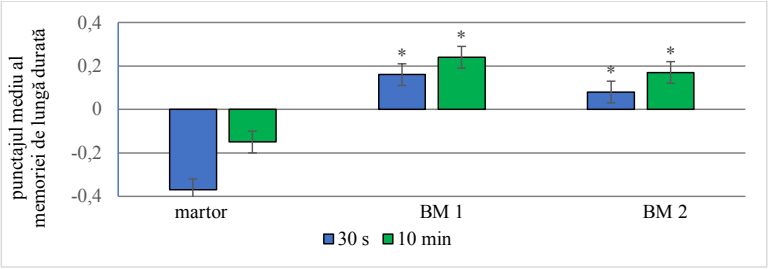


Fig. 5.7. Dinamica PMMS în LROB la șobolani masculi albi sub influența biomasei tulpinilor *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 (BM1) și *S. fradiae* CNMN-Ac-11 (BM2) în a 30-a zi a experimentului, * - diferențe statistic veridice față de martor (P<0,01-0,05)

Astfel, cercetările învățării spațiale și memoriei în LROB au arătat, că consumul biomasei de streptomicete de către șobolanii albi de ambele sexe contribuie la facilitarea elaborării memoriei de lucru, activării memoriei spațiale pe termen lung și scăderii vitezei de „stingere" a vestigiului în memorie.

Una dintre tehnicile răspândite și bine afirmate pentru evaluarea învățării spațiale și memoriei, unde, spre deosebire de învățarea asociativă, reperele locale nu sunt necesare este LAM. Această metodă permite studierea proceselor de învățare spațială și memorie (de lucru și pe termen lung), unde memoria de lucru este considerată o componentă operațională a memoriei pe termen scurt. Folosind acest test a fost cercetată durata PL, timp în care șobolanul a găsit platforma și s-a urcat pe ea și lungimea DP, pe care animalul a parcurs-o de la locul în care a fost plasat în apă la platformă, a fost determinat timpul petrecut în fiecare sector (%). Analiza dinamicii obținute a indicilor învățării spațiale și a memoriei de lucru în LROB – PL și DP indică modificările semnificative ale acestora sub influența biomasei de streptomicete.

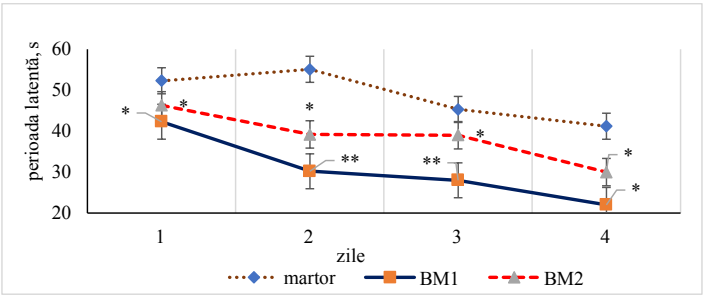


Fig. 5.8. Dinamica PL a șobolanilor masculi în LROB sub influența biomasei tulpinilor *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 (BM1) și *S. fradiae* CNMN-Ac-11 (BM2). * – diferențe statistic veridice față de martor (P<0,01-0,05), ** – diferențe statistic veridice BM1 față de BM2 (P<0,01-0,05)

S-a constatat, că consumul pe termen lung al biomasei contribuie la o facilitare semnificativă a procesului de învățare spațială, în același timp s-a demonstrat, că biomasa tulpinilor *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 și *S. fradiae* CNMN-Ac-11 contribuie în diferită măsură la facilitarea învățării în LAM. Spre deosebire de BM2, BM1 deja în prima zi de învățare provoacă o scădere veridică a PL (cu 20,2±6,2%), în a 2-a zi de învățare la șobolanii care au consumat BM2,

PL era cu 29,9±4,6% mai mică decât martorul, iar la șobolani care au consumat BM1 − cu 45,2±5,9%, în a 3-a zi, respectiv, cu 16,0±6,3% și 38,2±4,9%, în a 4-a zi, respectiv, cu 27,2±5,4% și 46,7±4,6% (Fig. 5.8). O imagine similară a fost înregistrată și în cazul cercetării unui alt indicator al învățării spațiale − în DP (Fig. 5.9).

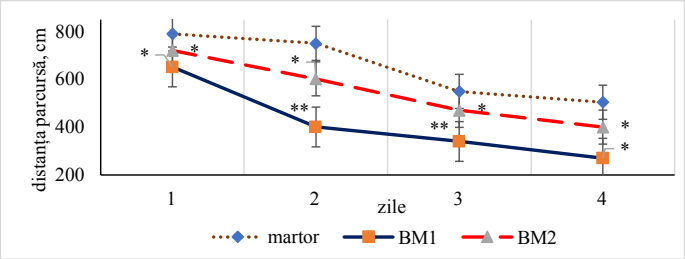


Fig. 5.9. Dinamica DP a șobolanilor masculi în LAM sub influența biomasei tulpinilor *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 (BM1) și *S. fradiae* CNMN-Ac-11 (BM2), * – diferențe statistic veridice față de martor (P<0,05) , ** – diferențe statistic veridice între BM1 și BM2 (P<0,01-0,05)

Conform metodologiei, pentru a studia activarea memoriei spațiale pe termen lung a fost identificat un criteriu clasic de memorare − timpul petrecut de șobolani în sectorul țintă după încheierea învățării (în a 5-a zi), când platforma a fost îndepărtată din bazin. S-a constatat, că animalele, care au consumat biomasă de streptomicete și-au petrecut cea mai mare parte a timpului în sectorul țintă în comparație cu cele din lotul martor, ceea ce indică stimularea la ele a procesului de activare a memoriei spațiale pe termen lung, procesului de consolidare a engramei. În același timp, animalele, care au consumat BM1 și BM2 s-au aflat în sectorul țintă aproximativ aceeași parte a timpului (37,2±3,5 și, respectiv, 40,1±4,2%) (Fig. 5.10).

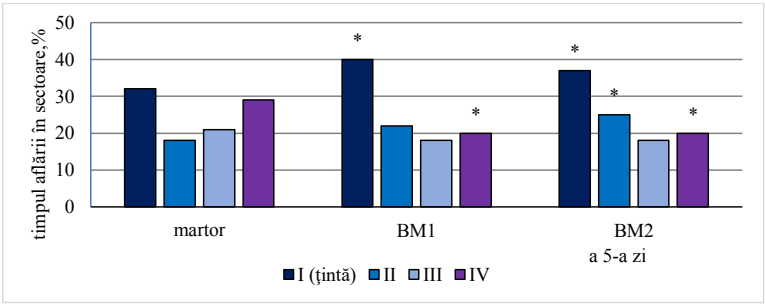


Fig. 5.10. Durata aflării șobolanilor masculi în sectoarele LAM în a 5-a zi de testare sub influența biomasei tulpinilor *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 (BM1) și *S. fradiae* CNMN-Ac-11 (BM2), * – diferențe statistic veridice față de martor (P<0,01-0,05)

Pentru a evalua păstrarea vestigiului în memorie și, respectiv, a memoriei spațiale pe termen lung, conform metodei a fost determinat timpul petrecut de șobolani în sectoarele țintă și nețintă ale labirintului în a 9-a și apoi la a 30-a zi după începutul învățării. Rezultatele obținute au arătat, că în a 9-a zi a experimentului și, deci, la 5 zile după încheierea învățării, șobolanii, care au primit cu hrana BM1 și BM2 au petrecut relativ mai mult timp în sectorul țintă în comparație cu cei din lotul martor și chiar nesemnificativ mai mult în comparație cu a 5-a zi de experiment (45,3±3,3% și, respectiv 40,1±2,8%), ceea ce indică păstrarea vestigiilor în memorie și eficacitatea metaboliților streptomiceților în raport cu păstrarea vestigiului în memorie (Fig. 5.11).

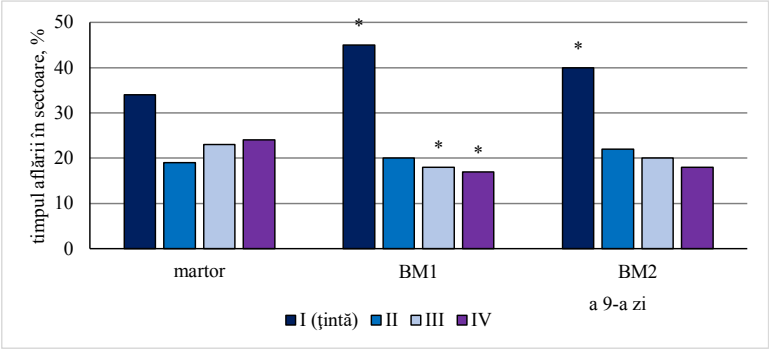


Fig. 5.11. Durata aflării șobolanilor masculi în sectoarele LAM în a 9-a zi de testare sub influența biomasei tulpinilor *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 (BM1) și *S. fradiae* CNMN-Ac-11 (BM2), * – diferențe statistic veridice față de martor (P<0,05)

Rezultatele testării la a 30-a zi a experimentului au arătat că, chiar și după o perioadă îndelungată șobolanii, care au consumat biomasă de streptomicete, spre deosebire de cei din lotul martor, păstrează vestigii în memorie despre locația platformei și se află mai des în sectorul țintă al LAM. (Fig. 5.12), în același timp, eficiența BM1 este mai mare în comparație cu BM2. Astfel, biomasa tulpinilor *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 (într-o măsură mai mare) și *S. fradiae* CNMN-Ac-11 contribuie la mărirea termenului de păstrare a vestigiilor în memorie.

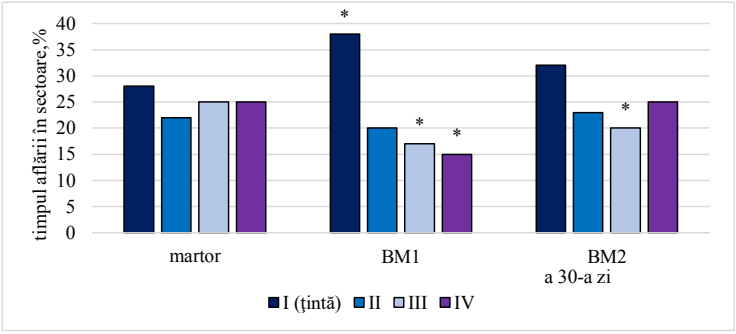


Fig. 5.12. Durata aflării șobolanilor masculi în sectoarele LAM în a 30-a zi sub influența biomasei tulpinilor *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 (BM1) și *S. fradiae* CNMN-Ac-11 (BM2), * – diferențe statistic veridice față de martor (P<0,05)

Trebuie remarcat faptul, că cercetarea procesului de învățare spațială și memorie a animalelor în LAM, precum și în LROB, sub influența biomasei tulpinilor *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 și *S. fradiae* CNMN- Ac-11 au fost efectuate pentru prima dată. Datele obținute pot demonstra indirect influența metaboliților secundari ai biomasei tulpinilor studiate asupra anumitor mecanisme de învățare, a memoriei de lucru și memoriei pe termen lung la șobolanii albi, ceea ce, probabil, este determinată de compoziția neuniformă a biomasei acestor tulpini.

Astfel, biomasa tulpinilor *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 și, într-o măsură mai mica *S. fradiae* CNMN-Ac-11, contribuie la o facilitare semnificativă a procesului de învățare spațială a șobolanilor masculi albi din LAM, activarea memoriei de lucru și memoriei spațiale pe termen lung, creșterea duratei de stocare a vestigiului în memorie. Eficacitatea biomasei tulpinilor studiate în raport cu procesele de învățare și memorie ete condiționată, evident, de efectul neuroprotector

al antioxidanților săi constituenți (este bine cunoscut faptul, că înotul în modelul LAM reprezintă un factor de stres destul de puternic pentru șobolani în stadiul inițial de învățare [12, 14]), precum și ai metaboliților, care pot stimula și menține procesele neuronale, care stau la baza învățării și memoriei, după cum reiese din rezultatele obținute anterior la Institutul de Fiziologie și Sanocreatologie împreună cu cercetătorii Institutului de Microbiologie și Biotehnologie [35, 36].

6. PARTICULARITĂȚILE ÎNVĂȚĂRII ȘI MEMORIEI LA ȘOBOLANII ALBI SUB INFLUENȚA BIOMASEI TULPINII *STREPTOMYCES MASSASPOREUS* CNMN-AC-06, CRESCUTĂ PE MEDIUL SP-I CU ADAOS DE ACID PARA-AMINOBENZOIC

Rezultatele cecetării, obținute la studierea învățării spațiale și memoriei șobolanilor albi în LROB și LAM au arătat, că biomasa tulpinii *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, cultivată pe mediul nutritiv SP-I, contribuie într-o măsură mai mare la facilitarea procesului de învățare spațială, activarea memoriei de lucru și memoriei pe termen lung și mărirea termenului de păstrare a vestigiilor în memorie. În ultimele decenii s-a stabilit, că tulpinile de streptomicete sintetizează o serie de metaboliți cu proprietăți neuroprotectoare pronunțate, condiționate, în primul, rând de activitatea lor antioxidantă. Unii dintre cei mai puternici neuroprotectori sunt benzastatinele [9]. Pentru a identifica rolul benzastatinelor, efectele neurofiziologice ale biomasei, care au fost identificate, la mediul nutritiv pentru cultivarea tulpinii de S. *massasporeus* CNMN-Ac-06 s-a adăugat PABA, care este materialul inițial pentru sinteza benzastatinelor. Prin urmare, pentru studiile ulterioare ale învățării și memoriei în camera navetă, LROB și LAM, a fost utilizată biomasa tulpinii *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, cultivată pe mediu SP-I cu adaos de PABA.

La studierea proceselor de învățare reflector-condiționată cu întărire aversivă în camera navetă s-a constatat, că biomasa tulpinii *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, cultivată pe mediul SP-I, care conține 1,37 g/l PABA (BM1PABA1), determină o creștere vizibilă a producției de RCEA la șobolanii de ambele sexe, atât în comparație cu martorul (în zilele 3-4 și 6-15 ale experimentului), cât și în comparație cu animalele, care au primit biomasa tulpinii *S. massasporeus* CNMN -Ac-06, cultivată pe mediul nutritiv standard SP-I (BM1) (în zilele a 3-a și a 6-15-a ale experimentului) (Fig. 6.1).

Creșterea conținutului de PABA în mediul pentru cultivarea tulpinii *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 până la 2,74 g/l (BM1PABA2) duce la o slăbire a eficacității biomasei în raport cu elaborarea reflexelor condiționate. Conform rezultatelor obținute, la animalele care au primit BM1PABA2, RCEA s-au elaborat mai lent, decât BM1PABA1, dar mai rapid decât la martor.

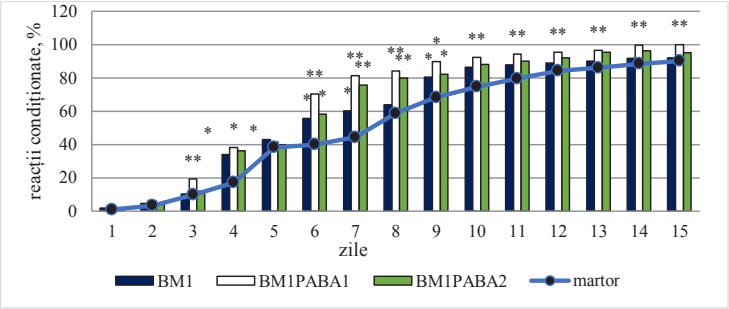


Fig. 6.1. Dinamica învățării reflector-condiționate cu întărire aversivă la masculi la consumul pe termen lung a biomasei tulpinii *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, crescută pe mediul SP-I cu adaos de PABA, * - diferențe statistic veridice față de martor (P < 0,05), ** - diferențe statistic veridice față de BM1 (P<0,05)

La studierea proceselor memoriei reflector-condiționate s-a constatat, că adăugarea în mediul pentru cultivarea tulpinii *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 PABA în doză de 1,37 g/l și, într-o măsură mai mică, 2,74 g/l contribuie la reducerea valorii PLRE la șobolani masculi, atât în comparație cu martorul, cât și, în unele cazuri, în comparație cu BM1 (Fig. 6.2). O dinamică similară a fost observată și la femelele de șobolan.

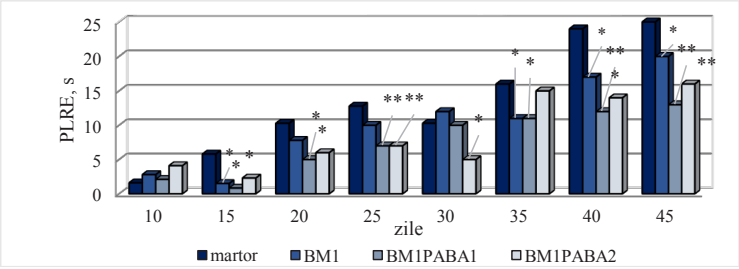


Fig. 6.2. Dinamica PLRE la șobolani masculi în decurs de 45 de zile după elaborarea RCEA la consumul pe termen lung a biomasei tulpinii *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, crescută pe mediul SP-I cu adaos de PABA, * - diferențe statistic veridice față de control P < 0,05, ** – diferențe statistic veridice față de BM1 (P<0,05)

Astfel, adăugarea de PABA în doză de 2,74 g/l și, mai ales, 1,37 g/l în mediul nutritiv pentru cultivarea tulpinii *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, determină o intensificare vizibilă a elaborării reflexelor condiționate defensive de evitare activă și contribuie la creșterea eficienței biomasei în raport cu procesele memoriei reflector-condiționate și păstrarea vestigiilor în memorie pe termen lung la șobolanii albi de ambele sexe.

Rezultatele experimentelor, privind studiul învățării spațiale și memoriei șobolanilor albi de ambele sexe au arătat, că adăugarea de PABA în doza de 1,37 g/l (BM1PABA1) la mediul pentru cultivarea tulpinii *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 (BM1PABA1) conduce la o creștere vizibilă a PMMS în comparație cu martorul, precum și în comparație cu animalele, care au primit biomasa tulpinii *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 fără PABA (BM1) cu durata FR de 30 s, precum și de 10 min. Prezintă interes faptul, că în cazul când se adaugă 2,74 g/l PABA (BM1PABA2) în mediul nutritiv eficacitatea biomasei în raport cu învățarea spațială și memoria veridic practic nu diferă de BM1 (Fig. 6.3 și 6.4, pe exemplul masculilor).

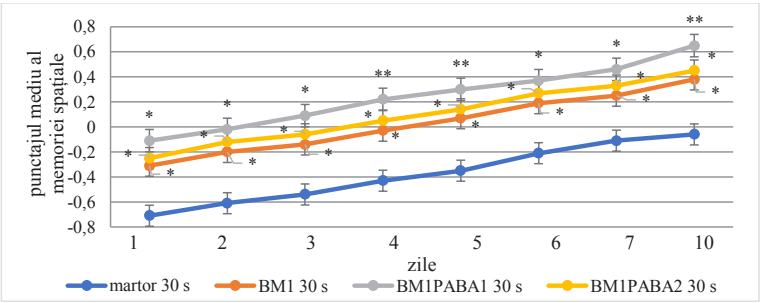


Fig. 6.3. Dinamica PMMS la șobolanii masculi în LROB cu o durată a FR de 30 s sub influența biomasei tulpinii *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, cultivată pe mediul SP-I cu adaos de PABA, * – diferențe statistic veridice comparativ cu controlul (P <0,05), **– diferențe statistic veridice față de BM1 (P<0,05)

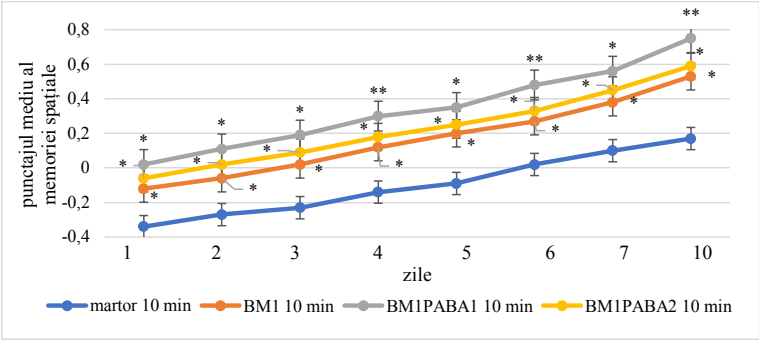


Fig. 6.4. Dinamica PMMS la șobolanii masculi în labirintul radial cu opt brațe cu o durată a FR de 10 min sub influența biomasei tulpinii *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, cultivată pe mediul SP-I cu adaos de PABA, * – diferențe statistic veridice comparativ cu controlul (P <0,05), **– diferențe statistic veridice față de BM1 (P<0,05)

Este important de menționat, că creșterea conținutului de PABA în mediul pentru cultivarea tulpinii *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 până la 2,74 g/l duce la o scădere a eficienței biomasei și în raport cu învățarea reflector-condiționată în camera navetă. Eficacitatea BM1PABA1 a fost, de asemenea, semnificativ mai mare în a 10-a zi a experimentului (după o pauză în zilele 8 și 9), în comparație cu martorul, precum și cu BM1 și BM1PABA2 ceea ce indică efectul său stimulator asupra activării memoriei spațiale pe termen lung la șobolanii albi.

Rezultatele studiului termenului de păstrare a vestigiilor în memorie pe termen lung la a 30-a zi a experimentului au arătat, că adăugarea de BM1PABA1 la hrana șobolanilor duce la o creștere a PMMS în raport cu martorul atât la FR cu durata de 30 s, cât și de 10 min – cu 0,67 ± 0,22 și respectiv 0,63 ± 0,35 puncte, iar la animalele care primesc BM1PABA2 – cu 0,51± 0,45 și respectiv, 0,35 ± 0,49 puncte, în același timp, adăugând biomasă fără PABA la hrana animalelor – cu 0,45±0,31 și respectiv, 0,29±0,53 puncte. Astfel, animalele cărora le-a fost administrată biomasa tulpinii *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 cu adaos de PABA în doza de 1,37 g/l și, într-o măsură mai mică, 2,74 g/l, au demonstrat o reproducere semnificativ mai bună a memoriei spațiale pe termen lung, în comparație cu martorul, precum și cu BM1 fără PABA.

Astfel, biomasa tulpinii *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, cultivată pe mediul SP-I cu adaos de PABA, stimulează semnificativ procesul de învățare al șobolanilor albi de ambele sexe în LROB și contribuie la facilitarea procesului elaborării memoriei de lucru, activarea și mărirea termenului de p[strare a memoriei spațiale pe termen lung în comparație cu martorul, precum și cu biomasa tulpinii *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, cultivată pe mediul nutritiv standard SP-I.

Rezultatele studiului indicatorilor PL și DP, obținute la studierea învățării spațiale în LAM, arată că biomasa tulpinii *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, cultivată pe mediul SP-I cu adaos de PABA în doză de 1,37 g/l (BM1PABA1), contribuie într-o măsură mai mare la facilitarea procesului de învățare spațială decât în doza de 2,74 g/l (BM1PABA2), precum și fără adăugarea de PABA (BM1) (Fig. 6.5 și 6.6). La compararea loturilor de animale, care au consumat BM1 și BM1PABA2 nu au fost elucidate diferențe veridice dintre PL și DP, deși a existat o tendință ca acestea să crească sub influența BM1PABA2, în comparație cu BM1.

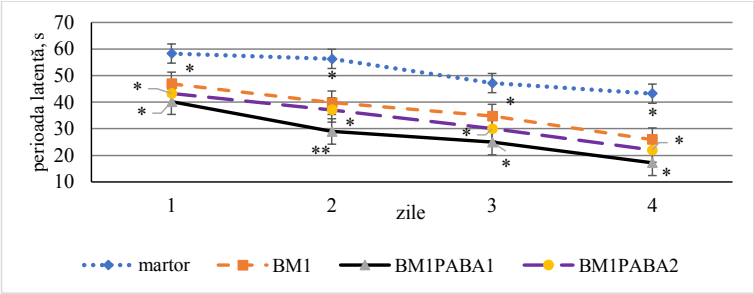


Fig. 6.5. Dinamica PL la șobolani masculi din LAM sub influența biomasei tulpinii *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, cultivată pe mediul SP-I cu adaos de PABA, *– diferențe statistic veridice față de martor (P< 0,05), **– diferențe statistic veridice față de BM1 (P<0,05)

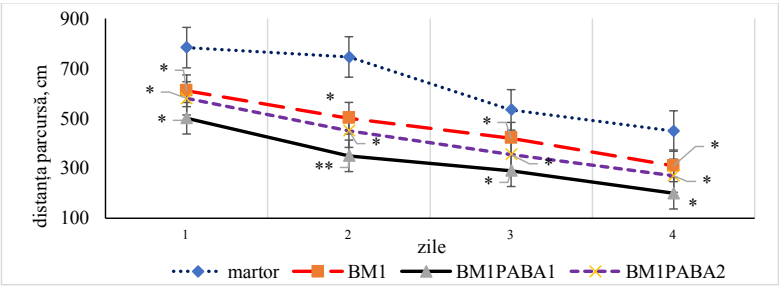


Fig. 6.6. Dinamica DP a șobolanilor masculi în LAM sub influența biomasei tulpinii *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, cultivată pe mediul SP-I cu adaos de PABA, *– diferențe statistic veridice față de martor (P< 0,05), **– diferențe statistic veridice față de BM1 (P<0,01-0,05)

Pentru a evalua termenul de păstrare a vestigiului în memorie și, respectiv, a memoriei spațiale pe termen lung, conform metodei a fost determinat timpul petrecut de șobolani în sectoarele țintă și neținta ale labirintului în a 9-a și a 30-a zi a experimentului. Rezultatele au arătat, că în a 9-a zi, șobolanii din lotul martor s-au aflat în sectorul țintă 30,3±2,2%, iar șobolanii care au primit BM1 – 39,2±1,8%. S-a depistat, că la șobolanii, care au primit BM1PABA1 și BM1PABA2 timpul petrecut în sectorul țintă a fost de 49,1±1,1% și respectiv, 42,0±1,5%. Astfel, animalele, care au primit cu hrana BM1PABA1 s-au aflat cel mai mult timp în sectorul țintă, ceea ce a contribuit la activarea memoriei spațiale pe termen lung la șobolanii albi.

Rezultatele studiului la a 30-a zi a experimentului au arătat, că consumul de BM1PABA1 de către șobolani masculi are un efect pozitiv mai mare asupra procesului de reținere a vestigiilor în memoria spațială pe termen lung atât în comparație cu martorul, cât și cu BM1 (Fig. 6.7). Reprezintă interes faptul, că la compararea loturilor, care au primit BM1 și BM1PABA2 nu s-au evidențiat diferențe veridice în timpul aflării în sectorul țintă, în timp ce s-a observat o tendință de creștere ale acestora în comparație cu martorul.

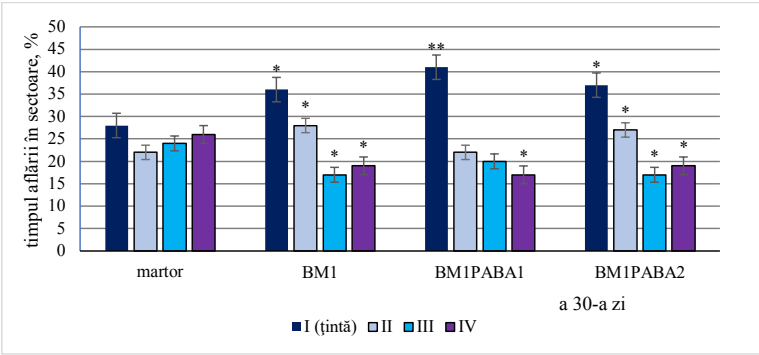


Fig. 6.7. Durata aflării în sectoarele LAM a șobolanilor masculi la a 30-a zi de testare sub influența biomasei tulpinii *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, cultivată pe mediul SP-I cu adaos de PABA, * – diferențe statistic veridice comparativ cu martorul (P<0,05), **– diferențe statistic veridice față de BM1 (P<0,05)

Astfel, biomasa tulpinii *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, cultivată pe mediu nutritiv SP-I cu adaos de PABA (într-o măsură mai mare în doză de 1,37 g/l), contribuie la o facilitare semnificativă a procesului de învățare spațială, dezvoltarea memoriei de lucru, activarea și mărirea termenului de păstrare a vestigiilor în memoria spațială pe termen lung la șobolanii albi în LAM atât în comparație cu martorul, cât și cu biomasa tulpinii *S. massasporeus* CNMN-Ac- 06, cultivată pe mediul nutritiv standard SP-I.

CONCLUZII GENERALE

Cercetarea și analiza rezultatelor obținute a permis formularea următoarelor concluzii:

1. Biomasa tulpinilor de streptomicete *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 și *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11, crescute pe anumite medii nutritive, se caracterizează printr-un nivel ridicat de substanțe biologic active (aminoacizi neesențiali și esențiali, diverse fracții lipidice) implicate nemijlocit în reglarea metabolismului plastic și a activității psihogene a organismului.
2. Sub influența biomasei tulpinii *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06, cultivată pe un mediu nutritiv care conține acid para-aminobenzoic cu o concentrație de 1,37 g/l, se constată o sporire semnificativă a creșterii masei corporale, a rezistenței la stresul termic, fertilității, precum și o îmbunătățire a proceselor de dezvoltare a puilor de șobolani albi într-o măsură mai mare, decât sub influența biomasei tulpinilor de streptomicete *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 și *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11, cultivate pe mediul complex standard SP-I.
3. Studiul comparativ al efectelor neurofiziologice ale biomasei tulpinilor de streptomicete *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 și *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11, cultivate pe mediul complex SP-I, denotă, că acestea influențează în măsură diferită procesele de învățare, activarea memoriei de scurtă durată și menținerea vestigiului în memorie; un efect mai pronunțat asupra învățării reflector-condiționate și memoriei este exercitat de biomasa tulpinii *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11, iar asupra învățării spațiale și memoriei – de *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06.
4. Consumul pe termen lung al biomasei de streptomicete manifestă un efect mai pronunțat asupra proceselor de formare a unui comportament nou, stimulării învățării reflector-condiționate și a duratei de păstrare a vestigiului în memoria pe termen lung la animalele senile, comparativ cu cele tinere.
5. Intensificarea proceselor de învățare reflector-condiționată și spațială, activarea memoriei de lucru, prelungirea păstrării vestigiilor în memorie pe termen lung sunt mai exprimate în cazul consumului de către șobolanii albi a biomasei tulpinii *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06,

cultivată pe un mediul nutritiv cu adaos de acid para-aminobenzoic cu o concentratie de 1,37 g/l, comparativ cu biomasa obținută prin cultivarea acestei tulpini pe mediul nutritiv standard.
6. Biomasa streptomicetelor *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 și *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11 are un efect multifuncțional asupra activității organismului: îmbunătățește nu numai procesele de învățare și memorie, dar contribuie și la creșterea adaosului masei corporale, fertilității șobolanilor albi, creșterea și dezvoltarea descendenților, ceea ce necesită cercetări suplimentare ulterioare, privind identificarea substanțelor biologic active din biomasă pentru utilizarea lor în practică.

RECOMANDĂRI PRACTICE

1. Biomasa tulpinilor de streptomicete *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 și *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11, izolate din solurile din zona centrală a Republicii Moldova, poate fi recomandată pentru obținerea în baza acesteia a noi preparate eficiente cu proprietăți neuroprotectoare și nootrope pronunțate.
2. Preparatele bazate pe biomasa tulpinilor *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06 și *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11 pot fi utilizate în zootehnie pentru creșterea masei corporale și fertilității animalelor de fermă.
3. Pentru a crește eficiența biomasei streptomicetelor în raport cu procesele de învățare și memorie, precum și pentru a spori adaosul masei corporale și fertilitatea animalelor se recomandă includerea acidului para-aminobenzoic în compoziția mediilor nutritive pentru cultivarea streptomicetelor la o concentrație de 1,37 g/l.

BIBLIOGRAFIE

1. 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.
2. 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.
3. BREM, A., RAN, K., PASCUAL-LEONE, A. Learning and memory. In: *Handbook of clinical neurology*. *Elsevier. Brain stimulation*. 2013, vol. 116, p. 693–737.
4. 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.
5. 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 Universității din Oradea,* 2015, t. XXII, is. 2, p. 57-62.
6. 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.
7. 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.
8. JOSSELYN, S.A., FRANKLAND, P.W. Memory Allocation: Mechanisms and Function. In: *Annu. Rev. Neurosci.* 2018, vol. 41, p. 389–413.
9. 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.
10. 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.
11. 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.

12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. 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.
16. ŞEPTIŢCHI, V., VASILCIUC, A., **GARBUZNEAC, A**. et al. Influenţa consumului pe termen lung al biomasei tulpinilor Streptomyces massasporeus CNMN-36 şi Streptomyces fradiae CNMN-ac-11 asupra învăţării şi memoriei reflector-condiţionate a şobolanilor albi de diferite vârste. In: *Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţele vieţii.* 2021, nr. 2, p. 72-82.
17. 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.
18. 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.
19. 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.
20. 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.
21. SUNAZUKA, T., HIROSE, T., OMURA, S. Efficient total synthesis of novel bioactive microbial metabolites. In: *Acc. Chem. Res*. 2008, vol. 41, p. 302–314.
22. 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.
23. 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.
24. ZHENG, J.C., CHEN, S. Translational Neurodegeneration in the era of fast growing international brain research. In: *Transl. Neurodegener.* 2022, p. 45-48.
25. БАУЭР, Г., ЭНГЕЛЬГАРД, Х., ХЕНШЕН, А. и др. Высокоэффективная жидкостная хроматография в биохимии. В: *Мир*, 1988. 687 с.
26. 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.
27. ЗАРАЙСКАЯ, И.Ю. Системный анализ оборонительного поведения крыс Вистар при обучении двустороннему избеганию. В: *Журнал ВНД,* 1995, т. 45, № 3, с. 472-478.
28. КЕЙТС, Е.М. Техника липидологии. В: *Москва: Мир,* 1985, 304 с.
29. 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.
30. 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.
31. ФУРДУЙ, Ф.И, ЧОКИНЭ, В.К., ВУДУ, Л.Ф. Новое видение о психическом здоровье. В: *Fiziologia şi sănătatea.* 2012, с.11-18.

32. 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.
33. 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.
34. 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.
35. 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.
36. 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.

LISTA PUBLICAȚIILOR AUTORULUI LA TEMA TEZEI

2. Articole în reviste științifice

2.1 în reviste din bazele de date Web of Science și 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 în reviste din Registrul Național al revistelor de profil (Categoria B)

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. https://natural.studiamsu.md/wp-content/uploads/2024/06/14_Garbuzneac_et_al.pdf

3. Articole în culegeri științifice

3.2 în lucrările conferințelor științifice naționale cu participare internațională

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,* Chişinău, 2021, vol. 1, p. 284-290. ISBN 978-9975-76-327-1.

3.3 în lucrările conferințelor științifice naționale

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. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/112764

8. **GARBUZNEAC, A**. Caracteristici comparative ale activităţii reflexe condiţionate a şobolanilor de diferite vârste sub influenţa biomasei tulpinilor *Streptomyces massasporeus* CNMN-AC-06 şi *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. Conferința Științifică Națională, consacrată jubileului de 95 ani din ziua nașterii academicianului Boris Melnic, Chisinau. In: *CEP USM*. 2023, vol. 1, p. 57-60. ISBN 978-9975-62-496-1. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/175037

3.4 în lucrările conferințelor științifice internaționale (peste hotare)

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. Teze în culegeri științifice

4.1 în lucrările conferințelor științifice internaționale (Republica Moldova)

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. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/167883

4.2 în lucrările conferințelor științifice naționale cu participare internațională

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 în lucrările conferințelor științifice internaționale (peste hotare)

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". Iași, 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", Iași, 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 Internațional de Invenții și Inovații „TRAIAN VUIA", ediția a IX –a, Timișoara, 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 Internațional al Cercetării științifice, Inovării și Invenții, ediția XXI, Cluj-Napoca, România, 2023, p. 276-277. ISSN: 3008-458X (Diploma de Excelenta și 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 естественно-географического факультета ПГУ им. Т.Г. Шевченко. Получены 2 патента, 4 медали на международных выставках инноваций.

GARBUZNEAC ANASTASIA

ÎNVĂȚAREA ȘI MEMORIA ȘOBOLANILOR ÎN CONSUMUL BIOMASEI DE STREPTOMICETE

165.01. Fiziologia omului și animalelor

Rezumatul tezei de doctor în științe biologice

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

Formatul hârtiei: 60×84 1/16
Tiraj: 35 exemplare
Comanda 1-09/24

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