

ВЛИЯНИЕ ОБЕДНЕННОГО ДЕЙТЕРИЕМ ПИТЬЕВОГО РАЦИОНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ ЖИВОТНЫХ В УСЛОВИИ ГИПОКСИИ

© 2020 г. С.В. Козин*, **, А.А. Кравцов**, Э.И. Злищева*, Л.В. Шурыгина*, В.В. Малышко**, ***, А.В. Моисеев****, А.А. Елкина*, **, М.Г. Барышев**

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

E-mail: kozinsv85@mail.ru

**Южный научный центр РАН, 344006, Ростов-на-Дону, просп. Чехова, 41

E-mail: aakravitsov@mail.ru

***Кубанский государственный медицинский университет Минздрава России, 350063, Краснодар, ул. Седина, 4

E-mail: intro-2@rambler.ru

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

E-mail: moiseew_a@rambler.ru

Поступила в редакцию 30.01.2020 г.

После доработки 30.01.2020 г.

Принята к публикации 07.08.2020 г.

Исследовано влияние длительного (в течение 42 суток) введения в рацион крыс обедненной по дейтерию воды на функциональное состояние центральной нервной системы в условиях нормы и нормобарической гипоксии с гиперкапнией. Установлено также, что применение обедненной по дейтерию воды как в условиях нормы, так и до стрессового воздействия способствует значительному снижению эмоциональной тревожности животных. Длительное применение обедненной по дейтерию воды до гипоксического воздействия (воздействие амнезирующего фактора) способствует сохранению обучаемости и памяти на уровне контроля, т.е. оказывает выраженный протективный антиамнестический эффект. В норме обедненной по дейтерию воды влияния на обучаемость животных не оказывает.

Ключевые слова: обедненная по дейтерию вода, крысы, гипоксия, анксиолитический эффект, антиамнестический эффект.

DOI: 10.31857/S0006302920060198

Как известно, одним из ведущих факторов гибели нервных клеток при тяжелом гипоксическом воздействии является развитие окислительного стресса, который характеризуется повышенным образованием свободных радикалов и снижением активности антиоксидантной системы [1–3]. Индукция активных форм кислорода и дальнейшая активация свободнорадикального окисления становится причиной повреждения биомакромолекул — нуклеиновых кислот, белковых молекул и полисахаридов, а также нарушения межклеточных и внутриклеточных сигнальных процессов [4–9]. Даже непродолжительные периоды ишемии или тяжелой гипоксии могут приводить к повреждениям областей мозга с сопутствующим неврологическим дефицитом и поведенче-

ской дисфункцией. В настоящее время установлено, что окислительный стресс играет важнейшую роль в нейродегенеративных процессах, наблюдающихся при инсультах и инфарктах мозга, черепно-мозговых травмах, а также ряде нейродегенеративных заболеваний [10–16]. Иначе говоря, вызывая каскад необратимых метаболических изменений в мозговых структурах, гипоксия нарушает целый ряд процессов, что проявляется в том числе, в нарушении функционального состояния центральной нервной системы (ЦНС) [17, 18].

Повреждение и гибель нейронов при ишемии — многофакторный процесс, включающий множество взаимозависимых звеньев, таких как дефицит кислорода (гипоксия), энергетический дефицит, деполяризация мембраны, нарушение ионного гомеостаза, гиперактивация рецепторов возбуждающих аминокислот, поступление кальция в нейрон,

Сокращения: ЦНС — центральная нервная система, ОДВ — обедненная по дейтерию вода, ПКЛ — тест «приподнятый крестообразный лабиринт».

избыточное образование активных форм кислорода, тканевой ацидоз [19, 20]. В качестве механизмов формирования антигипоксического эффекта фармакологическими средствами рассматривается возможность их влияния на метаболические процессы и функциональное состояние ЦНС.

В этой связи разработка и исследование возможностей применения новых фармакологических средств, препятствующих чрезмерному накоплению радикалов и поддерживающих собственную антиоксидантную систему организма, является весьма актуальным. Несомненный интерес для изучения представляют средства с антиоксидантным действием, поскольку они позволяют обеспечить защиту нейронов от действия универсальных повреждающих факторов, лежащих в основе большинства нейродегенеративных заболеваний [21, 22].

В связи с этим в качестве одного из возможных механизмов коррекции метаболических и функциональных нарушений ЦНС рассматривается применение воды с модифицированным изотопным составом — обедненной дейтерием.

К настоящему времени установлено, что введение в рацион животных обедненной по дейтерию воды (ОДВ) приводит к снижению концентрации дейтерия в плазме крови и тканях различных органов, в том числе головного мозга [23–27]. При этом изменение баланса дейтерия из-за замещения дейтерия на протий может оказывать влияние на многие биологические процессы [28]. Как показали исследования, уменьшение концентрации дейтерия в организме повышает активность антиоксидантных и антитоксических систем [29, 30] и оказывает влияние на функциональное состояние ЦНС. Так, потребление ОДВ положительно влияет на стрессоустойчивость и уровень тревожности лабораторных животных при действии продолжительного стресс-фактора, уменьшает тревожность в незнакомой окружающей среде [31], способствует улучшению долговременной памяти, стимулирует исследовательское поведение [32, 33].

В этой связи представлялось целесообразным изучить в эксперименте влияние ОДВ на окислительные процессы в головном мозге и функциональное состояние ЦНС в условиях гипоксии.

Целью данной работы являлось исследование влияния применения ОДВ на уровень тревожности и обучение крыс в условиях нормоксии и острой гиперкапнической гипоксии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали ОДВ (50 ppm), произведенную на установке, разработанной в Кубанском государственном университете [34, 35]. Физиологически полноценную воду с концентраци-

ей дейтерия 50 ppm получали путем добавления в нее минеральных солей (в мг/л: общая минерализация — 314–382, гидрокарбонаты — 144–180, сульфаты <1, хлориды — 60–76, кальций — 6, магний — 3, натрий — 50–58, калий — 50–58). В качестве стандартизированной питьевой воды с природной концентрацией дейтерия (150 ppm) использовали дистиллированную воду с аналогичной минерализацией. Животных содержали в виварии при естественном освещении, свободном доступе к пище и воде.

Эксперимент выполнен на 28 крысах-самках линии Wistar в возрасте два с половиной месяца (массой от 240 до 270 г). Влияние ОДВ на функциональное состояние ЦНС определяли в условиях нормоксии (без воздействия гипоксии) и через одни сутки после гипоксического воздействия.

Острую гипоксию с гиперкапнией моделировали у крыс, помещая их в герметичные сосуды емкостью 1 л. Животные находились в таких условиях до появления первого агонального вздоха. После этого крыс извлекали и помещали в стандартные клетки [36].

Эксперименты проводили в первой половине светового дня. Животные были разделены на четыре группы по семь животных в каждой:

- группа 1 (контроль) — интактные крысы, получавшие в рационе воду с концентрацией дейтерия, равной естественной (150 ppm), в течение шести недель, без гипоксического воздействия;

- группа 2 — крысы, получавшие в рационе ОДВ (50 ppm) в течение шести недель, без гипоксического воздействия;

- группа 3 — крысы, получавшие в рационе воду с концентрацией дейтерия, равной естественной (150 ppm), в течение шести недель, на 43 сутки эксперимента подвергнутые острой гипоксии;

- группа 4 — крысы, получавшие в рационе ОДВ (50 ppm) в течение шести недель, на 43 сутки эксперимента подвергнутые острой гипоксии.

Функциональное состояние ЦНС животных исследовали в тестах «приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) и «Т-образный лабиринт» [37, 38]. В тесте ПКЛ оценивали состояние тревожности экспериментальных животных. Приподнятый крестообразный лабиринт с рукавами длиной 90 см имел два открытых и два закрытых рукава, высота стенок 15 см. Учитывали число заходов в закрытые и открытые рукава лабиринта, стойки, свешивания с открытых рукавов, груминг, а также время пребывания в закрытых и открытых рукавах и в центре лабиринта. Все показатели регистрировали в течение пяти минут наблюдения. Оценку тревожного статуса крыс проводили в тесте ПКЛ. Выработку условного рефлекса с положительным подкреплением оценивали в тесте с Т-образным лабиринтом и с положительным пищевым подкреплением. Как из-

вестно, потребление пищи и воды — наиболее тщательно изученные формы поведения, в связи с этим они служат основной моделью мотивированного поведения [37].

Результаты воздействия длительного приема ОДВ на выработку условного рефлекса с положительным пищевым подкреплением у крыс после воздействия гипоксии оценивали в сравнении с крысами, не подвергавшимися гипоксическому воздействию. Контролем служила группа интактных крыс, принимавших стандартизованную питьевую воду. После приучения животных к лабиринту вырабатывали навык чередования право- и левосторонних побегов на положительном подкреплении. Пищевое подкрепление (хлебные шарики) оставляли поочередно в кормушках правого и левого рукава. Для повышения мотивации обучение проводили на фоне пищевой депривации. Крыс, подвергавшихся 48-часовой пищевой депривации, помещали в стартовый отсек Т-образного лабиринта, в одном из рукавов которого располагалась кормушка с пищей. Через 30 с после посадки крыс открывали дверцу стартового отсека. Щелчок открывания дверцы служил условным раздражителем. Учитывали следующие показатели: процент правильных побегов, время выполнения условно-рефлекторной реакции (время между выходом из стартовой камеры и взятием пищи либо время выполнения неправильной побегки). В течение четырех суток обучения для выработки навыка двустороннего чередования право- и левосторонних побегов каждое животное совершало по 20 побегов. Затем через двое суток проверяли сохранение памятного следа. Данные побегов усредняли за каждый день.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета программ STATISTICA 10: для проверки гипотезы равенства медиан при множественном сравнении нескольких независимых выборок использовали *H*-критерий Краскела—Уоллиса; для оценки достоверности различий количественных параметров между двумя независимыми малыми выборками применяли непараметрический *U*-критерий Манна—Уитни; для проверки различий между двумя малыми выборками с парными измерениями применяли *W*-критерий Уилкоксона. Достоверными считали различия между выборками при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты изучения влияния воды с модифицированным (D/H) изотопным составом (50 ppm) на тревожность крыс в нормальных условиях и после воздействия гипоксии с гиперкапнией в тесте ПКЛ показали, что через сутки после гипоксии (рис. 1) у крыс, принимавших воду с природным содержанием дейтерия (группа 3), на-

блюдался более высокий в сравнении с животными в группе 1 (контроль) уровень тревоги, что проявлялось в снижении числа заходов в закрытые рукава на 37.5%, снижении числа стоек на 46.7%, отсутствии свешиваний с открытых рукавов лабиринта. Животные группы 3 меньше времени (на 66.7%) находились в центре и более длительный период времени в закрытых рукавах. В открытые рукава они не заходили, а контрольные животные (группа 1) провели в них менее 2% времени (4 с).

У крыс группы 4 (50 ppm, гипоксия) отмечалась значительно менее выраженная тревожность в сравнении с группой 3 (150 ppm, гипоксия). Так, крысы, получавшие ОДВ и подвергшиеся гипоксии, больше времени находились в центре и меньше — в закрытых рукавах ($p < 0.05$). У этих животных отмечалась более высокая исследовательская активность (число стоек было выше на 41.2%), более низкая частота груминга (на 73.3%), наблюдались свешивания. В открытые рукава они не заходили, как и крысы группы 3.

У животных группы 2 (50 ppm) практически по всем показателям уровень тревоги был достоверно ниже, чем у контрольных животных.

Таким образом, анализ поведенческих реакций через сутки после воздействия гипоксии с гиперкапнией в тесте ПКЛ показывает, что у крыс, принимавших воду с природным содержанием дейтерия и подвергшихся гипоксическому воздействию, отмечается высокий уровень тревожности. Длительное (в течение 42 суток) применение ОДВ как в условиях нормы, так до гипоксии способствует значительному снижению эмоциональной тревожности животных.

Исследование влияния воды с пониженным содержанием дейтерия (50 ppm) на выработку условного рефлекса с положительным подкреплением у крыс в условиях нормы и гипоксии с гиперкапнией в Т-образном лабиринте (рис. 2) показало, что ОДВ в норме не оказывает влияния на обучаемость животных. Число правильных побегов в группе 2 (50 ppm) во все дни обучения практически не отличалось от таковых в контроле. Достоверно ниже (на 23%), чем в контроле, в первый день обучения было число правильных побегов у животных группы 3 (150 ppm, гипоксия). На второй день обучения процент правильных побегов в этой группе хотя и повысился до 57%, однако был ниже, чем в контроле (68%). Тенденция к повышению обучаемости крыс в группе 3 (150 ppm, гипоксия) отмечалась и в последующие дни. На четвертый день обучения процент правильных побегов практически не отличался от контроля, в то время как в группе 4 (50 ppm, гипоксия) число правильных побегов во все дни исследования находилось на уровне контроля (группа 1), при этом

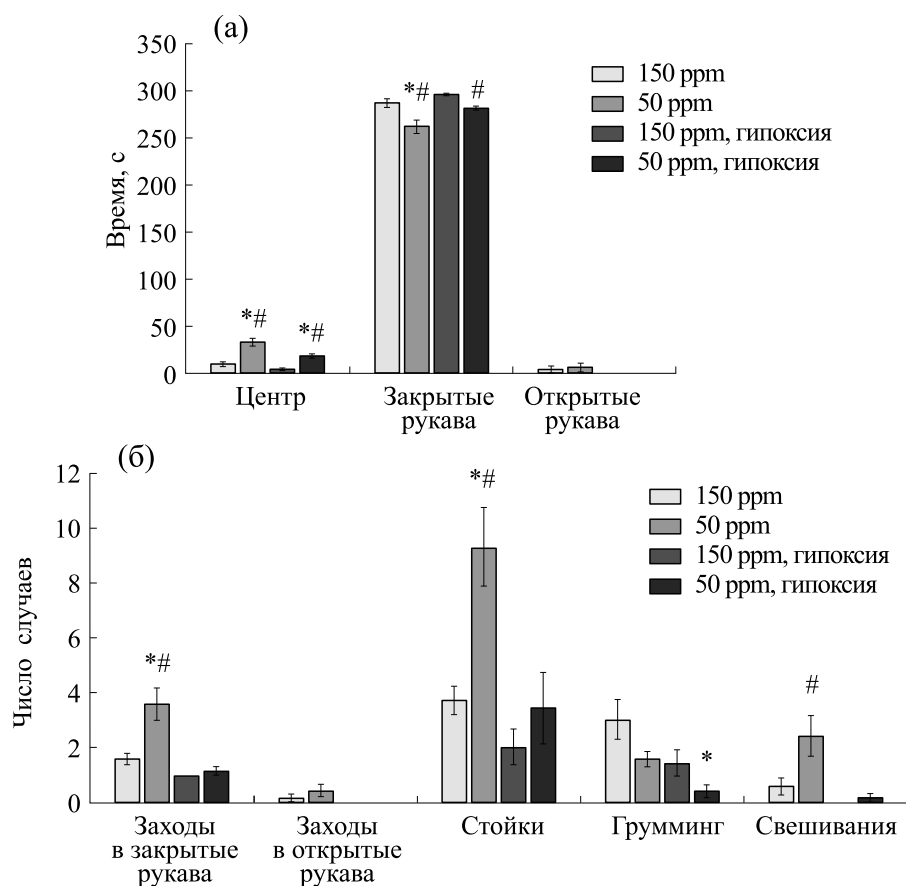


Рис. 1. Влияние воды с пониженным содержанием дейтерия на тревожность крыс в нормальных условиях и через сутки после гипоксии в тесте ПКЛ. (а) — Время нахождения в центре, закрытых и открытых рукавах. (б) — Число заходов в закрытые и открытые рукава, стойки, свешиваний, случаев груминга. Данные представлены $M \pm m$; * — $p < 0.05$, по сравнению с группой 1 (контроль), # — $p < 0.05$ в сравнении с группой 3 (150 ppm, гипоксия).

в первый день оно достоверно превышало таковое в группе 3.

Кроме того, в группе 3 (150 ppm, гипоксия) (рис. 3) наблюдались выраженные отличия и во времени выполнения условно-рефлекторной реакции. Так, несмотря на то, что в первый день обучения у всех животных время выполнения условно-рефлекторной реакции было самым длительным, в группе 3 (150 ppm, гипоксия), оно достоверно превышало (на 66.7%) таковое в контрольной группе и на 52.7% в группе крыс, получавших воду с содержанием дейтерия 50 ppm и подвергнутых гипоксии (группа 4). Хотя время выполнения условно-рефлекторной реакции с каждым днем постепенно сокращалось во всех группах, тем не менее в группе 3 с первого по третий день обучения оно было более длительным, чем в контроле, и достоверно более продолжительным, чем в группе 4. И только на четвертый день обучения время выполнения условно-рефлекторной реакции во всех группах практически не стало отличаться от контроля (группа 1).

Через двое суток после окончания обучения у всех животных сохранились навыки условно-рефлекторной реакции двустороннего чередования право- и левосторонних побегов, при этом существенных отличий между группами не было. Не было отличий и во времени выполнения условно-рефлекторной реакции.

Таким образом, установлено, что длительное применение ОДВ в норме не оказывает влияния на обучаемость животных, в то время как применение ее до гипоксического воздействия (воздействие амнезирующего фактора) способствует сохранению обучаемости и памяти на уровне контроля, т.е. оказывает выраженный протективный антиамнестический эффект.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Как указывалось выше, индукция активных форм кислорода и дальнейшая активация свободнорадикального окисления при ишемии/гипоксии становится причиной повреждения биомолекул — нуклеиновых кислот, белковых молекул и

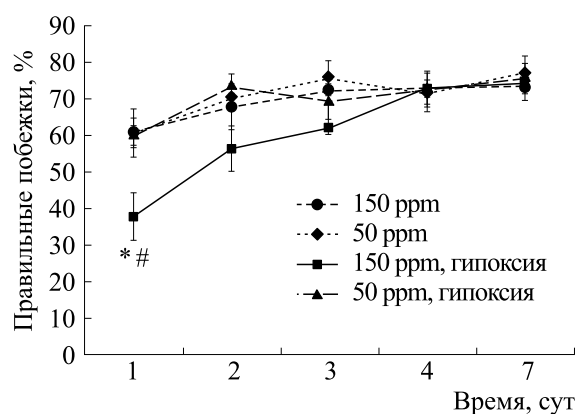


Рис. 2. Влияние воды с пониженным содержанием дейтерия (50 ppm) в норме и при воздействии гипоксии на % правильных побегов в тесте с Т-образным лабиринтом. Данные представлены в виде $M \pm m$; * — $p < 0.05$ при сравнении с группой «150 ppm», # — $p < 0.05$ — при сравнении с группой «150 ppm, гипоксия».

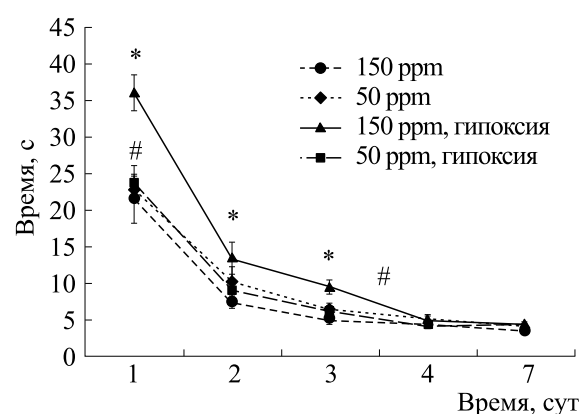


Рис. 3. Влияние воды с пониженным содержанием дейтерия (50 ppm) на время выполнения условно-рефлекторной реакции в тесте с Т-образным лабиринтом. Данные представлены в виде $M \pm m$; * — $p < 0.05$ при сравнении с группой «контроль», # — $p < 0.05$ для группы «50 ppm, гипоксия» в сравнении с группой «150 ppm, гипоксия».

полисахаридов, а также изменения интегративных межклеточных и внутриклеточных сигнальных процессов [4, 7]. При этом даже непродолжительные периоды ишемии или тяжелой гипоксии могут приводить к повреждениям областей мозга с сопутствующим неврологическим дефицитом и поведенческой дисфункцией, т.е., вызывая каскад необратимых метаболических изменений в мозговых структурах, гипоксия нарушает целый ряд процессов, в том числе и поведенческих [18]. Перспективными в фармакотерапии ишемии мозга считаются препараты с антиоксидантными свойствами [4]. Как показали результаты исследования, в головном мозге крыс при стрессовом воздействии отмечается усиление окислительных процессов. Введение в рацион крыс воды с модифицированным (D/H) изотопным составом до гипоксического воздействия препятствует развитию окислительных процессов в головном мозге. Все изучаемые показатели — уровень СРО, содержание МДА и активность каталазы — остаются на уровне контроля.

Известно также, что гипоксия вызывает значительные нарушения поведенческих реакций животных: оказывает амнестический эффект, повышает эмоциональную тревожность, снижает ориентировочно-исследовательскую активность [36, 39]. Результаты исследования поведенческих реакций в тестах ПКЛ и «Т-образный лабиринт» показали, что длительное применение ОДВ до гипоксического воздействия вызывает снижение эмоциональной тревожности у крыс, положительно влияет на ориентировочно-исследовательскую деятельность, способствует сохранению обучаемости и памяти на уровне контроля, т. е.

оказывает выраженный анксиолитический и протективный антиамнестический эффект.

Ранее установлено, что длительное потребление ОДВ вызывает снижение соотношения D/H в тканях головного мозга крыс и стимулирует его антиоксидантный потенциал [40]. Известно также, что окислительный стресс нарушает когнитивные функции ЦНС [41]. Полагаем, что обнаруженные нами анксиолитический и антиамнестический эффекты потребления ОДВ во многом определяются замещением дейтерия на протий в тканях головного мозга крыс и влиянием этого замещения на антиокислительные системы головного мозга, что приводит к повышению резистентности к развитию окислительного стресса.

Полагаем, что влияние потребления ОДВ на метаболические процессы может быть обусловлено изотопным замещением (D/H) в активных и аллостерических центрах ферментов, а также замещением молекул HDO на H₂O в гидратной оболочке белков и нуклеиновых кислот [42]. Избирательные изменения в активных и аллостерических центрах ферментов, связанные с обменом изотопов водорода в составе легкодиссоциирующих групп (гидроксильных (—OH), тиоловых (—SH), первичных и вторичных аминогрупп (—NH₂, =NH)), увеличивающие содержание протия, могут изменять скорость каталитических процессов за счет снижения энергии активации переходных состояний молекулы в ходе осуществления реакций биокатализа [42].

Кроме того, изменение изотопного D/H-состава тканей и биологических жидкостей может способствовать изменению функционального состояния организма, связанного с развитием общих неспецифических адаптационных реакций,

которые развиваются в ответ на действие любого эндогенного или экзогенного фактора [43]. Этот эффект также может быть одним из механизмов, обеспечивающих анксиолитическое и антиамнестическое действие ОДВ при длительном ее потреблении.

Полученные нами данные свидетельствуют о перспективности применения ОДВ в качестве антиамнестического и анксиолитического фармакологического средства и необходимости проведения дальнейших исследований механизмов ее действия.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 19-44-233005) и Государственного задания ЮНЦ РАН (№ АААА-А19-119040390083-6).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Опыты с животными проводили с соблюдением принципов гуманности и в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приказ Минздрава РФ № 708н «Об утверждении правил лабораторной практики» от 23.08.2010 г.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. S. C. Bondy and C. P. LeBel, *Free Radic. Biol. Med.* **14**, 633 (1993).
2. Ю. А. Зозуля, В. А. Барабой и Д. А. Сутковой, *Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита при патологии головного мозга* (Знание, М., 2000).
3. A. Peresypkina, A. Dolzhikov, V. Gubareva, et al., *Research Results in Pharmacology* **3** (1), 18 (2017).
4. M. Zhao, P. Zhu, M. Fujino, et al., *Int. J. Mol. Sci.* **17** (12), E2078 (2016).
5. L. V. Fedulova, A. A. Basov, E. R. Vasilevskaya, et al., *Curr. Pharmaceut. Biotechnol.* **20** (3), 245 (2019).
6. L. V. Fedulova, E. R. Vasilevskaya, E. A. Kotenkova, et al., *J. Pharm. Nutrition Sci.* **7** (2), 35 (2017).
7. G. G. Ortiz, F. P. Pacheco Moisés, M. Mireles-Ramírez, et al., *Adv. Prot. Chem. Struct. Biol.* **108**, 1 (2017).
8. I. Fidianingsih, T. Nurmasitoh, A. D. Ashari, et al., *J. Pharm. Nutrition Sci.* **8** (1), 6 (2018).
9. N. V. Yaglova, S. S. Obernikhin, D. A. Tsomartova, et al., *Bull. Exp. Biol. Med.* **165** (4), 508 (2018).
10. F. M. Longo and S. M. Massa, *NeuroRx*. **1** (1), 117 (2004).
11. B. Thomas, and M. F. Beal, *Human Mol. Genetics* **16** (2), 183 (2007).
12. М. С. Попова и М. Ю. Степаничев, *Нейрохимия* **25** (3), 170 (2008).
13. H. L. Martin and Teismann P. *FASEB J.* **23** (10), 3263 (2009).
14. Y. Zhao and B. Zhao, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, Article ID 316523 (2013).
15. K. Ohl, K. Tenbrock, and M. Kipp, *Exp. Neurol.* **277**, 58 (2016).
16. H. Yoo, F. Bamdad, N. Gujral, et al., *Curr. Pharmaceut. Biotechnol.* **18** (2), 158 (2017).
17. И. Н. Тюренков, М. Н. Багметов и В. В. Епишина, *Экспериментальная и клиническая фармакология* **70** (2), 24 (2007).
18. C. A. Netto, E. Sanches, F. K. Odorcyk, et al., *J. Neurosci. Res.* **95** (1–2), 409 (2017).
19. Н. К. Исаев, Н. А. Андреева, Е. В. Стельмашук и др., *Биохимия* **70** (6), 741 (2005).
20. Н. К. Исаев, Е. В. Стельмашук, Е. Ю. Плотников и др., *Биохимия* **73** (11), 1461 (2008).
21. И. А. Трегубова, В. А. Косолапов и А. А. Спасов, *Успехи физиол. наук* **43** (1), 75 (2012).
22. И. Н. Тюренков, Е. В. Волотова, Д. В. Куркин и др. *Бюл. эксперим. биологии и медицины* **159** (3), 344 (2015).
23. M. I. Bykov, S. S. Dzhimak, A. A. Basov, et al., *Voprosy Pitaniia* **84** (4), 89 (2015).
24. V. I. Lobyshev, *Int. J. High Dilution Res.* **17** (2), 12 (2018).
25. A. V. Kosenkov, M. V. Gulyaev, V. I. Lobyshev, et al., *Biophysics* **63** (5), 820 (2018).
26. A. I. Shikhliarova, G. V. Zhukova, O. I. Kit, et al., *Medical News of the North Caucasus* **13** (1), 85 (2018).
27. A. Basov, L. Fedulova, E. Vasilevskaya, et al., *Molecules* **24** (22), 4101 (2019).
28. A. V. Syroeshkin, N. V. Antipova, A. V. Zlatska, et al., *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* **50**, 629 (2018).
29. I. M. Chernukha, L. V. Fedulova, E. A. Kotenkova, et al., *Voprosy Pitaniia* **85** (5), 36 (2016).
30. A. A. Basov, A. A. Elkina, A. A. Samkov, et al., *Iranian Biomed. J.* **23** (2), 129 (2019).
31. С. В. Козин, А. А. Кравцов, А. А. Елкина, и др., *Биофизика* **64** (2), 362 (2019).
32. C. Mladin, A. Ciobica, R. Lefter, et al., *Arch. Biol. Sci.* **66** (2), 947 (2014).
33. C. Mladin, A. Ciobica, R. Lefter, et al., *Neuroscience Letters* **583**, 154 (2014).
34. М. Г. Барышев, С. Н. Болотин, В. Ю. Фролов и др., *Экологич. вестн. научных центров Черноморского экономич. сотрудничества* **1**, 13 (2013).
35. I. S. Petriev, V. Y. Frolov, S. N. Bolotin, et al., *Rus. Phys. J.* **6** (9), 1611 (2018).

36. В. Е. Новиков, В. В. Дикманов и В. В. Марышева, Эксперим. клинич. фармакология **75** (9), 7 (2012).
37. Я. Буреш, О. Бурешова и Д. П. Хьюстон, *Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения* (Высш. школа, М., 1991).
38. Р. У. Хабриев, *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых физиологических веществ* (Медицина, М., 2005).
39. Т. А. Sapozhnikova, S. S. Borisevich, D. R. Kireeva, et al., *Behav. Brain Res.* **373**, 112109 (2019).
40. A. Kravtsov, S. V. Kozin, E. R. Vasilevskaya, et al., *J. Pharm. Nutrition Sci.* **8** (2), 42 (2018).
41. W. Li, S. Yang, F.-Y. Yu, et al., *Brain Res. Bull.* **143**, 225 (2018).
42. A. Basov, L. Fedulova, M. Baryshev, et al., *Nutrients* **11** (8), 1903 (2019).
43. G. V. Zhukova, A. I. Shikhliarova, A. V. Soldatov, et al., *Biophysics* **61** (2), 303 (2016).

Influence of Deuterium Depleted Drinking Diet on the Functional State of the Central Nervous System of Animals in Hypoxia

S.V. Kozin^{*, **}, A.A. Kravtsov^{**}, E.I. Zlischeva^{*}, L.V. Shurygina^{*}, V.V. Malyshko^{**, ***},
A.V. Moiseev^{****}, A.A. Elkina^{*, **}, and M.G. Baryshev^{**}

^{*}*Kuban State University, Stavropolskaya ul. 149, Krasnodar, 350040 Russia*

^{**}*Southern Scientific Center, Russian Academy of Sciences, prosp. Chekhova 41, Rostov-on-Don, 344006 Russia*

^{***}*Kuban State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, ul. Sedina 4, Krasnodar, 350063 Russia*

^{****}*Kuban State Agrarian University, ul. Kalinina 13, Krasnodar, 350004 Russia*

The effects of prolonged (42 days) addition of deuterium-depleted water into rat's diet on the functional state of the central nervous system in normal conditions and under conditions of normobaric hypoxia with hypercapnia were studied. It was also established that the use of deuterium-depleted water both in normal conditions and after exposure to oxidative stress contributes to a significant reduction in the emotional anxiety of animals. Prolonged use of deuterium-depleted water before hypoxic exposure (amnesic effect) helps to maintain learning and memory at the control level, i.e. it has a pronounced protective anti-amnesic effect. In normal conditions, deuterium-depleted water does not affect the learning ability of animals.

Keywords: deuterium-depleted water, rats, hypoxia, anxiolytic effect, anti-amnesic effect