

УДК 5577.322.53: 57.021

## СМЕЩЕНИЕ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО РАВНОВЕСИЯ В ОРГАНИЗМЕ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ПЯТИКРАТНОМ ПОВЫШЕНИИ КОНЦЕНТРАЦИИ ДЕЙТЕРИЯ В ПИТЬЕВОМ РАЦИОНЕ

© 2023 г. С.В. Козин\*, \*\*, О.М. Лясота\*, \*\*, А.А. Кравцов\*, \*\*, Е.В. Чихиржина\*\*\*, В. А. Ивлев\*\*\*\*, К. А. Попов\*, \*\*\*\*, А.А. Дорохова\*, \*\*, #, В.В. Мальшко\*, \*\*\*\*\*, А.В. Моисеев\*\*\*\*\*, А.В. Дроздов\*\*\*\*\*, С.С. Джимаков\*, \*\*

ФИЦ «Южный научный центр РАН, пр. Чехова, 41, Ростов-на-Дону, 344006, Россия

\*\* Кубанский государственный университет, ул. Ставропольская, 149, Краснодар, 350040, Россия

\*\*\* Институт цитологии РАН, пр. Тихорецкий, 4, Санкт-Петербург, 194064, Россия

\*\*\*\* Российский университет дружбы народов, ул. Миклухо-Маклая, 6, Москва, 117198, Россия

\*\*\*\*\* Кубанский государственный медицинский университет МЗ РФ,

ул. им. Митрофана Седина, 4, Краснодар, 350063, Россия

\*\*\*\*\* Кубанский государственный аграрный университет, ул. Калинина, 13, Краснодар, 350004, Россия

\*\*\*\*\* Институт аналитического приборостроения РАН, ул. Ивана Черных, 31-33а,

Санкт-Петербург, 198095

# E-mail: 013194@mail.ru

Поступила в редакцию 12.10.2022 г.

После доработки 31.10.2022 г.

Принята к публикации 01.11.2022 г.

Представлены результаты исследования влияния воды с содержанием дейтерия 750 ppm, моделирующей изотопный состав воды в ледяных шапках на полюсах Марса, на окислительные процессы в тканях печени и крови лабораторных животных. Установлено, что длительное потребление утяжеленной дейтерием воды способствовало увеличению содержания дейтерия в плазме крови до 487 ppm. В результате выявлено усиление антиоксидантного потенциала в тканях печени и в плазме крови. Также исследовано влияние среды с содержанием дейтерия 487 ppm на вторичную структуру бычьего сывороточного альбумина в модельном эксперименте. Обнаружено снижение интенсивности спектров кругового дихроизма и спектров собственной триптофановой флуоресценции, что указывает на конформационные изменения в структуре данного белка на фоне повышения содержания дейтерия в среде инкубации. Проведенное исследование создает предпосылки для дальнейшего изучения влияния питьевого рациона с повышенным содержанием дейтерия (от 700 до 1000 ppm) на живые системы для понимания возможности осуществления жизни на Марсе.

*Ключевые слова:* антиоксидантная активность, дейтерий, Марс, лабораторные животные, бычий сывороточный альбумин.

DOI: 10.31857/S0006302923020163, EDN: CCNNGX

Известно, что изотопный состав атмосферы Марса значительно отличается от земного – в ней присутствует в 6 раз больше дейтерия (700–1000 ppm), на 70% больше азота-15 и на 5% – углерода-13 и кислорода-18 [1, 2]. Прежде чем отправлять экспедицию на Марс с целью основания колонии, необходимо выяснить, как отличный от

земного марсианский изотопный состав повлияет на жизнедеятельность млекопитающих. Известно, что снижение содержания дейтерия в питьевом рационе может оказывать стимулирующее влияние на функциональную активность живых систем [3–5], тогда как значительное увеличение концентрации дейтерия способно ингибировать жизненно важные процессы [6–10], а в ряде случаев отмечено, что умеренные колебания концентрации дейтерия (как при повышении, так и при уменьшении его содержания в воде) способны повышать функциональную активность живых систем [11–14].

*Сокращения:* ВМИС – вода с модифицированным изотопным составом, АВТС – 2,2'-азино-бис-3-этилбензтиозолин-6-сульфокислота, КД – круговой дихроизм, БСА – бычий сывороточный альбумин, АОС – антиоксидантная система, GSH – концентрация восстановленного глутатиона.

К настоящему времени опубликовано значительное количество работ, в которых описано как активирующее, так и ингибирующее влияние воды с пониженным относительно природного уровня содержанием дейтерия практически на все уровни организации живой материи (молекулярный [15–18], клеточный [19, 20], тканевый [21–25], организменный [26–31]). При этом особый интерес представляет исследование влияния воды, в которой содержание дейтерия сопоставимо с таковым в ледниковых шапках Марса, на функциональные системы неспецифической защиты организма, прежде всего, на ее прооксидантно-антиоксидантное звено, нарушения в котором играют существенную роль в развитии многих заболеваний [32–34].

Целью настоящего исследования являлось изучение влияния воды с модифицированным изотопным составом (750 ppm) на показатели прооксидантно-антиоксидантной системы печени и крови лабораторных животных.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В эксперименте использовали воду с модифицированным изотопным составом с содержанием дейтерия 750 ppm (ВМИС-750 ppm), которая была получена разведением оксида дейтерия (99,92%) («Leimacs», Россия) водой с естественным содержанием дейтерия 150 ppm. Питьевая вода с природной концентрацией дейтерия была получена на бидистилляторе УПВА 5 (ООО ПФ «Ливам», Россия). Физиологически полноценную воду с содержанием дейтерия 750 и 150 ppm получали путем добавления в нее минеральных солей (общая минерализация составила от 314 до 382 мг/л). Животных содержали в виварии при естественном освещении, свободном доступе к пище и воде. Суточное потребление воды животными всех групп в течение эксперимента составляло в среднем от 18 до 27 мл на одну голову и не зависело от физиологического состояния животных. Эксперимент выполнен на 14 крысах-самцах линии *Wistar* в возрасте 1,5 месяца (массой от 240 до 270 г). Условия содержания животных были стандартизированы: температура  $20 \pm 3^\circ\text{C}$ , влажность  $48 \pm 2\%$ , освещение – режим день/ночь (с 6.00 до 18.00 и с 18.00 до 6.00). В качестве подстилки использовали березовую стружку. На протяжении всего эксперимента животные потребляли стандартный концентрированный комбикорм по ГОСТ Р 50258. Эксперименты проводили в соответствии с требованиями Приказа МЗ РФ № 267 от 19 июня 2003 года «Об утверждении правил лабораторной практики», Правил лабораторной практики (GLP), Хельсинской декларации (2000) и Директив Европейского сообщества 86/609/ЕЕС [35].

Животные были разделены на две группы по семь особей в каждой:

– в группу 1 (контрольную) были включены интактные крысы, получавшие в рационе воду с содержанием дейтерия, равной естественной (150 ppm), в течение двух месяцев;

– в группу 2 («ВМИС-750 ppm») – крысы, получавшие в рационе воду с содержанием дейтерия 750 ppm в течение двух месяцев.

На 61-е сутки эксперимента крысам проводили декапитацию под общей анестезией, выполняемой препаратом Золетил 100 (Virbac, Франция), после чего печень животных извлекали и помещали в жидкий азот. Из полученной смешанной крови готовили плазму путем центрифугирования при 1500 об/мин в течение 15 мин. Супернатант получали из навески ткани печени, растертой в ступке, охлажденной жидким азотом и помещенной в холодный фосфатный буфер с pH 7.4 (из расчета 100 мг ткани на 1 мл буфера) [36]. Гомогенизировали ткань встряхиванием в течение 15 мин с последующим центрифугированием 10 мин при 6000 об/мин.

Концентрацию дейтерия в плазме крови определяли в ЦКП НОРЦ «Фармация» (РУДН, Москва) с помощью ЯМР-спектрометра Bruker Avance NEO 700 МГц по методике, подробно описанной в работе [37].

Интенсивность свободнорадикальных процессов в плазме крови определяли методом хемилюминесцентного анализа на приборе Lum-100 по следующим показателям: светосумме – интегральному показателю свечения в усл. ед., амплитуде быстрой вспышки в мВ и тангенсу угла наклона ветви графика [38]. В тканях печени лабораторных животных определяли содержание низкомолекулярного ферментативного показателя антиоксидантной системы – восстановленного глутатиона. Общую антиоксидантную активность оценивали по светосумме свечения хемилюминесценции в усл. ед. [39] и методом оценки радикальной сорбции 2,2'-азино-бис-3-этилбензтиозолин-6-сульфокислоты (ABTS) [40]. Согласно данному методу предварительно готовили раствор относительно стабильного радикала ABTS, имеющего зеленую окраску, который перед исследованием разводили до оптимального значения оптической плотности (примерно 0.7 единиц оптической плотности). Затем в кювету с разведенным раствором ABTS вносили супернатант и регистрировали скорость снижения оптической плотности при 734 нм против холостой пробы, содержащей реакционную смесь и буферный раствор вместо исследуемого образца. Результаты представляли в перерасчете на mM аскорбиновой кислоты, которую использовали в качестве стандарта, для этого предварительно строили калибровочный график с известными

Таблица 1. Показатели развития хемилюминесценции в крови

Группа	Светосумма, у.е.	Амплитуда быстрой вспышки, мВ	tg $\alpha$
Контроль-150 ppm	462 $\pm$ 8	13.5 $\pm$ 0.1	0.145 $\pm$ 0.004
«ВМИС-750 ppm»	306 $\pm$ 7*	9.2 $\pm$ 0.6*	0.117 $\pm$ 0.007*

Примечание: Данные представлены в виде  $M \pm m$ ; \* –  $p < 0.05$  относительно контрольной группы.

концентрациями витамина С и на его основании проводили последующий расчет соответствующей активности опытного образца. Кроме того, определяли известный маркер окислительных процессов – число продуктов, образующихся в результате взаимодействия с тиобарбитуровой кислотой [41], основным из которых является малоновый диальдегид. Данный показатель выражали в единицах оптической плотности на 1 г белка. Содержание восстановленного глутатиона определяли с помощью реактива Элмана (5,5'-дитиобис-(2-нитробензойной кислоты)), данные представляли в мкмольях на 1 г белка [42].

Структура бычьего сывороточного альбумина в средах с различным содержанием дейтерия (150 и 487 ppm) была изучена с помощью спектров собственной триптофановой флуоресценции и спектров кругового дихроизма (КД). Для этого был приготовлен основной раствор бычьего сывороточного альбумина (БСА) на воде с природным содержанием дейтерия (150 ppm) в 0.01 М калий-фосфатном буфере при pH 7.5. Исходную воду с удельным сопротивлением 18.2 МОм·см с содержанием дейтерия 150 ppm для приготовления растворов получали на установке LaboStar TWF 7 (Evoqua, Германия). За сутки до измерений готовились два рабочих раствора БСА. Первый рабочий раствор готовили разведением основного раствора фосфатным буфером (pH 7.5, 150 ppm) до нужной концентрации белка. Второй рабочий раствор получали добавлением D<sub>2</sub>O в основной раствор. Концентрация БСА составила 5 мкМ, ее определяли, используя коэффициент оптического поглощения  $\varepsilon_{279} = 43824 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ , на спектрофотометре U-2000 (Hitachi, Япония) [43]. Флуоресцентные измерения проводили на спектрофлуориметре F-2700 (Hitachi, Япония). Собственную триптофановую флуоресценцию возбуждали светом длиной волны 297 нм [44]. Спектры КД регистрировали на дихрографе Mark V (Jobin Ivon, Франция) при комнатной температуре в кварцевых кюветах с длиной оптического пути 0.1 см. Спектры снимали в диапазоне от 197 до 260 нм с шагом в 1 нм. На каждой длине волны проводили усреднение сигнала КД по 1000 измерений. Для устранения влияния низкочастотных случайных процессов спектры образца

записывали три раза с последующим усреднением. Спектры КД представлены в пересчете на молярную эллиптичность ( $\theta$ ), выраженную в град·см<sup>2</sup>·дмоль<sup>-1</sup>. Процент  $\alpha$ -спиралей в белковой молекуле рассчитывали при 220 нм по эмпирической формуле  $\alpha(\%) = (-\theta_{220} + 3000)/3900$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Содержание дейтерия в крови лабораторных животных, в питьевом рационе которых была ВМИС-750 ppm, повысилось со  $149.7 \pm 0.5$  ppm до  $486.2 \pm 4.6$  ppm.

На фоне продолжительного использования в питьевом рационе ВМИС с содержанием дейтерия 750 ppm происходило смещение прооксидантно-антиоксидантного равновесия в крови и тканях печени крыс. При этом на фоне увеличения концентрации дейтерия наблюдалось усиление антиоксидантного потенциала крови экспериментальных животных, что сопровождалось снижением показателей нарастания вспышки хемилюминесценции (табл. 1). Светосумма свечения хемилюминесценции и тангенс угла наклона графика, пропорциональные количеству свободных радикалов, генерируемых в модельной системе, уменьшились соответственно на 34 и 28% для животных группы «ВМИС-750 ppm» по сравнению с контрольной группой ( $p < 0.05$ ). Амплитуда быстрой вспышки также снизилась на 31% относительно контрольной группы ( $p < 0.05$ ), что свидетельствует о более низком содержании гидроперекисей в крови животных в группе «ВМИС-750 ppm».

Из табл. 2 видно, что показатели антиоксидантной системы ткани печени выше у животных, в рационе которых была ВМИС-750 ppm, по сравнению с группой животных, которые потребляли воду с естественным содержанием дейтерия.

Общая активность антиоксидантной системы была выше в группе «ВМИС-750 ppm», что выразилось статистически значимым снижением светосуммы свечения хемилюминесценции на 13% и увеличением радикальной сорбции на 21% по сравнению с контрольной группой. Основной вклад в общую защиту от свободных радикалов и перекисных соединений вносят ферментативные

**Таблица 2.** Показатели системы антиоксидантной защиты в тканях печени

Группа	Светосумма хемиллюминесценции, усл. ед.	ABTS, мМ/мг белка	Восстановленный глутатион, мкМ/г белка	Продукты взаимодействия с тиобарбитуровой кислотой, е.о.п./г белка
Контроль – 150 ppm	48.7 ± 0.9	1.22 ± 0.05	56.6 ± 3.4	8.8 ± 0.5
«ВМИС-750 ppm»	42.4 ± 2.0*	1.48 ± 0.06*	77.5 ± 5.8*	7.6 ± 0.9

Примечание. Данные представлены в виде  $M \pm m$ ; \* –  $p < 0.05$  относительно контрольной группы; е.о.п. – единица оптической плотности.

и неферментативные звенья антиоксидантной защиты. Ряд ферментов последнего звена (глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза, глутатионтрансфераза) функционируют прежде всего в тесном контакте с тиолсодержащими субстратами, в первую очередь регулируя концентрацию восстановленного глутатиона, являющегося ключевым внутриклеточным низкомолекулярным компонентом антиоксидантной системы. Животные, группы «ВМИС-750 ppm», имели достоверно более высокое содержание восстановленного глутатиона в тканях печени (на 37%) по сравнению с животными, в рационе которых была вода с естественным содержанием дейтерия 150 ppm. Вещества, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой, являются продуктами перекисного окисления липидов и служат маркерами окислительного стресса. Для группы «ВМИС-750 ppm» данный показатель окислительного стресса был несколько ниже, чем для контрольной группы, хотя и не имел статистически значимого различия.

Таким образом, потребление лабораторными животными воды с повышенным содержанием дейтерия (750 ppm) относительно природного уровня способствовало увеличению антиокси-

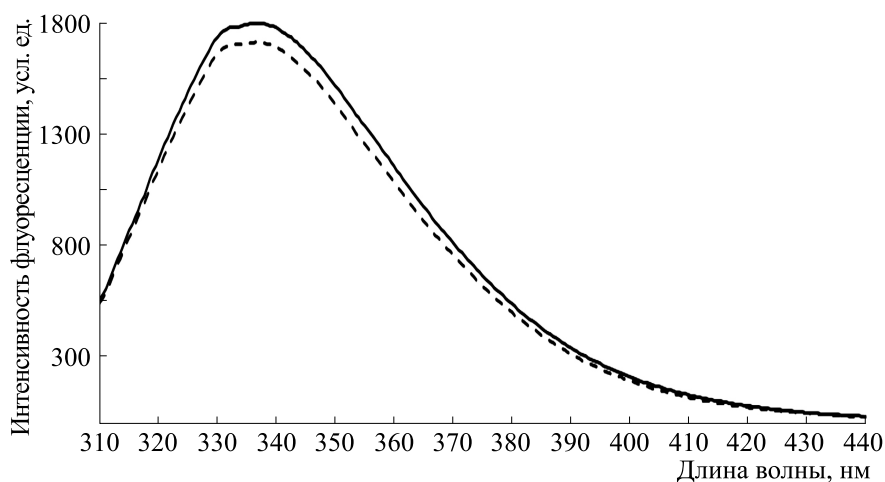
дантного потенциала в тканях печени и в плазме крови.

Мы предполагаем, что повышение антиоксидантного потенциала в организме может быть связано со структурными и функциональными изменениями в белковых молекулах на фоне вынужденного изотопного D/H-обмена во внутренних жидкостях организма. Для подтверждения данного предположения была изучена структура модельного белка бычьего сывороточного альбумина в среде с содержанием дейтерия 487 ppm, соответствующая его содержанию в крови экспериментальных животных.

При оценке собственной триптофановой флуоресценции БСА установлено, что интенсивность флуоресценции альбумина была на 5% меньше в среде с повышенной концентрацией дейтерия, чем в среде с природной концентрацией тяжелого водорода (рис. 1).

В КД-спектрах также происходит снижение интенсивности разности поглощения лево и правостороннего поляризованного света (рис. 2).

Процент  $\alpha$  спиральных структур в молекуле белка определяется интенсивностью КД-спек-



**Рис. 1.** Собственная триптофановая флуоресценция бычьего сывороточного альбумина в средах с различным содержанием дейтерия: сплошная линия – 150 ppm, пунктирная линия – 487 ppm.

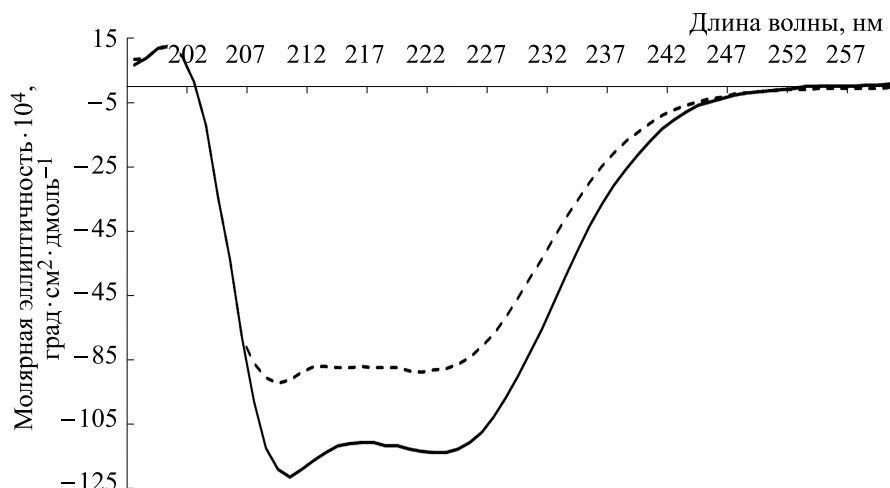


Рис. 2. КД-спектры бычьего сывороточного альбумина в средах с различным содержанием дейтерия: сплошная линия — 150 ppm, пунктирная линия — 487 ppm.

тров при 208 и 220 нм. Снижение молярной эллиптичности при данных длинах волн является следствием изменения вторичной структуры белков, а именно уменьшения количества  $\alpha$ -спиралей. КД-спектры БСА в среде с содержанием дейтерия 487 ppm имели более низкую молярную эллиптичность, по сравнению со средой с содержанием дейтерия 150 ppm. Данный факт указывает на снижение процента  $\alpha$ -спиралей во вторичной структуре БСА в среде с содержанием дейтерия 487 ppm.

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Повышение концентрации дейтерия в экстрацеллюлярной жидкости и тканях организма происходит вследствие изотопного D/H-обмена в белках, липидах и нуклеиновых кислотах, образующих клетки. Известно, что наиболее активно такое замещение происходит в функциональных группах, имеющих неподеленную электронную пару и способных образовывать водородные связи. К таким атомным группировкам относятся гидроксильные ( $-\text{OH}$ ), карбоксильные ( $-\text{COOH}$ ) и аминогруппы ( $-\text{NH}_2$ ) [45]. Энергия дейтериевой связи на 5% выше водородной [46]. Поэтому изотопный обмен протона на дейтрон в гидратационной воде или в функциональных группах аминокислотных остатков, находящихся на поверхности белковой структуры, способствует укреплению межмолекулярных связей между гидратационным слоем и макромолекулой, что в конечном счете может привести к изменению функциональной активности белка.

Ранее нами было установлено, что среда с содержанием дейтерия 50 ppm приводит к снижению скорости окисления о-дианизидина пероксидом водорода, катализируемое пероксидазой

хрена [47]. В литературе имеются данные о снижении ферментативной активности ацетилхолинэстеразы в среде с высоким содержанием дейтерия [48].

Учитывая полученные результаты флуоресцентной и КД-спектроскопии, вероятнее всего, можно допустить, что усиление водородных связей приводит к конформационным перестройкам в молекуле БСА. Потеря доли альфа-спиральности говорит об изменениях во вторичной структуре БСА. Известно, что у БСА имеется два триптофановых остатка, один из них находится на поверхности молекулы, а другой внутри нее. Основными тушителями триптофановой флуоресценции являются молекулы растворителя (воды), а также тирозиновые остатки за счет переноса энергии по диполь-дипольному механизму. Можно предположить, что снижение интенсивности триптофановой флуоресценции может быть следствием увеличения доступности растворителю остатков триптофана и возрастанию вероятности переноса энергии с триптофана на тирозиновые остатки. Таким образом, проведенные оптические исследования указывают на модификацию структуры БСА в среде с содержанием дейтерия 487 ppm.

Потеря нативной структуры у белковых молекул приводит к снижению их функциональных свойств. Так, нарушение вторичной структуры ферментов способствует снижению скорости ферментативных реакций, в которых они участвуют. С другой стороны, модификация белков на фоне действия повреждающих факторов вызывает стрессовую реакцию, в ответ на которую запускается ряд защитных механизмов. Один из таких механизмов реализуется благодаря слаженной работе системы протеостаза [49], направленной на поддержание нативной структуры белка [50]. При

развитии некоторых стрессовых реакций в организме для устранения конформационных ошибок, увеличивается экспрессия белков теплового шока [51, 52]. Поэтому частичная модификация белковых компонентов клетки, вызванная повышением содержания дейтерия в них, может привести к развитию адаптационного потенциала за счет активации синтеза белков теплового шока.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенных исследований можно сделать вывод о том, что у крыс при потреблении воды с повышенным содержанием дейтерия (750 ppm) наблюдается одновременно как снижение интенсивности свободнорадикальных процессов в крови и гепатоцитах, так и нарастание антиоксидантного потенциала в тканях печени, в том числе за счет увеличения содержания низкомолекулярных тиоловых антиоксидантов. Полученные в работе данные указывают на возрастание функциональной активности прооксидантно-антиоксидантного звена системы неспецифической защиты организма на фоне питьевого рациона с пятикратным увеличением дейтерия.

Таким образом, повышение в питьевом рационе млекопитающих содержания дейтерия до 750 ppm, т. е. уровня, аналогичного марсианским ледникам, оказывает биологическое действие на тканевом и молекулярном уровне, активируя антиоксидантную систему млекопитающих. Данное исследование открывает предпосылки для дальнейшего изучения биологических эффектов относительно высоких содержаний дейтерия, соответствующих его содержанию в ледниковых шапках на полюсах Марса (от 700 до 1000 ppm), и понимания особенностей внешней среды при его потенциальной колонизации.

### ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Кубанского научного фонда (проект Н-21.1/11) и Государственного задания ЮНЦ РАН № 122020100351-9.

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все эксперименты на животных проводили в соответствии с национальными и международными руководящими принципами по уходу и гуманному использованию животных.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. G. L. Villanueva, M. J. Mumma, R. E. Novak, et al., *Science*, **348** (6231), 218 (2015).
2. J. J. Barnes, F. M. McCubbin, A. R. Santos, et al., *Nat. Geosci.*, **13**, 260 (2020).
3. A. Basov, L. Fedulova, E. Vasilevskaya, and S. Dzhimak, *Molecules*, **24** (22), 4101 (2019).
4. I. Zlatskiy, T. Pleteneva, A. Skripnikov, et al., *Molecules*, **25** (18), 4173 (2020).
5. М. И. Быков, С. С. Джимаков, А. А. Басов и др., *Вопросы питания*, **84** (4), 89 (2015).
6. В. И. Лобышев и Л. П. Калиниченко, *Изотопные эффекты D<sub>2</sub>O в биологических системах* (Наука, М., 1978).
7. В. И. Лобышев, В. А. Твердислов Л. В. Яковенко и др., *Биофизика*, **2**, 390 (1978).
8. В. И. Лобышев, Ю. Фогель, Л. В. Яковенко и др., *Биофизика*, **4**, 595 (1982).
9. В. И. Лобышев, *Биофизика*, **4**, 666 (1983).
10. V. I. Lobyshev, *Int. J. High Dilution Res.*, **17** (2), 12 (2018).
11. X. Zhang, J. Wang, and R. A. Zubarev, *Mol. Cell. Proteomics*, **19** (11), 1790 (2020).
12. A. Basov, L. Fedulova, M. Baryshev, and S. Dzhimak, *Nutrients*, **11** (8), 1903 (2019).
13. S. V. Kozin, E. I. Zlischeva, L. V. Shurygina, et al., *Biophysics*, **65** (6), 1017 (2020).
14. S. Hou, P. Chen, J. He, et al., *Redox Biol.*, **57** (11), 102472 (2022).
15. A. Basov, M. Drobotenko, A. Svidlov, et al., *Molecules*, **25** (16), 3753 (2020).
16. A. Syroeshkin, T. Pleteneva, E. Uspenskaya, et al., *Chem. Engineer. J.*, **377**, 1 (2019).
17. R. Rehakova, J. Klimentova, M. Cebova, et al., *Physiol. Res.*, **65** (3), 401 (2016).
18. A. A. Svidlov, M. I. Drobotenko, A. A. Basov, et al., *Physics of Wave Phenomena*, **29** (2), 180 (2021).
19. A. V. Syroeshkin, N. V. Antipova, A. V. Zlatska, et al., *J. Trace Elements Med. Biol.*, **50**, 629 (2018).
20. N. V. Lobysheva, S. V. Nesterov, Y. A. Skorobogatova, et al., *Biophysics*, **65** (2), 272 (2020).
21. A. B. Lisicin, M. G. Barishev, A. A. Basov, et al., *Biophysics*, **59** (4), 620 (2014).
22. K. Yavari and L. Kooshesh, *Nutrition and Cancer*, **71** (6), 1019 (2019).
23. A. Kravtsov, S. Kozin, A. Basov, et al., *Molecules*, **27** (1), 243 (2022).
24. S. Kozin, A. Kravtsov, M. Baryshev, et al., *Molecules*, **26** (7), 2036 (2021).
25. M. G. Baryshev, A. A. Basov, S. N. Bolotin, et al., *Bull. Russ. Acad. Sci.: Physics*, **76** (12), 1349 (2012).
26. N. V. Yaglova, S. S. Obernikhin, E. P. Timokhina, et al., *Bull. Exp. Biol. Med.*, **171** (2), 262 (2021).
27. X. Xie and R. A. Zubarev, *Sci. Rep.*, **5** (9215), 1 (2015).
28. S. S. Dzhimak, M. G. Barishev, A. A. Basov, et al., *Biophysics*, **59** (4), 614 (2014).
29. T. Halenova, I. Zlatskiy, A. Syroeshkin, et al., *Molecules*, **25** (1), 23 (2020).
30. N. V. Yaglova, S. S. Obernikhin, E. P. Timokhina, et al., *Bull. Exp. Biol. Med.*, **171** (5), 572 (2021).
31. А. А. Басов, М. И. Быков, М. Г. Барышев и др., *Вопросы питания*, **83** (5), 43 (2014).

32. G. Pizzino, N. Irrera, M. Cucinotta, et al., *Oxid Med. Cell. Longev.*, **2017**, (2017).
33. M. S. Shchepinov, *Rejuvenation Res.*, **10** (1), 47 (2007).
34. I. M. Vykov, A. A. Basov, V. V. Malyshko, et al., *Bull. Exp. Biol. Med.*, **163** (2), 268 (2017).
35. *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals: Eighth Edition* (The National Academies Press, Washington, DC, 2011).
36. С. В. Козин, А. А. Кравцов, С. В. Кравченко и др., *Вопросы питания*, **90** (2), 63 (2021).
37. S. S. Dzhimak, A. A. Basov, G. F. Kopytov, et al., *Rus. Phys. J.*, **58** (7), 923 (2015).
38. М. М. Туйгунов, Р. Р. Фархутдинов и Ю. А. Медведев, *Мед. иммунология*, **8** (2–3), 427 (2006).
39. S. V. Kozin, A. A. Kravtsov, A. A. Elkina, et al., *Biophysics*, **64** (2), 272 (2019).
40. I. R. Ilyasov, V. L. Beloborodov, I. A. Selivanova, et al., *Int. J. Mol. Sci.*, **21** (3), 1131 (2020).
41. A. A. Basov, A. A. Elkina, S. S. Dzhimak, et al., *Biol. Bull.*, **46** (6), 531 (2019).
42. L. V. Shurygina, A. A. Kravtsov, E. I. Zlishcheva, et al., *Neurochem. J.*, **11** (3), 250 (2017).
43. А. М. Поляничко, Н. В. Михайлов, Н. М. Романов и др., *Цитология*, **58** (9), 707 (2016).
44. О. В. Степаненко, И. М. Кузнецова, К. К. Туровров и др., *Цитология*, **47** (11), 988 (2005).
45. M. L. F. Estep and T. C. Hoering, *Carnegie Institution of Washington*, **78**, 652 (1979).
46. S. S. Dzhimak, M. I. Drobotenko, A. A. Basov, et al., *Dokl. Biochem. Biophys.*, **483**, 359 (2018).
47. S. V. Kozin, A. A. Kravtsov, A. V. Churkina et al., *Biophysics*, **65** (2), 195 (2020).
48. T. L. Rosenberry, *Molecules*, **25** (19), 4412 (2020).
49. N. Frankowska, K. Lisowska, J. M. Witkowski, *Front Aging*, 927630 (2022).
50. E. Amzallag, E. Hornstein, *Cells*, **11** (15), 2415 (2022).
51. C. Hu, J. Yang, Z. Qi, et al., *MedComm.*, **2** (3), 381 (2020).
52. H. Saibil, *Nature Rev. Mol. Cell Biol.*, **14** (10), 630 (2013).

## A Shift of the Prooxidant-Antioxidant Balance in the Bodies of Laboratory Animals at Five-Fold Increased Deuterium Content in Drinking Diet

S.V. Kozin\*, \*\*, O.M. Lyasota\*, \*\*, A.A. Kravtsov\*, \*\*, E.V. Chikhirzhina\*\*\*, V.A. Ivlev\*\*\*\*, K.A. Popov\*, \*\*\*\*, A.A. Dorohova\*, \*\*, V.V. Malyshko\*, \*\*\*\*\*, A.V. Moiseev\*\*\*\*\*, A.V. Drozdov\*\*\*\*\*, and S.S. Dzhimak\*, \*\*

\*Federal Research Centre "Southern Scientific Centre", Russian Academy of Sciences, prosp. Chekhova 41, Rostov-on-Don, 344006 Russia

\*\*Kuban State University, Stavropolskaya ul. 149, Krasnodar, 350040 Russia

\*\*\*Institute of Cytology, Russian Academy of Sciences, Tikhoretsky prosp. 4, St. Petersburg, 194064 Russia

\*\*\*\*Peoples' Friendship University of Russia, ul. Miklouho-Maclay 6, Moscow, 117198 Russia

\*\*\*\*\*Kuban State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, ul. imeni Mitrofana Sedina 4, Krasnodar, 350063 Russia

\*\*\*\*\*Kuban State Agrarian University, ul. Kalinina 13, Krasnodar, 350004 Russia

\*\*\*\*\*Institute of Analytical Instrumentation, Russian Academy of Sciences, ul. Ivana Chernykh 31-33a, St. Petersburg, 198095 Russia

This paper presents the results of the study of the effect of water with deuterium content of 750 ppm, used for simulation of the isotopic composition of water in ice caps at the poles of Mars, on oxidative processes in the liver tissue and blood of laboratory animals. It was found that prolonged consumption of deuterium-enriched water contributed to an increase in the deuterium content in blood plasma up to 487 ppm. As a result, increased antioxidant activity in the liver tissues and blood plasma was observed. In addition, the effect of a medium that contains 487 ppm of deuterium on the secondary structure of bovine serum albumin was also investigated in a model experiment. A decrease in intensity of circular dichroism and intrinsic tryptophan fluorescence spectra was found. This indicates that there are conformational changes in the structure of this protein at a time when the content of deuterium increases in the incubation medium. The results of our research point to the need to explore further the effect of drinking diet with the increased deuterium to (from 700 to 1000 ppm) on living systems, to explain the possibility for life on Mars.

*Keywords: antioxidant activity, deuterium, Mars, laboratory animals, bovine serum albumin*