

**О РОЛИ ПЕПСИНА В ПЕРЕВАРИВАНИИ ЖИРОВ****Алейник В.А., Бабич С.М.**

Андижанский государственный медицинский институт

**ABOUT ROLE OF PEPSIN IN LIPIDS' DIGESTION****Aleynik V.A., Babich S.M.**

Andijan state medical institute

**ЁҒЛАРНИ ХАЗМ ҚИЛИШДА ПЕПСИННИНГ АХАМИЯТИ****Алейник В.А., Бабич С.М.**

Андижон давлат тиббиёт институти

**РЕЗЮМЕ**

В работе были исследованы желудочный и поджелудочный соки, полученные в хронических экспериментах у собак при тощакковой секреции, с целью изучить способность пепсина изменять ингибирование белками панкреатической липазы и улучшать перевариваемость жиров. В результате исследования установлено, что предварительный гидролиз белков пепсинами в желудке способствует не только дальнейшему гидролизу их под влиянием протеолитических ферментов поджелудочного сока, но также и гидролизу жиров под влиянием панкреатической липазы.

**Ключевые слова:** панкреатическая липаза, пепсин, переваривание жиров, протеолитические ферменты.

**SUMMARY**

In chronic experiments on dogs gastric and pancreatic juices of basal secretion were studied to reveal the ability of pepsin to change pancreatic lipase inhibition by proteins and to increase lipids' digestion. Results of investigation showed that preliminary hydrolysis of proteins by pepsins in the stomach promotes not only better further hydrolysis of them by proteolytic enzymes of pancreatic juice, but also hydrolysis of lipids by pancreatic lipase.

**Key words:** pancreatic lipase, pepsin, lipids' digestion, proteolytic enzymes.

**ХУЛОСА**

Оксиллар панкреатик липазани ингибиторлаш хусусиятига пепсининг тасирини ўрганиш мақсадида итларда утказилган сурункали тажрибада базал секрециядаги меъда ва панкреатик шира ўрганилди. Натижада куйидаги аниқ бўлди, пепсин ёрдамида оксилларнинг бошланғич гидролизини нафақат ошқозон ости беги ширасида уларнинг кейинги гидролизини кучайтиради, балки панкреатик липаза ёрдамида ёғлар гидролизига ҳам кўмаклашади.

**Калит сўзлар:** панкреатик липаза, пепсин, ёғларни хазм қилишда, протеолитик ферментлар.

Переваривание жиров является достаточно сложным процессом, несмотря на, казалось бы, всю его простоту. Участие в этом процессе липазы, желчных кислот, колипазы и пищевых белков изучены достаточно подробно [4,5,7,8,9,10].

Влияние пищевых белков на гидролиз жира в просвете кишечника остается сложным для оценки. Предполагается, что в естественных условиях поверхностно-активные белки, взаимодействуя с липидами, могут повлиять на липолиз триглицеридов, в частности при низкой концентрации желчных солей [3,15, 16].

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 взаимодействовать с липидами и изменять качество раздела вода/жир, оно не вызвано прямым взаимодействием белка с ферментом [7,8,9,10,17].

Ингибирование активности липазы белками это общее явление, которое проявляется в отсутствии

колипазы и солей желчных кислот. Ингибирование существенно не восстанавливается посредством колипазы в отсутствие 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 [15]. После гидролиза пепсинами белков в желудке и образовании из них полипептидов со значительно меньшей молекулярной массой, теряется возможность к адсорбции на границе вода/жир и способность к ингибированию панкреатической липазы. Тем не менее, было показано, что гидролизат гемоглобина ингибирует активность липазы по сравнению с гидролизатами казеина в исследовании in vitro [11].

Также белки могут адсорбировать соли желчных кислот, а переваривание белков пепсином уменьшает связывающую способность их с солями

желчных кислот по сравнению с непереваренными образцами [6, 12, 13]. Однако гидролизаты некоторых белков имеют более высокую связывающую способность с солями желчных кислот, чем сам белок [11].

Таким образом, белки могут оказывать отрицательное влияние на гидролиз жира в просвете кишечника при пониженной протеолитической активности желудочного сока и при снижении общей концентрации жирных кислот, 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 пепсина изменять ингибирование белками панкреатической липазы и улучшать перевариваемость жиров.

**Материал и методы.** В работе были исследованы желудочный и поджелудочный соки, полученные в хронических экспериментах у собак при тощакковой секреции. В желудочном и поджелудочном соках определялась общая протеолитическая активность (ОПА) [2] с использованием моноsubstrата казеина (КАЗ) и полиsubstrата (ПС), состоящего из смеси крахмала, трибутирина и казеина, амилолитическая активность [14] - с использованием моноsubstrата крахмала (КР) и полиsubstrата (ПС), липолитическая активность [1] - с использованием моноsubstrата трибутирина (ТБ) и полиsubstrата (ПС).

Исследования ОПА, липолитической и амилолитической активности проводили после 30 минутной инкубации с субстратами в следующих вариантах: 1 - желудочный сок с КАЗ, КР, ТБ, ПС; 2 - поджелудочный сок с КАЗ, КР, ТБ, ПС; 3 - поджелудочный сок с желчью, разбавленной дистиллированной водой в соотношении 1:2 и КАЗ, КР, ТБ, ПС; 4 - поджелудочный сок после предварительной 1,5 часовой инкубации желудочного сока с КАЗ, КР, ТБ и ПС; 5 - поджелудочный сок с КАЗ, КР, ТБ и ПС после предварительной 1,5 часовой инкубации их с желудочным соком, с добавлением раствора желчи и дополнительно 30 минутной инкубацией.

**Результаты и их обсуждение.** Результаты исследований показали, что ОПА желудочного сока с применением моноsubstrата КАЗ составляла  $32,8 \pm 2,9$  ед/мл $\times 10^2$  (рис. 1), с применением полиsubstrата ПС она достоверно снижалась до  $25,4 \pm 2,7$  ед/мл $\times 10^2$ . При этом ОПА поджелудочного сока с применением КАЗ была достоверно выше по отношению к показателям желудочного сока и составляла  $48,2 \pm 5,2$  ед/мл $\times 10^2$  ( $P < 0,05$ ), с применением ПС она также была достоверно выше и составляла  $37,9 \pm 3,5$  ед/мл $\times 10^2$  ( $P < 0,05$ ). Показатели ОПА поджелудочного сока по КАЗ в сравнении с показателями по ПС существенно не отличались.

ОПА поджелудочного сока с добавлением раствора желчи как с КАЗ, так и с ПС по сравнению с таковыми показателями без добавления желчи существенно не отличалась, но показатели были достоверно выше относительно показателей ОПА желудочного сока и составляли с КАЗ  $51,2 \pm 4,6$  ед/мл $\times 10^2$ , с ПС -  $47,4 \pm 5,1$  ед/мл $\times 10^2$  ( $P < 0,001$ ). При исследовании ОПА поджелудочного сока как с КАЗ, так и с ПС с предварительной инкубацией в течение 1,5 час с желудочным соком было отмечено значительное достоверное увеличение её показателей по сравнению с таковыми значениями без предварительной инкубации с желудочным соком и составляла с КАЗ -  $87,8 \pm 9,1$  ед/мл $\times 10^2$ , с ПС -  $79,6 \pm 7,5$  ед/мл $\times 10^2$  ( $P < 0,001$ ). ОПА поджелудочного сока с добавлением раствора желчи, а также с предварительной инкубацией КАЗ и ПС в течение 1,5 час с желудочным соком была также значительно и достоверно выше по сравнению с таковыми показателями без предварительной инкубации с желудочным соком и составляла с КАЗ -  $96,1 \pm 10,3$  ед/мл $\times 10^2$ , с ПС -  $91,3 \pm 7,9$  ед/мл $\times 10^2$  ( $P < 0,001$ ), и эти показатели незначительно были выше значений поджелудочного сока с инкубацией, но без раствора желчи.

Результаты исследований активности липазы желудочного сока показали, что с применением моноsubstrата ТР активность липазы была незначительная и составляла  $1,6 \pm 0,21$  ед/мл $\times 10^5$ , с применением ПС она также была незначительная и достоверно снижалась до  $0,9 \pm 0,12$  ед/мл $\times 10^5$  ( $P < 0,001$ ). Липолитическая активность поджелудочного сока с применением ТР была достоверно существенно выше по отношению к таковым показателям желудочного сока и составляла  $10,4 \pm 0,9$  ед/мл $\times 10^5$  ( $P < 0,001$ ), с применением ПС она практически отсутствовала.

Липолитическая активность поджелудочного сока с ТР и добавлением желчи была достоверно выше, чем аналогичные показатели без добавления желчи и составляла  $14,2 \pm 1,3$  ед/мл $\times 10^5$ , с ПС, по сравнению с показателями без добавления желчи, была достоверно значительно выше и составляла  $9,5 \pm 0,1$  ед/мл $\times 10^5$  ( $P < 0,001$ ).

Активность липазы поджелудочного сока с ТР после предварительной инкубации в течение 1,5 час с желудочным соком составляла  $11,7 \pm 1,2$  ед/мл $\times 10^5$ , что незначительно выше по сравнению с показателями только поджелудочного сока и недостоверно ниже по сравнению с показателями поджелудочного сока с раствором желчи ( $P > 0,05$ ). При этом липолитическая активность поджелудочного сока с ПС, предварительно инкубированного в течение 1,5 часов с желудочным соком, составляла  $8,7 \pm 0,6$  ед/мл $\times 10^5$ , что значительно выше по сравнению с показателями только поджелудочного сока и незначительно ниже по сравнению с показателями поджелудочного сока с раствором желчи ( $P > 0,05$ ).

Липолитическая активность поджелудочного сока с ТР, предварительно инкубированным в течение 1,5 час с желудочным соком, и добавлением раствора желчи составляла  $16,8 \pm 1,4$  ед/мл $\times 10^5$

( $P < 0,001$ ). Что достоверно выше по сравнению с показателями только поджелудочного сока и недостоверно выше по сравнению с показателями поджелудочного сока с раствором желчи, а также достоверно выше показателей с предварительной инкубацией ТР в течение 1,5 часов с желудочным соком ( $P < 0,05$ ). При этом липолитическая активность поджелудочного сока с ПС, предварительно инкубированным в течение 1,5 часов с желудочным соком, и добавлением раствора желчи составляла  $15,3 \pm 1,3$  ед/мл  $\times 10^5$  ( $P < 0,001$ ), что достоверно выше по сравнению с показателями только поджелудочного сока, а также показателями поджелудочного сока с раствором желчи, и показателей с предварительной инкубацией ПС в течение 1,5 час с желудочным соком.

При исследовании амилазы было установлено, что в желудочном соке с применением как моноsubstrата КР (рис. 3), так и ПС амилаолитическая активность отсутствовала. Амилаолитическая активность поджелудочного сока с применением КР составляла  $15,1 \pm 1,2$  ед/мл  $\times 10^2$ , с применением ПС она была недостоверно ниже в сравнении с применением КР и составляла  $12,0 \pm 1,1$  ед/мл  $\times 10^2$  ( $P > 0,05$ ). Амилаолитическая активность поджелудочного сока с добавлением раствора желчи как с КР, так и с ПС по сравнению с таковыми показателями без добавления желчи была достоверно ниже и составляла: с КР –  $11,5 \pm 0,7$  ед/мл  $\times 10^2$ , с ПС –  $7,8 \pm 0,6$  ед/мл  $\times 10^2$  ( $P < 0,001$ ).

При изучении амилаолитической активности поджелудочного сока с предварительной инкубацией КР, и ПС в течение 1,5 час с желудочным соком было отмечено достоверное увеличение её показателей по сравнению с таковыми значениями без предварительной инкубации с желудочным соком и составляла с КР –  $17,1 \pm 1,5$  ед/мл  $\times 10^2$ , с ПС –  $13,4 \pm 1,4$  ед/мл  $\times 10^2$  ( $P < 0,001$ ).

Амилаолитическая активность поджелудочного сока с добавлением раствора желчи, а также с предварительной инкубацией КР и ПС в течение 1,5 час с желудочным соком в обеих сериях была недостоверно ниже по сравнению с таковыми показателями без добавления раствора желчи и незначительно выше без добавления раствора желчи и без предварительной инкубации с желудочным соком и составляла с КР –  $13,7 \pm 1,0$  ед/мл  $\times 10^2$ , с ПС –  $11,8 \pm 1,2$  ед/мл  $\times 10^2$  ( $P > 0,05$ ).

**Обсуждение результатов.** Полученные данные о достоверно более высокой ОПА поджелудочного сока, как с моноsubstrатом, так и с полиsubstrатом по сравнению с желудочным соком, имеют низкую сопоставимую оценку, так как зависят от индивидуальной особенности этой активности у животного. Видно, что желчь существенно не влияет на ОПА поджелудочного сока, как с моноsubstrатом, так и с полиsubstrатом по сравнению с результатами без добавления желчи. Предварительная инкубация с желудочным соком, как с использованием моноsubstrата, так и полиsubstrата, значительно увеличивает ОПА поджелудочного сока, что объясняется увеличением

атакуемости и улучшением переваривающей способности белка. Предварительная инкубация с желудочным соком и добавлением раствора желчи, как с использованием моноsubstrата, так и полиsubstrата существенно не влияет на ОПА поджелудочного сока, по сравнению с подобными данными без добавления желчи. Незначительное снижение ОПА с использованием полиsubstrата по сравнению с моноsubstrатом связано с более сложным доступом фермента к своему substrату.

Выявленная незначительная липолитическая активность желудочного сока как с моноsubstrатом ТР, так и с полиsubstrатом очевидно связана с проявлением желудочной липазы, действующей в кислой среде. Выраженная липолитическая активность поджелудочного сока с моноsubstrатом ТР и отсутствие её с применением полиsubstrата, показывает, что белок казеин ингибирует панкреатическую липазу за счет более высокой конкурентной адсорбции его на поверхности жировых капель и десорбции липазы. Увеличение липолитической активности поджелудочного сока с моноsubstrатом ТР и добавлением раствора желчи связано с тем, что желчь способствует увеличению эмульгируемости substrата за счет чего увеличивается поверхность раздела вода/жир, а так же образованию тройного комплекса – липаза-колипаза-желчные кислоты, всё это содействует более высокой адсорбции липазы на поверхности жировых капель и повышению её гидролитической активности. Выраженное проявление липолитической активности поджелудочного сока с полиsubstrатом при добавлении раствора желчи, по сравнению с таковыми показателями без добавления её, связано с десорбцией казеина, обладающего более высокой конкурентной адсорбцией по сравнению с липазой, и открытием доступа липазы к жировым каплям. Более значимому увеличению липолитической активности мешает то, что часть желчи может адсорбироваться казеином. Предварительная инкубация с желудочным соком моноsubstrата ТР, незначительно увеличивает липолитическую активность поджелудочного сока по сравнению с таковыми результатами без инкубации, за счет суммации активности желудочной и поджелудочной липазы. Существенное увеличение липолитической активности поджелудочного сока выявлено после предварительной инкубации полиsubstrата ПС с желудочным соком, по сравнению с таковыми результатами без инкубации, что связано с гидролизом белка казеина и образованием полипептидов, обладающих меньшей конкурентной адсорбцией, чем белок казеин и фермент липаза, за счет чего увеличивается доступ липазы к жировым каплям.

Значительное увеличение липолитической активности поджелудочного сока после предварительной инкубации с желудочным соком моноsubstrата ТР и добавлением раствора желчи, как по сравнению с таковыми результатами без инкубации, так и с инкубацией происходит за счет суммации активности желудочной и поджелудочной

липазы, а также повышения эмульгируемости субстрата TP, увеличения поверхности раздела вода/жир, и образования тройного комплекса – липаза-колипаза-желчные кислоты, что способствует более высокой адсорбции липазы на поверхности жировых капель.

Предварительная инкубация с желудочным соком ПС и добавлением раствора желчи, значительно увеличивает липолитическую активность поджелудочного сока по сравнению с результатами, как без инкубации, так и с инкубацией без желчи. Во-первых, это происходит за счет суммации активности желудочной и поджелудочной липазы, во-вторых, за счет увеличения эмульгируемости субстрата и увеличения поверхности раздела вода/жир, а так же образования тройного комплекса – липаза-колипаза-желчные кислоты, что содействует более высокой адсорбции липазы на поверхности жировых капель. В-третьих, связано с гидролизом белка казеина и образованием полипептидов, с одной стороны, обладающих меньшей конкурентной адсорбцией, чем белок казеин и фермент липаза, за счет чего увеличивается доступ липазы к жировым каплям, и с другой стороны, полипептиды не адсорбируют желчные кислоты в отличие от казеина, который, за счет адсорбции желчных кислот, может снижать активность липазы. Все это создает наиболее оптимальные условия для гидролитической активности липазы с полисубстратом, это важно ещё и потому, что все пищевые продукты, употребляемые человеком, являются полисубстратами.

Амилолитическая активность желудочного сока, как с моносубстратом, так и с полисубстратом отсутствовала, так как не проявляется в кислой среде. В поджелудочном соке она имела достаточно высокие показатели, но недостоверно ниже с полисубстратом, чем с моносубстратом КР в связи с более сложным доступом к своему субстрату. Примечательно, что желчь достоверно снижает амилолитическую активность поджелудочного сока, как с моносубстратом, так и с полисубстратом по сравнению с результатами без добавления желчи. Предварительная инкубация с желудочным соком, как с использованием моносубстрата, так и полисубстрата несущественно увеличивает амилолитическую активность поджелудочного сока по сравнению с данными без инкубации. В этих же условиях добавление раствора желчи недостоверно снижало амилолитическую активность.

Так как все пищевые продукты, употребляемые человеком, являются полисубстратами, то в свете представленных данных становится очевидной необходимость проведения исследований по определению ферментативной активности с применением различных по составу полисубстратов. Так как имеется взаимное влияние субстратных компонентов друг на друга, воздействие компонентов секретов пищеварительных желез на субстраты, а так же зависимость последовательности действия ферментов на различные субстраты. Это может изменять в ту или

иную сторону перевариваемость пищевых продуктов, при нарушении секреторной и ферментовыделительной деятельности пищеварительных желез.

## 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. Этот факт, возможно, является более важным для гидролитической функции пепсинов желудка и главным эволюционным фактором предварительного переваривания белков в желудке.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Курзанов А.Н. Метод определения липолитической активности биологических жидкостей//Лаб.дело.- 1975.-№12.- С.746-747.
2. Нортроп Д., Кунитц М., Херриот Р. Кристаллические ферменты.- М.-Л., 1950.- 347 с.
3. Amir Malaki Nik, Amanda J. Wright, Milena Corredig Impact of interfacial composition on emulsion digestion and rate of lipid hydrolysis using different *in vitro* digestion models Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2011, 83, 2: 321–330.
4. Bläckberg L, Hernell O., Bengtsson G., Olivecrona T. Colipase enhances hydrolysis of dietary triglycerides in the absence of bile salts. J Clin Invest. Nov 1979; 64(5): 1303–1308.
5. Boon-Seang Chu, A. Patrick Gunning, Gillian T. Rich et al. Adsorption of Bile Salts and Pancreatic Colipase and Lipase onto Digalactosyldiacylglycerol and Dipalmitoylphosphatidylcholine Monolayers //Langmuir, 2010, 26 (12), pp 9782–9793.
6. Chockry Barbana; Anne Claire Bouche; Joyce Irene Boye In vitro binding of bile salts by lentil flours and protein concentrates and their hydrolysates// Food Research International, 2011, 44(1),174-180.
7. Gargouri Y, Julien R, Sugihara A, Verger R, Sarda L Inhibition of pancreatic and microbial lipases by proteins// Biochim Biophys Acta. 1984, Sep 12; 795(2): 326-31.
8. 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):1214-21.
9. Gargouri Y, Pieroni G, Rivière C, Sugihara A, Sarda L, Verger R. Inhibition of lipases by proteins. A kinetic study with dicaprin monolayers. J Biol Chem. 1985 Feb 25; 260(4):2268-73.
10. Gargouri Y, Piéroni G, Rivière C, Sarda L, Verger R. Inhibition of lipases by proteins: a binding study using dicaprin monolayers. Biochemistry. 1986 Apr 8;25(7):1733-8.

11. Hosomi R, Fukunaga K, Nishiyama T, Yoshida M. Effects of porcine hemoglobin on serum lipid content and fecal lipid excretion in rats// *J. Med. Food.* 2014;17(3):302-9.
12. Jauricque Ursulla Kongo-Dia-Moukala, Hui Zhang and Irakoze Pierre Claver In Vitro Binding Capacity of Bile Acids by Defatted Corn Protein Hydrolysate *Int. J. Mol. Sci.* 2011, 12, 1066-1080.
13. Lanzini, A.; Fitzpatrick, W. J. F.; Pigozzi, M. G.; Northfield, T. C., 1987: Bile acid binding to dietary casein: a study in vitro and in vivo// *Clinical Science* 73(4): 343-350.
14. Smitt B.W., Roe I.H. Photometric method for determination of amylase in blood and urine, With use of starch-jodine color // *J. Biol. Chem.* - 1949.- 179, 53.
15. 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, pp. 6505-6515.
16. Tim J. Wooster, Li Day, Mi Xu, Matt Golding, Sofia Oiseth, Jennifer Keogh, Peter Clifton Impact of different biopolymer networks on the digestion of gastric structure demulsions// *Food Hydrocolloids*, 2014, 36, Complete 102-114.
17. Zahari Vinarov, Yana Petkova, Slavka Tcholakova, Nikolai Denkov, Simeon Stoyanov, Edward Pelan, Alex Lips Effects of emulsifier charge and concentration on pancreatic lipolysis. 1. In the absence of bile salts *Langmuir* 2012 , 28 (21), 8127-8139.



