УДК 612.323:612.822.2

ИЗМЕНЕНИЕ ЛИПОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПОДЖЕЛУДОЧНОГО СОКА ПОД ВЛИЯНИЕМ РАЗЛИЧНЫХ БЕЛКОВ

Алейник В.А., Бабич С.М., Джалалова О.К., Хамрокулов Ш.Х.

Андижанский государственный медицинский институт, Андижан, e-mail: bsm959@mail.ru

В работе были исследованы желудочный и поджелудочный соки, полученные в хронических экспериментах у собак при тощаковой секреции, с целью изучить способность желудочного сока изменять ингибирование различными белками липазы панкреатического сока и улучшать перевариваемость жиров. Полученные данные показывают, что все исследованные белки, кроме желатины, обладают ингибирующим действием на липазу в составе панкреатического сока, степень ингибирующего действия у каждого белка выражена неодинаково. Динамика зависимости липолитической активности от концентрации белка была различной, то есть индивидуальной для каждого исследуемого белка. Эти результаты показывают, что желудочное переваривание белков снижает их способность ингибировать панкреатическую липазу в неодинаковой степени для различных белков. Также снижение ингибирования липазы различными белками зависит от переваривающей способности желудочного сока. Установлено, что предварительный гидролиз белков желудочным соком способствует не только дальнейшему улучшению гидролиза их под влиянием протеолитических ферментов поджелудочного сока, но также и гидролизу жиров под влиянием панкреатической липазы. Этот факт, возможно, является более важным для гидролитической функции желудка и главным эволюционным фактором предварительного переваривания белков в желудке.

Ключевые слова: белки, липаза, гидролиз белков, протеолитические ферменты, желудочный сок, поджелудочный сок

CHANGES IN THE LYPOLITICAL ACTIVITY OF THE PANCREAS JUICE UNDER THE INFLUENCE OF DIFFERENT PROTEINS

Aleynik V.A., Babich S.M., Dzhalalova O.K., Khamrokulov Sh.Kh.

Andijan State Medical Institute, Andijan, e-mail: bsm959@mail.ru

In this work, gastric and pancreatic juices obtained in chronic experiments on dogs with skinny secretion were studied in order to study the ability of gastric juice to change the inhibition of pancreatic juice by various lipase proteins and improve the digestibility of fats. The data obtained show that all the studied proteins, except gelatin, have an inhibitory effect on lipase in the composition of pancreatic juice, the degree of inhibitory effect in each protein is expressed unequally. The dynamics of the dependence of lipolytic activity on protein concentration was different, that is, individual for each protein studied. These results show that gastric digestion of proteins reduces their ability to inhibit pancreatic lipase in varying degrees for different proteins. Also, a decrease in lipase inhibition by various proteins depends on the digestive capacity of the gastric juice. It has been established that preliminary hydrolysis of proteins with gastric juice promotes not only further improvement of their hydrolysis under the influence of proteolytic enzymes of pancreatic juice, but also hydrolysis of fats under the influence of pancreatic lipase. This fact is probably more important for the hydrolytic function of the stomach and the main evolutionary factor in the preliminary digestion of proteins in the stomach.

Keywords: proteins, lipase, hydrolysis of proteins, proteolytic enzymes gastric juice, pancreatic juice

Переваривание жиров широко обсуждается в литературе, из-за важности этого вопроса для здоровья человека, а также для интереса фармацевтической промышленности [1–3].

В последние годы растущий интерес к пониманию факторов, контролирующих скорость абсорбции жира в желудочно-кишечном тракте (GIT), проявляется из-за его связи с различными заболеваниями, такими как ожирение, диабет 2 типа, атеросклероз, туберкулез. Одним из возможных способов контроля абсорбции жира является регулирование ферментативной активности в GIT с использованием ингибиторов ферментов [2].

Другим способом регуляции активности ферментов является использование соответствующих эмульгаторов, которые конкурируют ферменты при адсорбции на поверхности жировых капель, тем самым снижая скорость липолиза. Эта возможность была проанализирована в различных исследованиях *in vitro*, в которых определяли скорость липолиза для разных типов эмульгаторов [4, 5].

В этих исследованиях было показано, что скорость пищеварения может быть значительно снижена с использованием соответствующих эмульгаторов, таких как биополимеры [6].

Многие белки являются поверхностно активными соединениями на границе вода/жир и ингибируют липазу поджелудочной железы. Это ингибирование может быть результатом конкурентной адсорбции белков и десорбции белками липазы с поверхности жировых капель. Ингибирование липазы связано со способностью белков взаимодей-

ствовать с липидами и изменять качество раздела вода/жир, оно не вызвано прямым взаимодействием белка с ферментом [7, 8].

Ингибирование активности липазы белками – это общее явление, которое проявляется в отсутствии колипазы и солей желчных кислот. Ингибирование существенно не восстанавливается посредством колипазы в отсутствии солей желчных кислот и активация панкреатической липазы по колипазе в присутствии ингибирующего белка требует присутствия солей желчных кислот. В отсутствие колипазы желчные кислоты десорбируют липазу с поверхности жировых капель и скорость гидролиза триглицеридов снижается [7].

Белки с большой молекулярной массой на границе вода/жир обладают более выраженной склонностью к адсорбции, чем с меньшей молекулярной массой [9].

Можно предположить, что после гидролиза пепсинами белков в желудке и образовании из них полипептидов со значительно меньшей молекулярной массой, ими теряется возможность к адсорбции на границе вода/жир и к способности к ингибированию панкреатической липазы.

Таким образом, белки могут оказывать отрицательное влияние на гидролиз жира в просвете кишечника при пониженной протеолитической активности желудочного сока, а гидролизаты белков в большинстве случаев могут оказывать положительное влияние на гидролиз жира в просвете кишечника. Из этого следует, что гидролиз жиров зависит от переваривания белков пепсинами в желудке. Отсюда вытекает предположение, что роль пепсина в желудке заключается не только в улучшении перевариваемости белков, но также в улучшении перевариваемости жиров.

Цель исследования: изучить способность желудочного сока изменять ингибирование белками панкреатической липазы и улучшать перевариваемость жиров.

Материалы и методы исследования

В работе были использованы желудочный и поджелудочный соки, полученные в хронических экспериментах у собак при тощаковой секреции. В поджелудочном соке определялась активность липазы [10], в присутствии различных белков (казеин, сывороточный альбумин, гемоглобин, желатина, яичный белок, белок мясного порошка). В качестве субстрата для панкреатической липазы использовался 1% трибутирин, эмульгированный соответствующим белком в нарастающей концентрации от 0,1 до 1%. В качестве стабилизатора эмульсий использовали 2,5% раствор аравийской камеди. С целью снижения расщепления белков и ослабления их эмульгируемости, протеолитическая активность поджелудочного сока ингибировалась использованием преинкубации его с 0,1% раствором соевого ингибитора.

Исследование липолитической активности поджелудочного сока с исследуемыми белками проводилось в трех вариантах: 1 – без предварительной инкубации с желудочным соком, 2 – с 30 мин предварительной инкубацией с желудочным соком, 3 – с 60 мин предварительной инкубацией с желудочным соком.

Преинкубация белковых субстратов с желудочным соком осуществлялась при pH 2, после этого проводили нейтрализацию pH до 8 раствором NaOH и добавлением фосфатного буфера с pH 8,2, затем проводили инкубацию субстрата с поджелудочным соком. В исследованиях без инкубации добавляли дистиллированную воду в эквивалентном объёмном количестве с потраченным раствором NaOH и соответствующим добавлением фосфатного буфера и раствора аравийской камеди. В качестве контроля брались показатели липолитической активности без добавления белков.

Статистическая обработка была проведена методом вариационной статистики с вычислением средних величин и их средних ошибок, определением коэффициента достоверности разности Стьюдента – Фишера (t). Статистически достоверными считали различия при $p < 0,05$ и менее.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты исследований показали, что при применении казеина в качестве эмульгатора, липолитическая активность значительно снижается при использовании его в концентрации 0,1% и это снижение активности продолжается с увеличением концентрации казеина до 0,4%, когда полностью отсутствует липолитическая активность и равна нулю (рисунок, А).

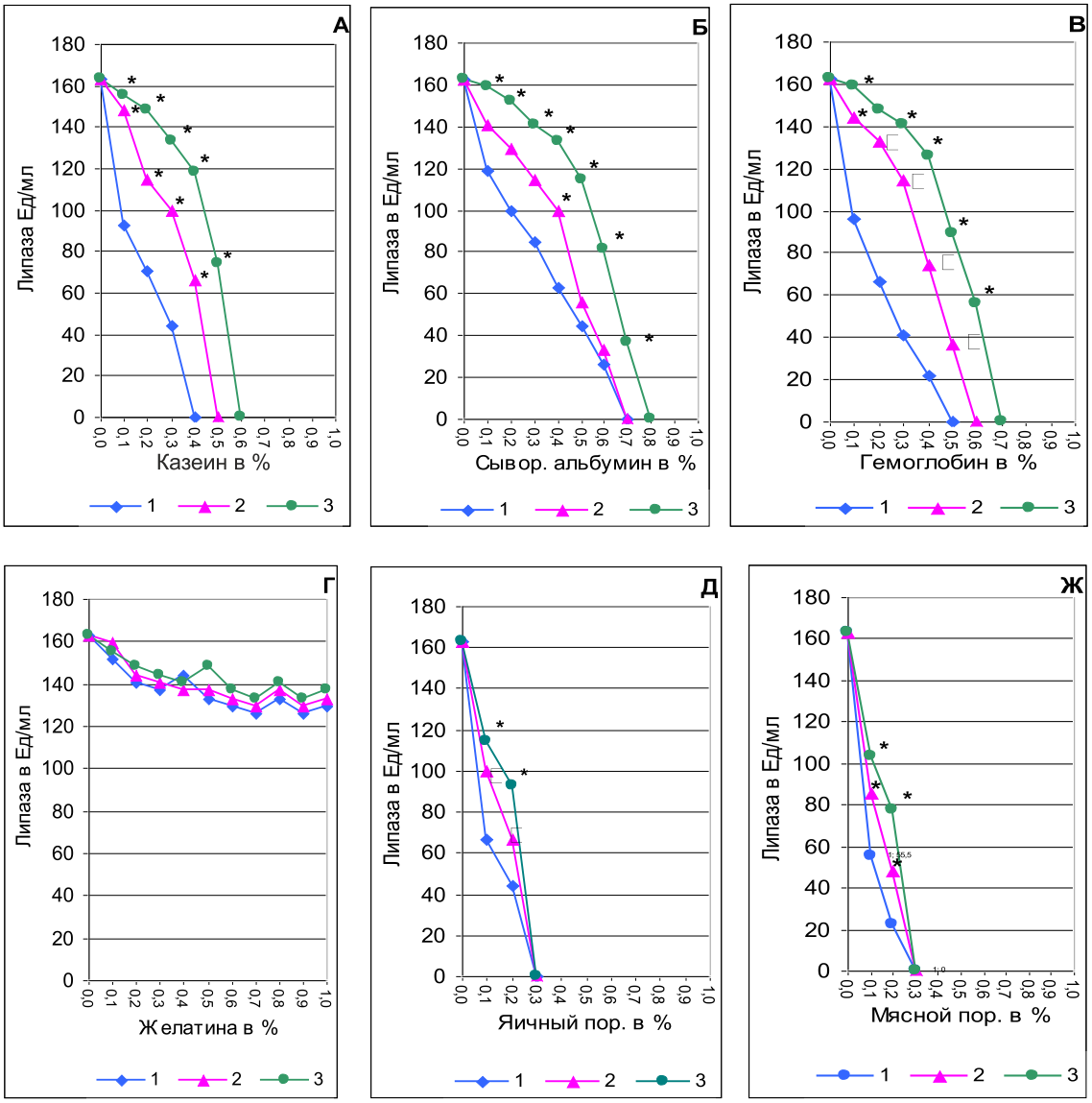
После предварительной 30-минутной инкубации (преинкубации) субстратов казеина различной концентрации с желудочным соком и дальнейшем использовании их в качестве эмульгаторов, липолитическая активность значительно, но недостоверно снижается при концентрации 0,1%, но этот показатель был достоверно выше, чем таковой без преинкубации с желудочным соком. Это снижение активности липазы продолжается с увеличением концентрации казеина до 0,5%, когда полностью отсутствует липолитическая активность и равна нулю. В то же время все показатели активности липазы были достоверно выше таковых показателей без преинкубации с желудочным соком (рисунок, А).

Подобная тенденция динамики изменения активности липазы с использованием в качестве эмульгатора казеина различной концентрации отмечалась и после 60-минутной преинкубации с желудочным соком. В то же время снижение активности липазы, до полного её отсутствия проявляется при концентрации казеина 0,6%. При этом все показатели липолитической активности после 60-минутной преинкубации с желудочным

соком были достоверно выше таковых показателей без преинкубации и выше таковых показателей после 30-минутной преинкубации с желудочным соком (рисунок, А).

В исследованиях при использовании сывороточного альбумина в качестве эмульгатора, липолитическая активность значительно снижается при использовании его, начиная с концентрации 0,1%, и это снижение активности продолжается с увеличением концентрации сывороточного альбумина до полного отсутствия липолитической активности при 0,7% концентрации (рисунок, Б).

После предварительной 30-минутной преинкубации субстратов сывороточного альбумина различной концентрации с желудочным соком и дальнейшем использовании их в качестве эмульгаторов, липолитическая активность постепенно снижается при увеличении концентрации сывороточного альбумина от 0,1% до полного отсутствия её при 0,7%. Эти показатели были недостоверно выше, чем таковые без преинкубации с желудочным соком, кроме достоверного показателя при концентрации сывороточного альбумина 0,4% (рисунок, Б).



*Влияние белков различной концентрации после гидролиза желудочным соком на активность липазы (x10³) поджелудочного сока. Примечание: 1 – без преинкубации с желудочным соком, 2 – после 30-минутной преинкубации с желудочным соком, 3 – после 60-минутной преинкубации с желудочным соком. * – достоверно отличающаяся величина по отношению к показателям без преинкубации с желудочным соком*

Аналогичная направленность изменения активности липазы с использованием в качестве эмульгатора сывороточного альбумина различной концентрации отмечалась и после 60-минутной преинкубации с желудочным соком. В то же время снижение активности липазы, до полного её отсутствия, проявляется при концентрации сывороточного альбумина 0,8 %. При этом все показатели липолитической активности после 60-минутной преинкубации с желудочным соком были достоверно выше таковых показателей без преинкубации и выше таковых показателей после 30-минутной преинкубации с желудочным соком (рисунок, Б).

Применение гемоглобина в качестве эмульгатора способствовало также значительному снижению липолитической активности при концентрации его 0,1 % и это снижение продолжается, с увеличением концентрации до полного отсутствия липолитической активности при концентрации 0,5 % (рисунок, В).

После предварительной 30-минутной преинкубации субстратов гемоглобина различной концентрации с желудочным соком и дальнейшем использовании их в качестве эмульгаторов, липолитическая активность постепенно снижается при увеличении концентрации гемоглобина от 0,1 % до полного отсутствия её при 0,6 %. Эти показатели были достоверно выше, чем таковые без преинкубации с желудочным соком (рисунок, В).

Похожая направленность изменения активности липазы с использованием в качестве эмульгатора гемоглобина различной концентрации отмечалась и после 60-минутной преинкубации с желудочным соком. В то же время снижение активности липазы, до полного её отсутствия, проявляется при концентрации гемоглобина 0,7 %. При этом все показатели липолитической активности после 60-минутной преинкубации с желудочным соком были достоверно выше таковых показателей без преинкубации и выше показателей после 30-минутной преинкубации с желудочным соком (рисунок, В).

Липолитическая активность в исследованиях с применением желатины в качестве эмульгатора, существенно не снижалась, при различных ее концентрациях от 0,1 % до 1 %, как без преинкубации, так и после 30- и 60-минутной преинкубации (рисунок, Г).

Применение яичного порошка в качестве эмульгатора способствовало более значительному снижению липолитической активности по сравнению с применением казеина, сывороточного альбумина и гемоглобина. Это снижение проявлялось при концентрации яичного порошка от 0,1 % и до полного отсутствия липолитической активности при 0,3 % концентрации (рисунок, Д).

После предварительной 30-минутной преинкубации субстратов яичного порошка различной концентрации с желудочным соком и дальнейшем использовании их в качестве эмульгаторов, липолитическая активность постепенно снижалась при концентрации яичного порошка от 0,1 % до полного отсутствия её при 0,3 %. Эти показатели были достоверно выше, чем таковые без преинкубации с желудочным соком (рисунок, Д).

С использованием в качестве эмульгатора яичного порошка различной концентрации после 60-минутной преинкубации с желудочным соком отмечалась похожая направленность изменения активности липазы. В то же время снижение активности липазы, до полного её отсутствия проявлялось при концентрации яичного порошка 0,3 %, такой же, как и без преинкубации. При этом все показатели липолитической активности после 60-минутной преинкубации с желудочным соком были достоверно выше таковых показателей без преинкубации и после 30-минутной преинкубации с желудочным соком (рисунок, Д).

Использование мясного порошка в качестве эмульгатора также способствовало более значительному снижению липолитической активности по сравнению с применением казеина, сывороточного альбумина и гемоглобина. При этом динамика изменения была подобна, но несколько ниже изменений с применением яичного порошка, Это снижение проявлялось так же при концентрации мясного порошка от 0,1 % и до полного отсутствия липолитической активности при 0,3 % концентрации (рисунок, Ж).

После предварительной 30-минутной преинкубации субстратов мясного порошка различной концентрации с желудочным соком и дальнейшем использовании их в качестве эмульгаторов, липолитическая активность постепенно снижалась при концентрации мясного порошка от 0,1 % до полного отсутствия её при 0,3 %, что было подобно применению яичного порошка, но с иной и более плавной динамикой. Эти показатели были достоверно выше, чем таковые без преинкубации с желудочным соком (рисунок, Ж).

С использованием в качестве эмульгатора яичного порошка различной концентрации после 60-минутной преинкубации с желудочным соком отмечалась похожая направленность изменения активности липазы. В то же время снижение активности липазы, до полного её отсутствия, проявлялось при концентрации яичного порошка от 0,1 % до 0,3 %. При этом все показатели

липолитической активности после 60-минутной преинкубации с желудочным соком были достоверно выше таковых показателей без преинкубации и выше таковых показателей после 30-минутной преинкубации с желудочным соком (рисунок, Ж).

Полученные данные показывают, что все исследованные белки, кроме желатины, обладают ингибирующим действием на липазу в составе панкреатического сока, степень ингибирующего действия у каждого белка выражена неодинаково. В наибольшей степени ингибирующая способность на липазу выражена у белков яичного и мясного порошка, в меньшей – сывороточного альбумина, а также казеина и гемоглобина. После 30-минутной и еще в большей мере после 60-минутной преинкубации с желудочным соком всех исследуемых белков, липолитическая активность панкреатического сока, по сравнению с показателями без преинкубации, достоверно повышалась, но неодинаково. При этом динамика изменения зависимости липолитической активности от концентрации белка была различной, то есть индивидуальной для каждого исследуемого белка. Эти результаты показывают, что желудочное переваривание белков снижает их способность ингибировать панкреатическую липазу в неодинаковой степени для различных белков. Также снижение ингибирования липазы различными белками зависит от переваривающей способности желудочного сока.

Выводы

Таким образом, можно заключить, что предварительный гидролиз белков пепсинами в желудке способствует не только дальнейшему улучшению гидролиза их под влиянием протеолитических ферментов поджелудочного сока, но также и гидролизу жиров под влиянием панкреатической липазы.

Список литературы

1. Chu B.S., Gunning A.P., Rich G.T., Ridout M.J., Faulks R.M., Wickham M.S., Wilde P.J. Adsorption of bile salts and pancreatic colipase and lipase onto digalactosyldiacylglycerol and dipalmitoylphosphatidylcholine monolayers. Langmuir. 2010. Vol. 26. № 12. P. 9782–9793.

2. Delorme V., Dhouib R., Canaan S., Fotiadu F., Carrière F., Cavalier J.F. Effects of surfactants on lipase structure, activity, and inhibition. Pharmaceutical research. 2011. Vol. 28. № 8. P. 1831–1842.

3. McClements D.J., Decker E.A., Park Y., Weiss J. Structural design principles for delivery of bioactive components in nutraceuticals and functional foods. Critical reviews in food science and nutrition. 2009. Vol. 49. No. 6. P. 577–606.

4. Hur S.J., Decker E.A., McClements D.J. Influence of initial emulsifier type on microstructural changes occurring in emulsified lipids during in vitro digestion. Food Chemistry. 2009. Vol. 114. No. 1. P. 253–262.

5. Lesmes U., Baudot P., McClements D.J. Impact of interfacial composition on physical stability and in vitro lipase digestibility of triacylglycerol oil droplets coated with lactoferrin and/or caseinate. Journal of agricultural and food chemistry. 2010. Vol. 58. No. 13. P. 7962–7969.

6. Li Y., McClements D.J. Inhibition of lipase-catalyzed hydrolysis of emulsified triglyceride oils by low-molecular weight surfactants under simulated gastrointestinal conditions // European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics. 2011. Т. 79. № 2. С. 423–431.

7. Gargouri Y., Julien R., Pieroni G., Verger R., Sarda L. Studies on the inhibition of pancreatic and microbial lipases by soybean proteins. J. Lipid. Res. 1984 Nov. № 25 (11). P. 1214–1221.

8. Vinarov Z., Petkova Y., Tcholakova S., Denkov N., Stoyanov S., Pelan E., Lips A Effects of emulsifier charge and concentration on pancreatic lipolysis. 1. In the absence of bile salts Langmuir. 2012. № 28 (21). P. 8127–8139.

9. Speranza A., Corradini M.G., Hartman T.G., Ribnicky D., Oren A., Rogers M.A. Influence of emulsifier structure on lipid bioaccessibility in oil-water nanoemulsions. J. Agric. Food Chem. 2013. Vol. 61. No. 26. P. 6505–6515.

10. Курзанов А.Н. Метод определения липолитической активности биологических жидкостей // Лаб. дело. 1975. № 12. С. 746–747.