

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 577.112.3: 546.47/611.018.54

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2024-21-1-43-52>

Поступила в редакцию 11.11.2022

Received 11.11.2022

В. М. Шейбак, А. Ю. Павлюковец, Е. М. Дорошенко*Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Республика Беларусь***ТРИПТОФАН И ЦИНК: ВЛИЯНИЕ СОВМЕСТНОГО ВВЕДЕНИЯ
НА ГОМЕОСТАЗ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ ПЛАЗМЫ**

Аннотация. Одна из основных гидрофобных аминокислот – триптофан и незаменимый микроэлемент цинк выполняют в организме млекопитающих многочисленные и во многом перекрывающиеся функции. Огромное количество цинксодержащих соединений (белки, ферменты, факторы транскрипции и гормоны) взаимодействуют с метаболитами триптофана. Нами предпринята попытка выявить основные эффекты аминокислоты и микроэлемента на показатели метаболизма аминокислот с целью определения общих механизмов и целесообразности их возможного терапевтического использования.

Нами обнаружено, что при курсовом введении триптофана в дозе 40 мг/кг в плазме крови снижается общее количество АРУЦ и повышается концентрация свободного триптофана. У животных, получавших цинка диаспартат или цинка диаспартат совместно с триптофаном, снижалось общее количество аминокислот и их азотсодержащих метаболитов в плазме крови. Анализ индивидуальных концентраций аминокислот и их азотсодержащих метаболитов показал, что совместное введение триптофана и цинка диаспартата сопровождается статистически значимыми изменениями концентраций большинства изучаемых показателей аминокислотного пула (19 из 35 показателей). Следует отметить однонаправленность изменений содержания свободных аминокислот и их азотсодержащих метаболитов в группах животных, получавших цинка диаспартат или цинка диаспартат совместно с триптофаном (совпадение эффектов составляет 90 %).

Таким образом, проведенные нами исследования показали, что курсовое введение цинка диаспартата в дозе 25 мг/кг массы (в 2 раза превышает среднюю терапевтическую дозу) оказывает выраженный метаболический эффект, характеризующийся изменениями концентраций свободных аминокислот и их азотсодержащих метаболитов в плазме крови. Курсовое введение триптофана в дозе 40 мг/кг массы (1/2 терапевтической дозы) не оказывает существенного влияния на показатели аминокислотного пула плазмы крови. При совместном введении цинка диаспартата и триптофана в указанных дозах выявленные изменения в большей степени можно отнести к эффектам цинка диаспартата.

Ключевые слова: триптофан, цинка диаспартат, свободные аминокислоты и их азотсодержащие производные, плазма крови

Для цитирования: Шейбак, В. М. Триптофан и цинк: влияние совместного введения на гомеостаз свободных аминокислот плазмы / В. М. Шейбак, А. Ю. Павлюковец, Е. М. Дорошенко // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2024. – Т. 21, № 1. – С. 43–52. <https://doi.org/10.29235/1814-6024-2024-21-1-43-52>

Vladimir M. Sheybak, Anastasia Yu. Pavlyukovets, Evgeniy M. Doroshenko*Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus***TRYPTOPHAN AND ZINC: EFFECT OF CO-ADMINISTRATION
ON PLASMA FREE AMINO ACID HOMEOSTASIS**

Abstract. One of the main hydrophobic amino acids – tryptophan and essential trace element zinc perform numerous and largely overlapping functions in the mammalian body. A huge number of zinc-containing compounds – proteins, enzymes, transcription factors, and hormones interact with tryptophan metabolites. We have attempted to identify the main effects of amino acids and trace elements on amino acid metabolism in order to determine the general mechanisms and the feasibility of their possible therapeutic use.

We have found that the course administration of tryptophan at a dose of 40 mg/kg in blood plasma reduces the total amount of ARUC and increases the concentration of free tryptophan. In animals treated with zinc diaspertate or zinc diaspertate together with tryptophan, the total amount of amino acids and their nitrogen-containing metabolites in blood plasma decreases. The analysis of individual concentrations of amino acids and their nitrogen-containing metabolites showed that the co-administration of tryptophan and zinc diaspertate is accompanied by statistically significant changes in the concentrations of most of the studied parameters of the amino acid pool (19 out of 35 parameters). It should be noted that the changes in the content of free amino acids and their nitrogen-containing metabolites are unidirectional in the groups of animals treated with zinc diaspertate or zinc diaspertate together with tryptophan (coincidence of effects is 90 %).

Thus, our studies showed that the course administration of zinc diaspартate at a dose of 25 mg/kg (2 times higher than an average therapeutic dose) has a pronounced metabolic effect, characterized by changes in the concentrations of free amino acids and their nitrogen-containing metabolites in blood plasma. The course administration of tryptophan at a dose of 40 mg/kg of body weight (1/2 of a therapeutic dose) has no significant effect on the parameters of the blood plasma aminogram. With the co-administration of zinc diaspартate and tryptophan in the above doses, the revealed changes can be more attributed to the effects of zinc diaspартate.

Keywords: tryptophan, zinc diaspартate, free amino acids and their nitrogen-containing derivatives, blood plasma

For citation: Sheybak V. M., Pavlyukovets A. Yu., Doroshenko E. M. Tryptophan and zinc: effect of co-administration on plasma free amino acid homeostasis. *Vesti Natsyunal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya medytsynskikh navuk* = *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2024, vol. 21, no. 1, pp. 43–52 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2024-21-1-43-52>

Введение. Одна из основных гидрофобных аминокислот – триптофан и эссенциальный микроэлемент цинк выполняют в организме млекопитающих многочисленные функции. Огромное количество цинксодержащих соединений (белки, ферменты, факторы транскрипции и гормоны) неизбежно взаимодействуют с метаболитами триптофана. Нами предпринята попытка суммировать основные эффекты аминокислоты и микроэлемента (рис. 1) с целью определения общих механизмов действия и целесообразности их возможного терапевтического использования.

Помимо участия в синтезе белков (в молекулах белка содержится в среднем 1–2 % триптофана), триптофан используется главным образом для синтеза биологически активных производных кинуренина и серотонина (мелатонин, никотинамид и производные индола) [1]. В свою очередь, Zn^{2+} – структурный и функциональный компонент огромного количества белков, в том числе всех шести классов ферментов, сигнальных молекул и факторов транскрипции. Подобно Ca^{2+} , катионы цинка участвуют в межбелковых взаимодействиях. Структурные домены, связывающие нуклеиновые кислоты («цинковые пальцы») – неотъемлемый компонент факторов транскрипции. Известно, что цинк-фингерные белки выполняют различные биологические функции в организме человека, участвуя в процессе дифференцировки, метаболизма, транскрипционной регуляции, а также посттранскрипционной модификации, активации и деградации белков.



Рис. 1. Биологические эффекты триптофана и цинка на организм. «+» – стимулирующий эффект; «+/-» – в различных условиях оказывает стимулирующий или подавляющий эффект, «?» – информация отсутствует

Fig. 1. Biological effects of tryptophan and zinc on the body. “+” – stimulating effect; “+/-” – under various conditions, it has a stimulating or inhibitory effect, “?” – no information

Zn^{2+} может модулировать эффективность передачи клеточных сигналов, метаболизм вторичных мессенджеров, активность протеинкиназ и протеинфосфатаз [2]. Цинк-фингерные белки ZFP36 и ZFP36L1 стабилизируют РНК и играют ключевую роль в регуляции пролиферации, дифференцировки и апоптоза. Ингибирование экспрессии ZFP36 и ZFP36L1 в культивируемых кератиноцитах вызывало апоптоз и остановку клеточного цикла в фазе G2/M [3].

Уникальная структура триптофана позволяет этому соединению выполнять широчайший спектр функций и образовывать самые различные по своим физико-химическим свойствам соединения. В кишечнике триптофан повышает экспрессию белков плотных контактов и, следовательно, способствует усилению барьерной функции слизистой оболочки [4]. Показано, что в культуре ткани коры головного мозга добавление кинуренина, основного метаболита кинуренинового пути деградации триптофана, стимулирует пролиферацию клеток [5]. Экспрессия триптофан-катаболизирующего фермента индоламин-2,3-диоксигеназы в макрофагах под воздействием макрофагального колониестимулирующего фактора приводит к подавлению пролиферации Т-лимфоцитов. Ингибирование клеточной пролиферации, индуцированное катаболитами триптофана, избирательно и распространяется только на активированные клетки, тогда как покоящиеся клетки не затрагиваются и впоследствии могут активироваться иными факторами [6].

Введение триптофана, как и некоторых других аминокислот (например, аргинина), повышает уровни пролактина и соматотропного гормона (СТГ) [7]. В этой связи важно отметить, что в клетках гипофиза содержится больше Zn^{2+} , чем в других отделах мозга, и дефицит Zn^{2+} вызывает нарушение секреции СТГ. Кроме того, СТГ содержит сайт связывания Zn^{2+} и при концентрациях Zn^{2+} выше микромолярных. Это способствует образованию димера СТГ, который менее подвержен деградации. Сродство к рецепторам димеризованного СТГ ниже, что может предотвращать ассоциацию СТГ с клеточными рецепторами в головном мозге и усиливать его взаимодействие с периферическими рецепторами [8].

Внутривенное введение триптофана пациентам снижает уровень глюкозы в сыворотке крови, ингибируя всасывание глюкозы в кишечнике и увеличивая чувствительность клеток к инсулину [9]. Логично, что добавки триптофана замедляют прогрессирование сахарного диабета у крыс. Добавки цинка при преддиабете снижают не только уровень глюкозы в крови, но и резистентность к инсулину и подавляют прогрессирование этой патологии [10].

Кинуренин обладает как прооксидантными, так и антиоксидантными свойствами, что потенциально может способствовать генерации или связыванию активных форм кислорода (АФК). Так, образование метаболитов триптофана – хинонов и 3-гидроксиантраниловой кислоты – способствует генерации свободных радикалов [11], тогда как его конечный метаболит мелатонин обладает антиоксидантными свойствами и подавляет окислительный стресс [12]. В свою очередь, Zn^{2+} ингибирует выработку АФК, таких как супероксиданион, перекись водорода (H_2O_2) и гидроксильный радикал ($OH\cdot$), а также активных форм азота, включая пероксинитрит [13]. Антиоксидантный эффект Zn^{2+} может быть опосредован его прямым действием или структурной ролью в антиоксидантных белках. Непосредственная антиоксидантная активность Zn^{2+} обусловлена его связыванием с тиоловыми группами, что защищает их от окисления [14]. Одновременно Zn^{2+} является кофактором супероксиддисмутазы, а также косвенно может влиять на активность других антиоксидантных ферментов. Однако при высоких внутриклеточных концентрациях Zn^{2+} могут проявляться его прооксидантные свойства. Наночастицы ZnO дозозависимо усиливают окислительный стресс в адипоцитах 3T3-L1, увеличивая при этом экспрессию антиоксидантных ферментов [15].

Триптофан относится к классу соединений-иммуномодуляторов. Курсовое введение триптофана значительно повышает фагоцитарную активность, а также уменьшает содержание продуктов свободнорадикального окисления в перитонеальных макрофагах [16]. Введение 5-гидрокси-триптофана стимулирует пролиферацию Т-лимфоцитов, поддерживает активацию натуральных киллеров [17]. Более 100 цинксодержащих белков можно отнести к компонентам иммунной системы. Очевидно, что следствием дефицита Zn^{2+} является атрофия тимуса, лимфопения, нарушение функциональной активности фагоцитов (снижение их внутриклеточной киллерной активности)

и продукция цитокинов макрофагами, снижение пролиферативной активности Т- и В-лимфоцитов и секреции антител [18].

Дисбаланс в синтезе метаболитов триптофана приводит к нарушениям ЦНС, которые проявляются неврологическими и психическими расстройствами. В частности, у лиц, страдающих депрессией, отмечали низкий уровень триптофана в плазме крови [19]. Серотонин является основным нейротрансмиттером, участвующим в контроле многочисленных функций ЦНС, включая настроение, агрессию, боль, тревогу, сон, память, пищевое поведение, аддиктивное поведение и терморегуляцию, и его синтез зависит от обеспеченности триптофаном. Zn^{2+} модулирует эффекты серотонина на уровне рецепторов посредством специфических Zn^{2+} -зависимых взаимодействий, сопряженных с G-белками [20].

Показано, что метаболит триптофана кинуренин является вазоактивным метаболитом, активируя ГМФ-зависимую дилатацию гладкомышечных клеток [21]. В свою очередь, Zn^{2+} необходим для димеризации эндотелиальной синтазы оксида азота, ее стимуляции и последующего образования NO, что дополнительно способствует быстрой мобилизации эндотелиальных пулов Zn^{2+} . NO регулирует степень сокращения гладкомышечных клеток сосудов также путем стимуляции растворимой гуанилатциклазы с образованием циклического гуанозинмонофосфата [22].

Поскольку триптофан является незаменимой аминокислотой и должен поступать в организм с пищей, важно отметить, что микробные метаболиты триптофана влияют на моторику кишечника. Например, триптамин уменьшает время транзита и, стимулируя кишечную секрецию, индуцирует высвобождение серотонина кишечными нейронами, индолы действуют как лиганды рецептора ароматических углеводов (AhR) [23]. Напротив, введение цинка сульфата снижает частоту актов дефекации и моторику кишечника при диарее за счет активации β -адренорецепторов и Ca^{2+} -каналов L-типа [24].

Цель исследования – анализ эффектов совместного введения триптофана и цинка (в форме цинка диаспартата) на основе определения концентраций свободных аминокислот и их азотсодержащих метаболитов (35 показателей) в плазме крови крыс.

Материалы и методы исследования. Эксперимент проведен на крысах линии Вистар массой 120–140 г, имевших свободный доступ к пище и воде. Животным внутрижелудочно в течение 10 дней вводили: 1-я группа (контрольная, $n = 10$) получала физраствор; 2-я группа ($n = 10$) – триптофан в дозе 40 мг/кг массы, применяемая доза триптофана составляет 44 % от рекомендуемой терапевтической дозы (для человека средняя суточная доза составляет 15 мг/кг, для лабораторных крыс – 90 мг/кг (рассчитывается по следующей формуле: суточная доза для человека $\times 6$, где 6 – это стандартизованный коэффициент пересчета для лабораторных крыс, выведенный с учетом разности в скорости метаболических реакций) [25]; 3-я группа ($n = 10$) – цинка диаспартат в дозе 25 мг/кг массы (в пересчете на ионы цинка 4,9 мг/кг), что в 2 раза превышает среднюю терапевтическую дозу (для человека средняя терапевтическая доза цинка диаспартата составляет 2 мг/кг, для лабораторной крысы – 12 мг/кг), побочных эффектов введения животным цинка диаспартата в дозе, превышающей среднюю терапевтическую (в 2 раза), не развивалось; 4-я группа ($n = 10$) – триптофан в дозе 40 мг/кг массы и цинка диаспартат в дозе 25 мг/кг массы. Декапитацию животных осуществляли через 24 ч после последнего введения. Все опыты проведены с учетом «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» и согласованы с комитетом по биоэтике УО «ГрГМУ» (протокол № 1 от 23 января 2020 г.).

В образцах плазмы крови определяли уровни свободных аминокислот и их азотсодержащих производных методом обращеннофазной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с о-фталевым альдегидом и 3-меркаптопропионовой кислотой, с изократическим элюированием и детектированием по флуоресценции (231/445 нм). Содержание ароматических аминокислот (тирозина и триптофана) оценивали методом ион-парной ВЭЖХ с детектированием по природной флуоресценции (280/320 нм для тирозина и 280/340 нм для триптофана). Все определения проводили на хроматографической системе Agilent 1100, прием и обработку данных – с помощью программы Agilent ChemStation A10.01. Математическую обработку полученных данных проводили с помощью программы Statistica 10.0. Распределение исследуемых показателей проверяли по критерию Шапиро–Уилка. Данные представляли в виде среднего \pm стандартная

ошибка среднего ($M \pm SEM$), а статистическую значимость отличий – на основании t -критерия Стьюдента. Данные считали достоверными при $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Анализ полученных нами результатов показал, что курсовое введение как цинка диаспартата, так и цинка диаспартата совместно с триптофаном статистически значимо снижало общее количество свободных аминокислот и их азотсодержащих производных (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Структура аминокислотного пула плазмы крови крыс, получавших внутривентрикулярно триптофан (40 мг/кг массы) и цинка диаспартат (25 мг/кг массы), мкмоль/л ($M \pm m$)

Table 1. Structure of the amino acid pool of the blood plasma of rats treated intragastrically with tryptophan (40 mg/kg) and zinc diaspertate (25 mg/kg), $\mu\text{mol/l}$ ($M \pm m$)

Исследуемый показатель	Контроль	Триптофан	Триптофан + цинк	Цинк
Общее количество аминокислот и их азотсодержащих производных	9370 \pm 312	8876 \pm 178	7890 \pm 157*	7360 \pm 215*
Общее количество протеиногенных аминокислот	8536 \pm 292	8027 \pm 163	7102 \pm 138*	6638 \pm 194*
Общее количество азотсодержащих производных аминокислот	834 \pm 27	849 \pm 22	788 \pm 26	722 \pm 27*
Протеиногенные аминокислоты/азотсодержащие производные аминокислоты	10,3 \pm 0,27	9,5 \pm 0,19*	9,1 \pm 0,22*	9,2 \pm 0,22*
Общее количество заменимых аминокислот	4897 \pm 159	4695 \pm 72	4137 \pm 94*	3778 \pm 89*
Общее количество незаменимых аминокислот	3640 \pm 145	3332 \pm 109	2965 \pm 70*	2860 \pm 134*
Заменимые аминокислоты/незаменимые аминокислоты	1,4 \pm 0,03	1,4 \pm 0,03	1,4 \pm 0,04	1,3 \pm 0,05
Общее количество АРУЦ	878 \pm 28	772 \pm 30*	672 \pm 31*	661 \pm 25*
АРУЦ/ароматические аминокислоты	2,3 \pm 0,08	1,8 \pm 0,06*	1,6 \pm 0,09*	1,7 \pm 0,06*
Общее количество серосодержащих аминокислот	561 \pm 22	587 \pm 16	513 \pm 21	470 \pm 21*
Аргинин/орнитин	4,25 \pm 0,234	4,59 \pm 0,234	3,16 \pm 0,402*	3,59 \pm 0,257
Аргинин/цитруллин	2,31 \pm 0,067	2,25 \pm 0,077	1,91 \pm 0,154*	1,79 \pm 0,057*
Глутамат + глутамин	2046 \pm 70	1927 \pm 40	1713 \pm 35*	1566 \pm 55*
Глутамат/глутамин	0,39 \pm 0,022	0,39 \pm 0,01	0,33 \pm 0,013*	0,33 \pm 0,014*

Пр и м е ч а н и е. Здесь и в табл. 2: * – статистически значимо относительно контрольной группы.

Среди индивидуальных показателей аминокрамы в этих опытных группах введение цинка диаспартата или цинка диаспартата совместно с триптофаном статистически значимо снижало содержание заменимых аминокислот: аспартата – на 34 и 20 %, глутамата – на 33 и 25, аспарагина – на 27 и 18, серина – на 30 и 22, глутамина – на 20 и 13, гистидина – на 20 и 15, глицина – на 21 и 14, аланина – на 21 и 14 % (табл. 2). Заменимые аминокислоты постоянно синтезируются в клетках организма, а их уровни в плазме крови поддерживаются межорганным переносом азота, функционированием цикла трикарбоновых кислот и реакциями гликолиза. Обеднение пула заменимых аминокислот плазмы крови может быть обусловлено повышением их транспорта в клетки и анаплеротической функцией при дефиците углеводов.

Т а б л и ц а 2. Концентрации свободных аминокислот и их азотсодержащих метаболитов в плазме крови крыс, получавших внутривентрикулярно триптофан (40 мг/кг массы) и цинка диаспартат (25 мг/кг массы), мкмоль/л ($M \pm m$)

Table 2. Concentrations of free amino acids and their nitrogen-containing metabolites in the blood plasma of rats treated intragastrically with tryptophan (40 mg/kg) and zinc diaspertate (25 mg/kg), $\mu\text{mol/l}$ ($M \pm m$)

Исследуемый показатель	Контроль	Триптофан	Триптофан + цинк	Цинк
Аспартат	167 \pm 9,3	155 \pm 4,5	133 \pm 10,9*	110 \pm 3,7*
Глутамат	570 \pm 35,4	540 \pm 11,6	427 \pm 20,3*	383 \pm 15,9*
Аспарагин	132 \pm 4,2	126 \pm 4,2	108 \pm 3,6*	97 \pm 2,8*

Окончание табл. 2

Исследуемый показатель	Контроль	Триптофан	Триптофан + цинк	Цинк
Серин	539 ± 28,2	481 ± 8,5	421 ± 12,3*	378 ± 11,7*
α-Аминоадипиновая кислота	2,6 ± 0,29	2 ± 0,24	1,7 ± 0,18*	1,4 ± 0,14*
Глутамин	1476 ± 47	1387 ± 34,4	1286 ± 17,2*	1183 ± 46,7*
Гистидин	69 ± 1,6	66 ± 2,6	59 ± 2,4*	55 ± 1,9*
3-Метилгистидин	10 ± 0,4	10 ± 0,4	10 ± 0,5	9 ± 0,4*
Глицин	521 ± 15,2	522 ± 13,5	446 ± 17,4*	411 ± 21,4*
Фосфоэтаноламин	10 ± 2	7 ± 1,4	5 ± 0,6*	5 ± 0,5*
Треонин	600 ± 31	543 ± 31	510 ± 24*	442 ± 27*
1-Метилгистидин	3,2 ± 0,13	2,3 ± 0,15	2,2 ± 0,18*	2,1 ± 0,24*
Аргинин	316 ± 12	326 ± 9	289 ± 21	272 ± 9*
Аланин	1026 ± 49	997 ± 29	885 ± 33*	812 ± 19*
Таурин	472 ± 20,3	497 ± 15,6	426 ± 19,6	388 ± 20,6*
α-Аминомасляная кислота	58 ± 3,6	43 ± 4,8	23 ± 3,9*	27 ± 4,6*
Валин	349 ± 11	312 ± 12*	276 ± 12*	278 ± 11*
Метионин	87 ± 3	88 ± 2,6	85 ± 2,2	79 ± 2,4
Цистатионин	1,4 ± 0,1	1,6 ± 0,12	1,4 ± 0,22	1,6 ± 0,3
Триптофан	176 ± 10	210 ± 10*	230 ± 13*	222 ± 12*
Фенилаланин	134 ± 5	122 ± 4	112 ± 5*	101 ± 2*
Изолейцин	200 ± 6	177 ± 6*	154 ± 7*	148 ± 5*
Лейцин	328 ± 12	283 ± 13	242 ± 14*	235 ± 10*
Орнитин	76 ± 4	73 ± 4	102 ± 10*	79 ± 5
Лизин	1765 ± 97	1598 ± 61	1355 ± 50*	1356 ± 84*

Аминокислоты с разветвленной цепью (АРУЦ, валин, лейцин и изолейцин) – незаменимые аминокислоты, которые являются субстратами для биосинтеза белка, а также регуляторами белкового и энергетического обмена, предшественниками других аминокислот и выполняют важнейшие функции в клетках мозга [26]. Во всех экспериментальных группах, включая животных, получавших триптофан, в плазме крови снижалось общее количество АРУЦ (см. табл. 1), что может указывать на анаболические эффекты вводимых соединений [27].

Введение только цинка диаспартата или цинка диаспартата совместно с триптофаном статистически значимо снижало содержание незаменимых аминокислот: треонина – на 26 и 15 %, валина – на 20 и 21, фенилаланина – на 25 и 16, изолейцина – на 26 и 23, лейцина – на 28 и 26, лизина – на 23 и 23 %. Снижались концентрации азотсодержащих метаболитов аминокислот: α-аминоадипиновой кислоты – на 46 и 34,6 %, фосфоэтанолamina – на 50 и 50, 1-метилгистидина – на 34 и 31, α-аминомасляной кислоты – на 53 и 60 % (табл. 2). Снижение азотсодержащих метаболитов аминокислот может являться следствием подавления катаболизма аминокислот.

Основные различия влияния исследуемых соединений на спектр изучаемых показателей заключались в том, что если введение цинка диаспартата приводило к снижению в плазме крови концентраций аргинина (на 14 %), 3-метилгистидина (на 10 %) и таурина (на 18 %), то совместное введение цинка диаспартата и триптофана повышало концентрацию только орнитина (в 1,3 раза). Следует отметить, что во всех экспериментальных группах в плазме крови крыс повышался уровень триптофана (в 1,3 раза) (табл. 2).

Нами обнаружено, что при курсовом введении триптофана в дозе 40 мг/кг массы в плазме крови снижается общее количество АРУЦ и повышается концентрация этой свободной аминокислоты. В то же время у животных, получавших цинка диаспартат или цинка диаспартат совместно с триптофаном, снижалось общее количество аминокислот и их азотсодержащих метаболитов в плазме крови. Очевидно, что помимо изменения метаболизма отдельных аминокислот имеет место активация анаболических путей, затрагивающих не только стимуляцию биосинтеза

белка, но и липидный и углеводный обмен. Немаловажным фактором, влияющим на метаболические процессы, является поступление в организм существенных количеств цинка диаспартата в комбинации с аминокислотой, лимитирующей белковый синтез и образование большого числа коферментов и медиаторов триптофаном. Анализ индивидуальных концентраций аминокислот и их азотсодержащих метаболитов показал, что совместное введение триптофана и цинка диаспартата сопровождается статистически значимыми изменениями концентраций большинства изучаемых показателей аминокислотного пула (19 из 35 показателей). Следует отметить односторонность изменений содержания свободных аминокислот и их азотсодержащих метаболитов в группах животных, получавших цинка диаспартат или цинка диаспартат совместно с триптофаном (совпадение эффектов составило 90 %).

Диаграмма рассеяния канонических значений показала, что показатели групп «цинка диаспартат» и «цинка диаспартат + триптофан» локализованы примерно в одной области. Так, значение расстояния Махаланобиса между групповыми центроидами контроль–триптофан составляет 26, контроль–цинка диаспартат – 67, контроль–цинка диаспартат + триптофан – 63, цинка диаспартат – цинка диаспартат + триптофан – 36. Диаграмма рассеяния канонических значений визуализирует полученные от вводимых соединений эффекты на пул свободных аминокислот и их азотсодержащих метаболитов плазмы крови (рис. 2).

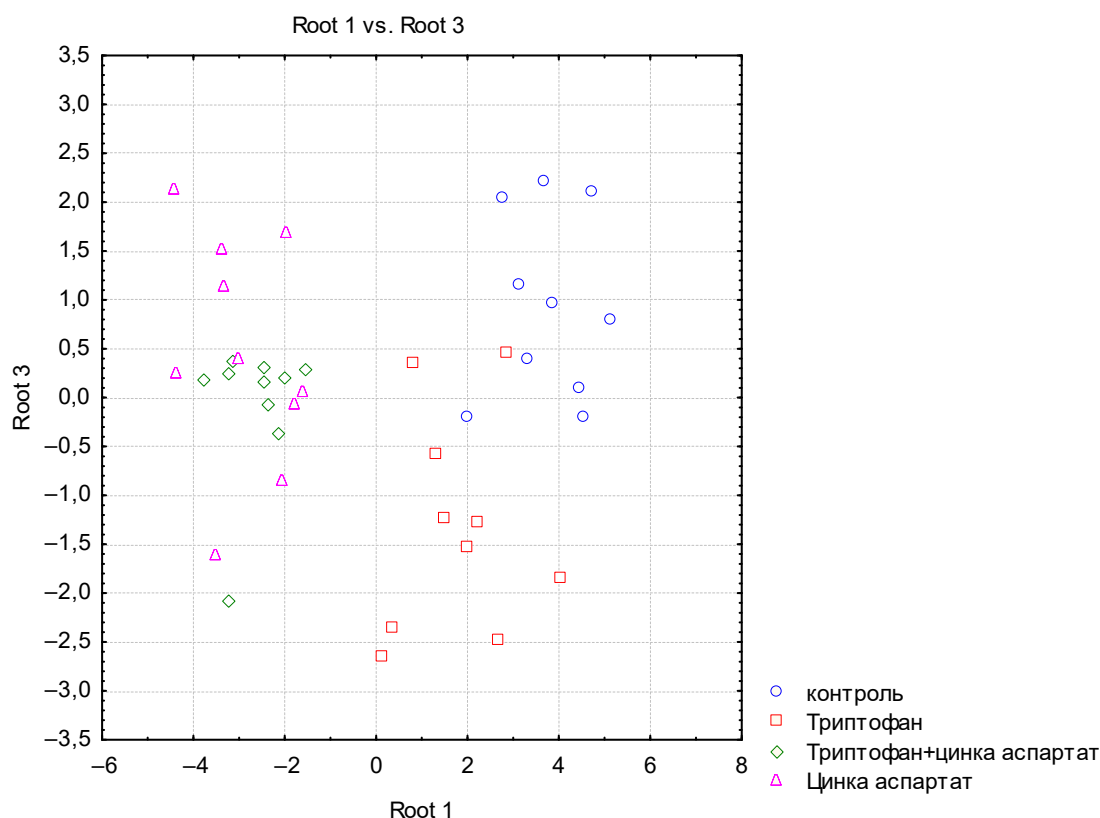


Рис. 2. Диаграмма рассеяния канонических значений для пар значений дискриминантных функций 1 и 3. При интегральной оценке метаболических эффектов курсового внутрижелудочного введения триптофана и цинка диаспартата в ткани печени значение лямбды Вилкса и соответствующий ему критерий Фишера (0,0073914 и 37,21032 соответственно) доказывают высокую степень дискриминации групп, а на основании классификационной матрицы можно сделать вывод о 100 %-ной корректности обучающих выборок для всех групп

Fig. 2. Scatter plot of the canonical values for pairs of values of discriminant functions 1 and 3. In an integral assessment of the metabolic effects of intragastric course administration of tryptophan and zinc diaspartate in the liver tissue, the Wilks lambda value and its corresponding Fisher criterion (0.0073914 and 37.21032, respectively) prove a high discrimination degree of groups. Based on the classification matrix, we can conclude that the training samples are 100 % correct for all groups

Заклучение. Таким образом, проведенные нами исследования показали, что курсовое введение цинка диаспартата в дозе 25 мг/кг массы оказывает выраженный метаболический эффект, проявляющийся существенными изменениями в спектре свободных аминокислот и их азотсодержащих метаболитов в плазме крови. Курсовое введение триптофана в дозе 40 мг/кг массы не оказывает существенного влияния на показатели аминокраммы плазмы крови. При совместном введении животным в вышеуказанных дозах цинка диаспартата и триптофана выявленные эффекты в большей степени можно отнести к воздействию цинка диаспартата.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Tryptophan biochemistry: structural, nutritional, metabolic, and medical aspects in humans / L. Palego [et al.] // *J. Amino Acids*. – 2016. – Vol. 2016. – Art. 8952520. <https://doi.org/10.1155/2016/8952520>
2. Zinc and its importance for human health: An integrative review / N. Roohani [et al.] // *J. Res. Med. Sci.* – 2013. – Vol. 18, N 2. – P. 144–157.
3. Makita, S. Post-transcriptional regulation of immune responses and inflammatory diseases by RNA-binding ZFP36 family proteins / S. Makita, H. Takatori, H. Nakajima // *Front Immunol.* – 2021. – Vol. 12. – Art. 711633. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.711633>
4. Tryptophan supplementation enhances intestinal health by improving gut barrier function, alleviating inflammation, and modulating intestinal microbiome in lipopolysaccharide-challenged piglets / G. Liu [et al.] // *Front Microbiol.* – 2022. – Vol. 13. – Art. 919431. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.919431>
5. Effect of tryptophan and kynurenine on cell proliferation in tissue culture of the cerebral cortex in young and old rats / N. I. Chalisova [et al.] // *Adv. Gerontol.* – 2019. – Vol. 9. – P. 186–189. <https://doi.org/10.1134/S2079057019020073>
6. Tryptophan-derived catabolites are responsible for inhibition of T and natural killer cell proliferation induced by indoleamine 2,3-dioxygenase / G. Frumento [et al.] // *J. Exp. Med.* – 2002. – Vol. 196, N 4. – P. 459–468. <https://doi.org/10.1084/jem.20020121>
7. The effect of IV L-tryptophan on prolactin, growth hormone, and mood in healthy subjects / D. S. Charney [et al.] // *Psychopharmacology (Berl.)*. – 1982. – Vol. 78, N 1. – P. 38–43. <https://doi.org/10.1007/BF00470585>
8. Cunningham, B. C. Dimerization of human growth hormone by zinc / B. C. Cunningham, M. G. Mulkerrin, J. A. Wells // *Science*. – 1991. – Vol. 253, N 5019. – P. 545–548. <https://doi.org/10.1126/science.1907025>
9. Oxenkrug, G. Insulin resistance and dysregulation of tryptophan-kynurenine and kynurenine-nicotinamide adenine dinucleotide metabolic pathways / G. Oxenkrug // *Mol. Neurobiol.* – 2013. – Vol. 48, N 2. – P. 294–301. <https://doi.org/10.1007/s12035-013-8497-4>
10. The effect of zinc supplementation in pre-diabetes: A protocol for systematic review and meta-analysis / X. Du [et al.] // *Medicine (Baltimore)*. – 2019. – Vol. 98, N 27. – P. e16259. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000016259>
11. Tryptophan metabolism, inflammation, and oxidative stress in patients with neurovascular disease / M. Hajsl [et al.] // *Metabolites*. – 2020. – Vol. 10, N 5. – Art. 208. <https://doi.org/10.3390/metabo10050208>
12. Melatonin as an antioxidant: under promises but over delivers / R. J. Reiter [et al.] // *J. Pineal Res.* – 2016. – Vol. 61, N 3. – P. 253–278. <https://doi.org/10.1111/jpi.12360>
13. Slepchenko, K. G. Cross talk between increased intracellular zinc (Zn²⁺) and accumulation of reactive oxygen species in chemical ischemia / K. G. Slepchenko, Q. Lu, Y. V. Li // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* – 2017. – Vol. 313, N 4. – P. C448–C459. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00048.2017>
14. Hübner, C. Interactions of zinc- and redox-signaling pathways / C. Hübner, H. Haase // *Redox Biol.* – 2021. – Vol. 41. – Art. 101916. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.101916>
15. Muthuraman, P. Analysis of dose-dependent effect of zinc oxide nanoparticles on the oxidative stress and antioxidant enzyme activity in adipocytes / P. Muthuraman, K. Ramkumar, D. H. Kim // *Appl. Biochem. Biotechnol.* – 2014. – Vol. 174, N 8. – P. 2851–2863. <https://doi.org/10.1007/s12010-014-1231-5>
16. Tryptophan administration in rats enhances phagocytic function and reduces oxidative metabolism / S. Sanchez [et al.] // *Neuro Endocrinol. Lett.* – 2008. – Vol. 29, N 6. – P. 1026–1032.
17. León-Ponte, M. Serotonin provides an accessory signal to enhance T-cell activation by signaling through the 5-HT7 receptor / M. León-Ponte, G. P. Ahern, P. J. O'Connell // *Blood*. – 2007. – Vol. 109, N 8. – P. 3139–3146. <https://doi.org/10.1182/blood-2006-10-052787>
18. Wessels, I. Zinc as a gatekeeper of immune function / I. Wessels, M. Maywald, L. Rink // *Nutrients*. – 2017. – Vol. 9, N 12. – Art. 1286. <https://doi.org/10.3390/nu9121286>
19. Lindseth, G. The effects of dietary tryptophan on affective disorders / G. Lindseth, B. Helland, J. Caspers // *Arch. Psychiatr. Nurs.* – 2015. – Vol. 29, N 2. – P. 102–107. <https://doi.org/10.1016/j.apnu.2014.11.008>
20. Zinc is involved in depression by modulating G protein-coupled receptor heterodimerization / M. Tena-Campos [et al.] // *Mol. Neurobiol.* – 2016. – Vol. 53, N 3. – P. 2003–2015. <https://doi.org/10.1007/s12035-015-9153-y>
21. Kynurenine is an endothelium-derived relaxing factor produced during inflammation / Y. Wang [et al.] // *Nat. Med.* – 2010. – Vol. 16, N 3. – P. 279–285. <https://doi.org/10.1038/nm.2092>
22. Zinc regulates iNOS-derived nitric oxide formation in endothelial cells / M. M. Cortese-Krott [et al.] // *Redox Biol.* – 2014. – Vol. 16, N 2. – P. 945–954. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2014.06.011>

23. Gut microbiota-produced tryptamine activates an epithelial g-protein-coupled receptor to increase colonic secretion / Y. Bhattarai [et al.] // *Cell Host Microbe*. – 2018. – Vol. 23, N 6. – P. 775–785.e5. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2018.05.004>
24. Effect of zinc treatment on intestinal motility in experimentally induced diarrhea in rats / O. S. Adeniyi [et al.] // *Niger J. Physiol. Sci.* – 2014. – Vol. 29, N 1. – P. 11–15.
25. Выбор дозы препарата для доклинического исследования: межвидовой перенос доз / Е. В. Шекунова [и др.] // *Ведомости Науч. центра экспертизы средств мед. применения. Регулятор. исслед. и экспертиза лекарств. средств.* – 2020. – Т. 10, № 1. – С. 19–28.
26. Neinast, M. Branched chain amino acids / M. Neinast, D. Murashige, Z. Arany // *Annu. Rev. Physiol.* – 2019. – Vol. 81. – P. 139–164. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-020518-114455>
27. Holeček, M. Branched-chain amino acids in health and disease: metabolism, alterations in blood plasma, and as supplements / M. Holeček // *Nutr. Metab.* – 2018. – Vol. 15. – Art. 33. <https://doi.org/10.1186/s12986-018-0271-1>

References

1. Palego L., Betti L., Rossi A., Giannaccini G. Tryptophan biochemistry: structural, nutritional, metabolic, and medical aspects in humans. *Journal of Amino Acids*, 2016, vol. 2016, art. 8952520. <https://doi.org/10.1155/2016/8952520>
2. Roohani N. R., Hurrell R., Kelishadi R., Schulin R. Zinc and its importance for human health: An integrative review. *Journal of Research in Medical Sciences*, 2013, vol. 18, no. 2, pp. 144–157.
3. Makita S., Takatori H., Nakajima H. Post-transcriptional regulation of immune responses and inflammatory diseases by RNA-binding ZFP36 family proteins. *Frontiers in Immunology*, 2021, vol. 12, art. 711633. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.711633>
4. Liu G., Lu J., Sun W., Jia G., Zhao H., Chen X., Kim I. H., Zhang R., Wang J. Tryptophan supplementation enhances intestinal health by improving gut barrier function, alleviating inflammation, and modulating intestinal microbiome in lipopolysaccharide-challenged piglets. *Frontiers in Microbiology*, 2022, vol. 13, art. 919431. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.919431>
5. Chalisova N. I., Ivanova P. N., Zalomaeva E. S., Nikitina E. A., Kozina L. S. Effect of tryptophan and kynurenine on cell proliferation in tissue culture of the cerebral cortex in young and old rats. *Advances in Gerontology*, 2019, vol. 9, pp. 186–189. <https://doi.org/10.1134/S2079057019020073>
6. Frumento G., Rotondo R., Tonetti M., Damonte G., Benatti U., Ferrara G. B. Tryptophan-derived catabolites are responsible for inhibition of T and natural killer cell proliferation induced by indoleamine 2,3-dioxygenase. *Journal of Experimental Medicine*, 2002, vol. 196, no. 4, pp. 459–468. <https://doi.org/10.1084/jem.20020121>
7. Charney D. S., Heninger G. R., Reinhard J. F., Sternberg D. E., Hafstead K. M. The effect of IV L-tryptophan on prolactin, growth hormone, and mood in healthy subjects. *Psychopharmacology (Berl)*, 1982, vol. 78, no. 1, pp. 38–43. <https://doi.org/10.1007/BF00470585>
8. Cunningham B. C., Mulkerrin M. G., Wells J. A. Dimerization of human growth hormone by zinc. *Science*, 1991, vol. 253, no. 5019, pp. 545–548. <https://doi.org/10.1126/science.1907025>
9. Oxenkrug G. Insulin resistance and dysregulation of tryptophan-kynurenine and kynurenine-nicotinamide adenine dinucleotide metabolic pathways. *Molecular Neurobiology*, 2013, vol. 48, no. 2, pp. 294–301. <https://doi.org/10.1007/s12035-013-8497-4>
10. Du X., Shi L., Gao H., Fu X., Zhang X., Zhang Yu., Xie Ch. The effect of zinc supplementation in pre-diabetes: A protocol for systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*, 2019, vol. 98, no. 27, p. e16259. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000016259>
11. Hajsl M., Hlavackova A., Broulikova K., Sramek M., Maly M., Dyr J. E., Suttner J. Tryptophan metabolism, inflammation, and oxidative stress in patients with neurovascular disease. *Metabolites*, 2020, vol. 10, no. 5, art. 208. <https://doi.org/10.3390/metabo10050208>
12. Reiter R. J., Mayo J. C., Tan D.-X., Sainz R. M., Alatorre-Jimenez M., Qin L. Melatonin as an antioxidant: under promises but over delivers. *Journal of Pineal Research*, 2016, vol. 61, no. 3, pp. 253–278. <https://doi.org/10.1111/jpi.12360>
13. Slepchenko K. G., Lu Q., Li Y. V. Cross talk between increased intracellular zinc (Zn²⁺) and accumulation of reactive oxygen species in chemical ischemia. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 2017, vol. 313, no. 4, pp. C448–C459. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00048.2017>
14. Hübner C., Haase H. Interactions of zinc- and redox-signaling pathways. *Redox Biology*, 2021, vol. 41, art. 101916. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.101916>
15. Muthuraman P., Ramkumar K., Kim D. H. Analysis of dose-dependent effect of zinc oxide nanoparticles on the oxidative stress and antioxidant enzyme activity in adipocytes. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2014, vol. 174, no. 8, pp. 2851–2863. <https://doi.org/10.1007/s12010-014-1231-5>
16. Sanchez S., Paredes S. D., Sanchez C. L., Barriga C., Reiter R. J., Rodriguez A. B. Tryptophan administration in rats enhances phagocytic function and reduces oxidative metabolism. *Neuro Endocrinology Letters*, 2008, vol. 29, no. 6, pp. 1026–1032.
17. León-Ponte M., Ahern G. P., O'Connell P. J. Serotonin provides an accessory signal to enhance T-cell activation by signaling through the 5-HT₇ receptor. *Blood*, 2007, vol. 109, no. 8, pp. 3139–3146. <https://doi.org/10.1182/blood-2006-10-052787>
18. Wessels I., Maywald M., Rink L. Zinc as a gatekeeper of immune function. *Nutrients*, 2017, vol. 9, no. 12, art. 1286. <https://doi.org/10.3390/nu9121286>

19. Lindseth G., Helland B., Caspers J. The effects of dietary tryptophan on affective disorders. *Archives of Psychiatric Nursing*, 2015, vol. 29, no. 2, pp. 102–107. <https://doi.org/10.1016/j.apnu.2014.11.008>
20. Tena-Campos M., Ramon E., Lupala C. S., Pérez J. J., Koch K.-W., Garriga P. Zinc is involved in depression by modulating G protein-coupled receptor heterodimerization. *Molecular Neurobiology*, 2016, vol. 53, no. 3, pp. 2003–2015. <https://doi.org/10.1007/s12035-015-9153-y>
21. Wang Y., Liu H., McKenzie G., Witting P. K., Stasch J.-P., Hahn M. [et al.]. Kynurenine is an endothelium-derived relaxing factor produced during inflammation. *Nature Medicine*, 2010, vol. 16, no. 3, pp. 279–285. <https://doi.org/10.1038/nm.2092>
22. Cortese-Krott M. M., Kulakov L., Opländer Ch., Kolb-Bachofen V., Kröncke K.-D., Suschek Ch. V. Zinc regulates iNOS-derived nitric oxide formation in endothelial cells. *Redox Biology*, 2014, vol. 16, no. 2, pp. 945–954. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2014.06.011>
23. Bhattarai Y., Williams B. B., Battaglioli E. J., Whitaker W. R., Till L., Grover M. [et al.]. Gut microbiota-produced tryptamine activates an epithelial G-protein-coupled receptor to increase colonic secretion. *Cell Host and Microbe*, 2018, vol. 23, no. 6, pp. 775–785.e5. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2018.05.004>
24. Adeniyi O. S., Akomolafe R. O., Ojabo C. O., Eru E. U., Olaleye S. B. Effect of zinc treatment on intestinal motility in experimentally induced diarrhea in rats. *Nigerian Journal of Physiological Sciences*, 2014, vol. 29, no. 1, pp. 11–15.
25. Shekunova E. V., Kovaleva M. A., Makarova M. N., Makarov V. G. Dose selection for preclinical studies: interspecies dose transfer. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya. Regulyatornye issledovaniya i ekspertiza lekarstvennykh sredstv* [Bulletin of the Scientific Center for Expertise of Medical Products. Regulatory research and examination of medicines], 2020, vol. 10, no. 1, pp. 19–28 (in Russian).
26. Neinast M., Murashige D., Arany Z. Branched chain amino acids. *Annual Review of Physiology*, 2019, vol. 81, pp. 139–164. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-020518-114455>
27. Holeček M. Branched-chain amino acids in health and disease: metabolism, alterations in blood plasma, and as supplements. *Nutrition and Metabolism*, 2018, vol. 15, art. 33. <https://doi.org/10.1186/s12986-018-0271-1>

Информация об авторах

Шейбак Владимир Михайлович – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Виленская, 19, 230023, г. Гродно, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0001-6829-447>. E-mail: vsheibak@gmail.com

Павлюковец Анастасия Юрьевна – канд. биол. наук, доцент. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Виленская, 19, 230023, г. Гродно, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0001-7995-5587>. E-mail: anastasiayk@mail.ru

Дорошенко Евгений Михайлович – канд. биол. наук, доцент, вед. науч. сотрудник. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230015, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: dgi03@mail.ru

Information about the authors

Vladimir M. Sheybak – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Grodno State Medical University (19, Vilenskaya Str., 230023, Grodno, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0001-6829-447>. E-mail: vsheibak@gmail.com

Anastasia Yu. Pavlyukovets – Ph. D. (Biol.), Associate Professor. Grodno State Medical University (19, Vilenskaya Str., 230023, Grodno, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0001-7995-5587>. E-mail: anastasiayk@mail.ru

Evgeniy M. Doroshenko – Ph. D. (Biol.), Associate Professor, Leading Researcher. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230015, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: dgi03@mail.ru