

ДЖАЛАЛОВА ОЗОДА КАСИМЖАНОВНА

**ЖЕЛУДОЧНЫЙ ГИДРОЛИЗ БЕЛКОВ КАК ФАКТОР СНИЖЕНИЯ
ИНГИБИРОВАНИЯ ПАНКРЕАТИЧЕСКОЙ ЛИПАЗЫ И УЛУЧШЕНИЯ
ПЕРЕВАРИВАНИЯ ЖИРОВ**

(Монография)



ТАШКЕНТ – 2022

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН

«УТВЕРЖДАЮ»

Начальник Управления науки
и образования д.м.н., профессор



У.С.Исмаилов

2022 г.

Джалалова О.К.

**ЖЕЛУДОЧНЫЙ ГИДРОЛИЗ БЕЛКОВ КАК ФАКТОР СНИЖЕНИЯ
ИНГИБИРОВАНИЯ ПАНКРЕАТИЧЕСКОЙ ЛИПАЗЫ И УЛУЧШЕНИЯ
ПЕРЕВАРИВАНИЯ ЖИРОВ**

(монография)



Ташкент – 2022 г.

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН

«УТВЕРЖДАЮ»

Начальник управления науки
и образования д.м.н., профессор

_____Исмаилов У.С.

«__» _____ 2022 г.

ДЖАЛАЛОВА ОЗОДА КАСИМЖАНОВНА

ЖЕЛУДОЧНЫЙ ГИДРОЛИЗ БЕЛКОВ КАК ФАКТОР СНИЖЕНИЯ
ИНГИБИРОВАНИЯ ПАНКРЕАТИЧЕСКОЙ ЛИПАЗЫ И УЛУЧШЕНИЯ
ПЕРЕВАРИВАНИЯ ЖИРОВ

(Монография)

ТАШКЕНТ – 2022

УДК: 612.397.3-577.153

Составитель:

Джалалова Озода Косимжановна - доцент кафедрой патологической физиологии, Андижанского государственного медицинского института.

Рецензенты:

Кадиров Ш.К. - профессор кафедры нормальной физиологии, Андижанского медицинского института, д.м.н.

Сайфуллаева С.А.- руководитель отдела биологических и иммунологических исследований МНИЛ Ташкентской медицинской академии

Данная монография рекомендована к печати научным советом Андижанского государственного медицинского института от ____
_____ 2022 года. Протокол № ____

Аннотация

Данная монография была одной из первых в Узбекистане по изучению и применению в медицинской практике с точки зрения патогенеза нарушений переваривания жиров у больных с ферментативной недостаточностью желудочно-кишечного тракта, илеоэктомией и панкреатической недостаточностью. На основании результатов клинических исследований была написана усовершенствованная до нозологическая диагностика этого заболевания и модифицированная система профилактики, которая может быть широко использована в масштабах всей страны. Данная монография важна не только для магистров и стажеров, но и для отрасли фармацевтической промышленности.

Аннотация

Ушбу монография Ўзбекистонда биринчилардан бўлиб ошқозон ичак тизимининг ферментатив етишмовчилиги, илеоэктомия ва ошқозон ости беши етишмовчилиги билан хасталанган беморларда ёғларни хазм бўлиши бузилишининг патогенетик нуқтаи назардан ўрганилиб тиббий амалиётга тадбиқ этилди. Шу асосда мазкур касалликни такомиллашган доназологик диагностикаси ва умумдавлат миқёсида кенг қўлланилиши мумкин бўлган профилактикасининг ўзгартирилган тизими бўйича олиб борилган клиник тадқиқод натижалари асосида ёзилган. Ушбу монография нафақат магистр ва ординаторлар, фармацевтика саноатида саноати учун ҳам муҳимдир.

Annotation

This monograph was one of the first in Uzbekistan to be studied and used in medical practice in terms of the pathogenesis of fat digestion disorders in patients with enzymatic insufficiency of the gastrointestinal tract, ileectomy and pancreatic insufficiency. Based on the results of clinical studies, an improved pre-nosological diagnosis of this disease and a modified prevention system were written, which can be widely used

throughout the country. This monograph is important not only for masters and trainees, but also for the pharmaceutical industry.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	7
.....	7
ГЛАВА I. МЕХАНИЗМЫ ГИДРОЛИЗА БЕЛКОВ И ЖИРОВ В ВЕРХНЕМ ОТДЕЛЕ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА.....	8
§1.1. Гидролиз белков пепсинами в желудке.....	8
§1.2. Гидролиз белков панкреатическими протеазами.....	12
§1.3. Гидролиз жиров панкреатической липазой и роль в этом желчных кислот.....	19
§1.4. Взаимодействие белков и их гидролизатов с жирами, желчными и жирными кислотами.....	24
ГЛАВА II. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	32
§2.1. Экспериментальный материал.....	32
§2.2. Методы экспериментальных исследований.....	38
§2.3. Статистические методы.....	39
ГЛАВА III. ЖЕЛУДОЧНЫЙ ГИДРОЛИЗ БЕЛКОВ В УЛУЧШЕНИИ ПЕРЕВАРИВАНИЯ ЖИРОВ И БЕЛКОВ ПОДЖЕЛУДОЧНЫМ СОКОМ	40
§3.1. Изменение липолитической активности поджелудочного сока под влиянием различных белков использованных в качестве эмульгаторов трибутирина и подсолнечного масла	41

§3.2.Изменение липолитической активности поджелудочного сока под влиянием различных белков использованных в качестве эмульгаторов трибутина и подсолнечного масла в присутствия желчи.....	46
§3.3.Влияние взаимодействия различных белков с желчными кислотами на протеолитическую активность поджелудочного соков..	54
§3.4.Эффекты взаимодействия белков с жирными кислотами на протеолитическую активность поджелудочного сока.....	57
§3.5.Изменение протеолитической активности поджелудочного сока под влиянием трибутина и подсолнечного масла в составе белково-жировых эмульсий.....	61
§3.6.Изменение протеолитической активности поджелудочного и желудочного соков в зависимости от концентрации жиров, в составе белково-жировых эмульсий.....	68
§3.7.Эффекты влияния продуктов гидролиза жиров на протеолитическую активность желудочного и поджелудочного соков.....	74
.....	74
ГЛАВА IV. ВЛИЯНИЕ ГИДРОЛИЗАТОВ, БЕЛКОВ, ПОЛУЧЕННЫХ ПОД ВЛИЯНИЕМ ЖЕЛУДОЧНОГО И ПОДЖЕЛУДОЧНОГО СОКА, НА ЛИПИДЕМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ.....	80
§4.1 Влияние гидролизатов, казеина, полученных под влиянием желудочного и поджелудочного сока, на	82

липидемические показатели	
крови.....	
§4.2 Влияние гидролизатов, гемоглобина, полученных под влиянием желудочного и поджелудочного сока, на липидемические показатели	
крови.....	88
§4.3 Влияние гидролизатов, желатина, полученных под влиянием желудочного и поджелудочного сока, на липидемические показатели	
крови.....	93
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	100
ВЫВОДЫ.....	113
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	115
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	116

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ОПА	общая протеолитическая активность
NaC	холат натрия
NaTC	таурохолат натрия
NaGDC	гликодезоксихолата натрия
WPC	сывороточный белок
SCN	казеинат натрия
Leu	лейцин

Lys лизин	1
β -lacas1-казеин	1
β -LG β -лактоглобулин	1
β -CN β -казеин	1
PXR рецептор прегнана X	1
CAR рецептор андростана	1
CYP7 A17 α -гидроксилаза	1
CYP8 B1стерол-12 α -гидроксилазой	1
CYP 27A1стерол-27-гидроксилазой	1
FXR фарнезоидный рецептор X	1
ССК холецистокинин	1
Pg пепсиноген	1

ВВЕДЕНИЕ

Во всем мире заболевания связанные с жировым обменом становятся одной из актуальных проблем. По данным Всемирной организации здравоохранения сердечно-сосудистые заболевания, гипертония, рак, сахарный диабет, заболевание желчного пузыря, эндокринные и метаболические нарушения, остеоартроз, подагра, болезни легких и психологические расстройства как все имеющие причинно-следственную связь с нарушением функции желудочно-кишечного тракта всасыванием жиров. Кроме этого ряд факторов,

что факторы окружающей среды, образ жизни и изменения качества продуктов питания приводит к заболеваниям желудочно-кишечной системы способствующие нарушения процессов всасывания жиров [175, с. 24-25]. Несмотря на успехи в лечении нарушений расщепления и всасывания жиров, это становится одной из самых актуальных проблем практической и фундаментальной медицины.

Во всем мире проводятся целевые научные исследования по изучению контроля замедления или ускорения всасывания жиров из желудочно-кишечного тракта в кровь, процессов обмена жиров в просвете кишечника. В связи с этим ведутся исследования по приоритетным направлениям по сравнительному изучению действия на всасывания жиров расщепленных белков под действием желудочного сока связываясь с желчью, действие гидролизированных белков в связывании с жирными кислотами на переваривания белков в кишечнике, степень всасывания жиров под действием желудочного и поджелудочного сока.

ГЛАВА 1. МЕХАНИЗМЫ ГИДРОЛИЗА БЕЛКОВ И ЖИРОВ В ВЕРХНЕМ ОТДЕЛЕ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА

§1.1. Гидролиз белков пепсинами в желудке.

Большое значение для тонкого кишечного пищеварения имеет деградация нутриентов желудочного содержимого. Начальная трансформация полимеров в желудке повышает расщепляемость нутриентов панкреатическими и кишечными гидролитическими ферментами. Процесс секреции желудочных и поджелудочной желез, скорость эвакуации антрального содержимого в двенадцатиперстную кишку и транзит по ней химуса, желчеобразования и желчевыделения регулируется кислым содержимым желудка и продуктами начального гидролиза пищевых белков [5, с. 17-22; 45, с. 22-25; 44, с. 22-32; 140, с. 55-59; 141, с. 536-542].

Париетальные (обкладочные или главные) glanduloциты обеспечивают секрецию - HCl, главные - продуценты пепсиногенов и добавочные - продуценты мукоидов [5, с. 17-22].

Наличие HCl в желудочном соке придает последнему высокую кислотность (0,3-0,5% HCl). HCl имеет пищеварительные и не пищеварительные эффекты [5, с. 17-22].

Главные клетки желудочных желез человека синтезируют несколько изоформ пепсиногенов, основных двух групп: Pgl и PglI [5 с. 17-22, 151 с. 1-5, 145 с. 85-90]. Первая имеет 7, вторая - 2 изоформы. Поскольку скорость реакции в прямую зависит от кислотности среды. По этой причине в кислой среде ($pH < 5,4$) пепсиногены переводятся в изопепсины (до 12 изоформ). Они различаются по градиентности молекулярной массы, электрофоретической подвижности, оптимальности pH протеолитической активности и субстратной

специфичности, условий инактивации. Внутрижелудочный гидролиз белков в широком диапазоне pH обеспечивается несколькими изопепсинами [7, 249-253; 140, с. 58-61; 142, с. 264-268].

Мукоцитами поверхностного эпителия, шейки фундальных и пилорических желез вырабатывают мукоиды желудочного сока. Мукоиды образуют тонкий слой слизи, выполняющий роль защитного барьера от пепсина и HCl [4, с. 12-16]. Секреция желудочных желез протекает в трех фазах [5, с. 17-22; 44, с. 22-25]. Первая фаза запускается пусковым стимулирующим влиянием акта еды и пищи с дистантных и контактных рецепторов на железы желудка посредством эфферентов блуждающих нервов и их нейротрансмиттеров. Гастроинтестинальный механизм участвует в стимуляции выработки: релизинг гастрин из антральных G-клеток производится вагусными нейротрансмиттерами: гастрин-релизинг пептидом и ацетилхолином [44, с. 22-25]. Данные механизмы стимулируют секрецию пепсиногенов главными и HCl обкладочными клетками через их мембранные рецепторы нейротрансмиттеров, регуляторных пептидов и аминов [141, с. 536-542]. Начальной фазой составляет 30-40% общего объема постпрандиальной секреции. Пусковые влияния в начальную фазу стимулируют секреторных и моторных эффекторов, что важно для второй и третьей фазы секреции [6, с. 312].

Пепсин является мощным ферментом, расщепляющим большие белковые молекулы на мелкие пептиды и превращающим почти все структурные белки в растворимые вещества с небольшим молекулярным весом [97, с. 204-210].

Пепсин, протеолитический фермент желудка, обычно ответственен за менее чем 20% переваривания белка, которое происходит в желудочно-кишечном тракте. Это эндопептидаза, которая расщепляет белки до пептидов. Он предпочтительно

гидролизует пептидные связи, где одна из аминокислот является ароматической. Пепсин, как и другие протеазы ферменты, образуется из неактивного предшественника, пепсиногена, который хранится в гранулах в главных клетках желудка и выделяется при экзоцитозе. Пепсиноген также секретируется слизистыми клетками и клетками желез Бруннера в двенадцатиперстной кишке. По крайней мере, два иммунологически отличных пепсиногена секретируются желудком, обозначенные пепсиногенами I и II. Пепсиноген I, главный предшественник пепсина, секретируется главными клетками слизистой желудка, а пепсиноген II - клетками в желудке, а также в железах Бруннера.

Пепсиноген активируется в просвете желудка путем гидролиза с удалением короткого пептида. Ионы H^+ важны для функции пепсина, потому что пепсиноген первоначально активируется ионами H^+ . Активированный фермент затем действует автокаталитически, чтобы увеличить скорость образования большего количества пепсина. Он обеспечивает соответствующий pH для действия фермента. Оптимальное значение pH для пепсина составляет приблизительно 3,5. Это денатурирует белок, который является лучшим субстратом для фермента, чем нативный белок. Пепсиноген, предшественник пепсина, выделяется из главной клетки ацетилхолином, а также рядом желудочно-кишечных гормонов. [148, с. 39-65].

Пепсин действует практически на все белки, кроме кератинов, мукопротеинов и протаминов. Он катализирует гидролиз пептидных связей, расположенных внутри белковой цепи. Благодаря этому действию пепсин принадлежит к семейству ферментов, известных как эндопептидазы. Продуктом гидролиза белка, катализируемого пепсином, являются полипептидные фрагменты с высокой

молекулярной массой, которые первоначально были названы протеазами и пептонами. Хотя пепсин может гидролизовать практически любую пептидную связь, он имеет определенные предпочтения, избирательно ориентируясь на связи, которые содержат аминокруппу ароматической аминокислоты (триптофан, фенилаланин и тирозин). Оптимальный pH для активности пепсина 1,0–2,0 поддерживается в желудке с помощью HCl. Когда pH среды увеличивается до значений, превышающих 3,0, пепсин почти полностью инактивируется [22, с. 251-273].

Белки являются одним из важнейших ингредиентов нашего рациона. Иногда они присутствуют в виде растворимых ингредиентов, но чаще белки присутствуют в определенной структуре или пищевой матрице. Тип структуры влияет на усвояемость белков [116, с. 671-678; 145, с. 85-93]. Из-за интереса к новым источникам белка, например к белкам растений или насекомых, важно иметь лучшее понимание основных механизмов переваривания структурированной пищи, богатой белками. Это может помочь понять взаимосвязь между свойствами пищи и физиологическими механизмами, лежащими в основе поглощения питательных веществ и чувства сытости или насыщения [161, с. 300-307]. Особо структурированные продукты с высоким содержанием белка показали сильное насыщение из-за низкой скорости пищеварения и опорожнения желудка [181, с. 473-480].

Белки ведут себя как полиэлектролиты, набухание которых очень чувствительно к внешним условиям pH, что приводит либо к набуханию, либо к коагуляции, что зависит от того, насколько внутренний pH отличается от изоэлектрической точки. Можно ожидать, что набухание улучшает пищеварение, так как способствует конвективному притоку кислоты и ферментов. Как и в случае

полиэлектrolитных свойств, степень набухания будет зависеть от заряда белка и степени свертывания. Набухание облегчит диффузию пищеварительных ферментов к белкам [138, с. 8829-8837; 119, с. 124-138]. Во время пищеварения внутренний pH будет сильно изменяться. Когда pH близок к изоэлектрической точке, белок будет сильно уплотняться [50, с. 898-910]. На краю белковой матрицы он будет набухать, поскольку pH ниже 3, что позволяет пепсину проводить гидролиз. Внутри геля имеется четкое указание на градиент pH.

Предполагается, что перевариванием белков в желудке можно управлять с помощью плотности свертывания или состава аминокислотных групп, которые определяют заряд белка как функцию pH [32, с. 25-36; 77, с. 7-13]. К настоящему времени отсутствуют знания о взаимодействии между набуханием белков и их пищеварением в желудке. Лишь в последнее десятилетие разрабатываются модели переваривания пищи *in vitro* и *in silico* [112, с. 29-67]. Признавая белки как полиэлектролиты, можно использовать обширный набор знаний, накопленных в физике полимеров, описывающих набухание их [72, с. 7335-7338; 71, с. 558-577; 131, с. 10536-10547; 30, с. 372-379].

При этом имеющиеся к настоящему времени накопившиеся исследования, показывают механизмы протеолитического расщепления белков в желудке и не дают представления о роли пепсинового гидролиза белков в улучшении переваривания жиров.

§1.2. Гидролиз белков панкреатическими протеазами

Поджелудочная железа человека вырабатывает каждые сутки от 50 до 1500 мл сока (в зависимости от возраста), содержащего ферменты, которые играют ключевую роль в переваривании

питательных веществ. белки, жиры, углеводы расщепляются ферментами поджелудочной железы до мономер. Активация энзимов и оптимум их действия происходит в щелочной среде обеспечивающаяся панкреатическим соком, который богат бикарбонатами[9, с. 118-122; 10, с. 47-54].

За сутки поджелудочная железа человека продуцирует приблизительно 15–20 г ферментного белка из ацинарных клеток. Его выделение происходит спонтанно (базальный холин эргический тонус). Клеточный экзоцитоз не зависит от ферментной продукции [9, с. 118-122; 10, с. 47-49]. В целостном организме прямая регуляция продукции и высвобождения ацинарными клетками белка осуществляется секретогенами: ацетилхолином, панкреозимином и секретинном. Слабым стимулятором является гастрин [9, с. 118-122].

Среди протеолитических ферментов различают эндопептидазы, расщепляющие пептидные связи внутри молекул белка и полипептидов, - трипсин, химотрипсин, эластазу - и экзопептидазы, отщепляющие аминокислоты, находящиеся на С-терминальном конце полипептидов и протеинов, -карбоксипептидазу [9, с. 118-122; 10, с. 47-54].

У человека 19 % протеинов панкреатического сока приходится на трипсиноген, который присутствует в трех формах. Катионный трипсиноген, кодируется геном PRSS1, присутствует в большом количестве, и анионный трипсиноген и мезотрипсиноген, которые кодируются генами PRSS2 и PRSS3 соответственно, присутствуют в меньших количествах. Все трипсиногены действуют аналогично, атакуя экспонированный аргинин и остатки лизина в пептидной цепи. Трипсин расщепляет почти все денатурированные белки, не действуя при этом на живые ткани[9, с. 118-120; 13, с. 48-56].

Химотрипсин у человека существует в виде двух молекулярных форм: А и В. Фермент в активной форме выводится с калом.

Определение активности химотрипсина в кале имеет диагностическое значение для оценки функции поджелудочной железы. С помощью электрофореза доказано существование двух форм проэластазы. Эластаза участвует в переваривании эластина, денатурированных белков. Она отличается стабильностью в широком диапазоне — рН 4–10,5. Карбоксипептидазы А и В имеют большую молекулярную массу, чем остальные протеолитические ферменты [1, с. 93-101; 120, с. 1-64].

Секреторная активность, связанная с приемом пищи (состояние пищеварения) происходит по этапно: мозговая (20-25%), желудочная (10%) и кишечная (примерно 60% -70%). Панкреатическая секреция активируется комбинацией нервных и гормональных эффекторов [10, с. 47-54; 13, с. 48-56].

Секреция после приема пищи делится на три фазы: мозговая, желудочная и кишечная. В течении мозговой и желудочной фазы, секреция с низким объемом и высокой концентрацией пищеварительных ферментов, отражая стимуляцию преимущественно ацинарных клеток. Желудочная фаза вызывает секрецию ферментов с небольшим выделением воды и бикарбоната [13, с. 50-54; 120, с. 1-64].

Кишечная фаза начинается, когда химус выходит из желудка и попадает в тонкий кишечник. Во время кишечной фазы, секреция протоков сильно активизируется, что приводит к производству больших объемов панкреатического сока с пониженным содержанием белка, хотя общее количество ферментов, выделяемых в эту фазу на самом деле тоже заметно увеличивается. Большая часть кишечной фазы также связана с усилением так называемым

энтеропанкреатическим рефлексом, передающимся через кишечную нервную систему [120, с. 8-14; 10, с. 47-51].

Количества поступающих пептидов, аминокислот, жирных кислот и величина поверхности интестинальной слизистой оболочки определяет количество высвобождаемого панкреозимина [94, с. 362-367; 13, с. 50-54].

По мере того, как нутриенты абсорбируются в тонкой кишке, панкреатическая секреция уменьшается, при большом количестве их в двенадцатиперстной и тощей кишке секреция продолжается [9, с. 118-122].

При изучении влияния трипсина на гидролиз белков, было установлено, что расщепление β -лактоглобулина трипсином приводит к высвобождению широкого спектра биологически активных пептидов. Результаты показывают наличие участков внутри интактного белка с различной восприимчивостью к триптической атаке. В то время как С- и N-концевые области легко перевариваются, внутренняя часть белка, демонстрирует большую устойчивость к гидролизу, и высвобождение конечных пептидов в этой области проходит через образование и последующую деградацию промежуточных пептидов [49, с. 88-92].

Считается, что степень ферментативного гидролиза белка в основном определяется специфичностью протеазы и количеством сайтов расщепления на субстрате. Однако этот теоретический максимум обычно не достигается. Ограниченный гидролиз определенных сайтов расщепления может быть связан с различиями в предпочтении ферментов, обусловленными соседними аминокислотами [35, с. 85-89].

В исследовании с использованием α -лактальбумина и β -казеина с определением экспериментальной максимальной степени

гидролиза трипсинами быка, свиньи и человека обусловлены их вторичной специфичностью, то есть их чувствительностью к аминокислотам вокруг сайтов расщепления [35, с. 85-89].

Увеличение концентрации белка приводит к более медленному гидролизу при постоянном соотношении фермент / субстрат, кроме того приводит к снижению доступности воды. Изменения доступности воды линейно коррелируют с измерениями активности воды. Уменьшение соотношения свободной и связанной воды коррелирует с более медленным гидролизом [23, с. 1905-1908].

Как β -казеин, так и β -Lg были восприимчивы к гидролизу пепсином и панкреатином в анализе с высоким содержанием протеазы. Напротив, кинетика переваривания β -казеина в анализе с низким содержанием протеазы была более медленной, β -Lg был устойчивым к пепсину [106, с. 372-375].

Ферментативный гидролиз белков (протеолиз) происходит под действием протеолитических ферментов (протеаз), которые являются естественными хиральными катализаторами. В результате гидролиза пептидных связей эти ферменты гидролизуют белки до более коротких полипептидов, коротких пептидов и даже аминокислот. Широкое применение гидролиза белка в пищевой промышленности включает обработку белков молока различными протеолитическими ферментами [23, с. 1905-1908].

Трипсин представляет собой сериновую протеазу, обнаруженную в пищеварительной системе, где она расщепляет пищевые белки на пептиды [18, с. 34-39, 124, с. 608-612]. Оптимальные условия для катализатора - pH 7,8 и температура 37 ° C [118, с. 608-611]. В активном центре трипсина есть каталитическая триада, которая включает остатки Ser 195, His 57 и Asp 102. Положительно заряженные боковые цепи остатков Arg и

Lys в белковых субстратах участвуют в электростатических взаимодействиях с Asp.189 в нижней части активного центра трипсина [113, с. 11-15]. Следовательно, трипсин расщепляет преимущественно пептидные связи на карбоксильной стороне лизина и аргинина (связи Arg-X, Lys-X), если за ними не следует пролин [124, с. 2165-2169; 118, с. 608-610; 113, с. 12-15]. Кроме того, скорость гидролиза этих связей зависит также от других соседних аминокислотных остатков, обеспечивающих так называемую вторичную специфичность. Для небольших субстратов с одной связью, подлежащих гидролизу, кинетика гидролиза имеет тип Михаэлиса-Ментен.

В отличие от гидролиза небольших субстратов, протеолиз - это процесс поли субстрата, который включает расщепление пептидных связей различной специфичности. Гидролиз осложняется неравным и часто ограниченным доступом пептидных связей к действию фермента, поскольку разные участки белкового субстрата по-разному подвергаются воздействию окружающего растворителя [164, с. 146-149]. Этот стерический эффект, известный как маскирование, был предложен как значительный ограничивающий фактор гидролиза [164, с. 146-149].

Основным белком бычьей сыворотки является не большой глобулярный белок β -лактоглобулин (β -LG) [48, с. 5-9]. *In vivo* он обладает способностью связывать и транспортировать не большие биомолекулы, такие как жирные кислоты и витамин А [20, с. 3957-3960]. β -LG способен образовывать димеры в физиологических условиях окружающей среды и существует в мономерной форме при высоких температурах и значениях pH выше восьми [62, с. 148-153].

С момента первого представления Адлера-Ниссена о степени гидролиза процент гидролизованных пептидных связей широко

используется в качестве универсального параметра для контроля протеолиза и оптимизации процесса [12, с. 345-349]. Альтернативой степени гидролиза может быть степень изменений вторичной структуры и конформации белкового субстрата, измеренная с помощью соответствующего спектрального метода. В последние годы был достигнут определенный прогресс в сравнении спектральных данных, полученных в разное время гидролиза с использованием флуоресценции [165, с. 519-523; 164, с. 309-312] и инфракрасной спектроскопии [60, с. 105-107; 59, с. 104-107; 177, с. 4248-4251; 127, с. 46-49]. Было продемонстрировано, что разложение белкового субстрата можно количественно оценить по сдвигу флуоресценции триптофана [168, с. 520-524; 167, с. 311-313]. Этот сдвиг вызван увеличением полярности среды вокруг остатков Trp [96, с. 348-352; 163, с. 2095-2099], что является результатом протеолитически индуцированной деградации структуры белка.

Протеолиз β -LG различными протеазами интенсивно изучается в связи с практической важностью этого процесса для обработки пищевых продуктов [26, с. 458-462; 49, с. 91-94]. Для триптического протеолиза β -LG была проведена точная идентификация и количественная оценка пептидов, что открыло путь для установления последовательности этапов фрагментации белка [25, с. 121-125, 26, с. 458-462; 49, с. 91-94]. Используя простой путь фрагментации, кинетика гидролиза была успешно описана ограниченным числом дифференциальных уравнений [49, с. 91-94].

При протеолизе общей тенденцией является непрерывное разрушение структуры белка и, следовательно, увеличение доступности оставшихся пептидных связей для фермента. Этот процесс обеспечивает демаскировку пептидной связи, что приводит к локальному увеличению скорости гидролиза в определенный

период, когда большая часть первоначально замаскированных связей становится демаскированной. Благодаря демаскирующему эффекту скорость накопления amino-азота (скорость гидролиза) может быть не монотонной функцией времени гидролиза [164, с. 147-149]. Стадия демаскировки была ранее количественно определена для гидролиза β -казеина (β -CN) трипсином в предположении, что степень демаскировки пропорциональна сдвигу флуоресценции [168, с. 519-523; 164, с. 309-312]. Для анализа протеолиза в рамках двух этапной модели необходимо определить численные значения констант скорости, входящих в модель [164, с. 147-149; 166, с. 60-65].

Превращение β -LG (β -Lactoglobulin) в его фрагменты можно удовлетворительно описать ограниченным числом дифференциальных уравнений без учета накопления и расхода длинных промежуточных фрагментов [49, с. 91-94]. Эта картина вполне реалистична для механизма «один за другим», который использовали для обработки спектров флуоресценции. В этом механизме протеолиза деградация белковой глобулы ограничивает процесс демаскировки. Сложность механизма «один за другим» может заключаться в рассмотрении неполного разрушения глобулы с сохранением определенного ядра [25, с. 122-125], более устойчивого к гидролизу.

Для гидролиза (β -CN) относительно короткий период снижения λ_{\max} (t) можно объяснить агрегацией остатков молекул β -казеина после потери его заряженных N-концевых фрагментов в результате относительно быстрый гидролиз связи Arg 25-Ile 26 [167, с. 309-312; 170, с. 355-358]. Этот замечательный процесс агрегации трипсинолиза β -CN в сочетании с деградацией исходных мицелл казеина детально отслеживался с помощью статического светорассеяния [169, с. 62-65]. Было показано, что агрегаты

образовывались, когда концентрация трипсина была достаточно низкой, чтобы обеспечить общую низкую скорость гидролиза, чтобы получить время для образования агрегатов [169, с. 62-65]. Данные FTIR по поглощению при 1632 см⁻¹ продемонстрировали немонотонное изменение концентрации β-слоев во время β-CN, то есть увеличение и последующее уменьшение β-структур [59, с. 104-107], что согласуется с полученными данными флуоресценции.

Таким образом, имеющиеся на данный период времени данные демонстрируют механизмы гидролиза различных белков панкреатическими протеазами и рассматривают этот гидролиз, как дополнительный фактор к желудочному гидролизу, в последовательном углубленном переваривании белков. В тоже время, не дают представления о роли панкреатических протеаз в этой последовательности в изменении всасывания жиров при нарушении переваривания белков связанного с патологией желудка.

§1.3. Гидролиз жиров панкреатической липазой и роль в этом желчных кислот

У здоровых людей 70–90% переваривания липидов происходит в тонкой кишке; это по существу межфазный процесс, который включает сложное взаимодействие между липазой / колипазой и желчными солями. Желчные соли - это очень своеобразный вид биосурфактанта, которые в отличие от классических поверхностно-активных веществ не имеют гидрофобной головки и гидрофильной хвостовой группы. Амфильность солей желчных кислот обусловлена плоской стероидной структурой с полярными гидроксильными группами на вогнутой стороне и метильными группами на выпуклой стороне [45, с. 1850-1854; 54, с. 173-176; 103, с. 178-181]. Из-за своей

высокой поверхностной активности соли желчных кислот играют важную роль в переваривании липидов, выталкивая исходные адсорбированные материалы с поверхности раздела и позволяя комплексам липаза / колипаза действовать на масляные капли, покрытые желчью. Недавние исследования были сосредоточены в основном на изучении смещения с поверхности жировых капель поверхностно активных веществ, опосредованных желчными солями, в которых выяснялся орогенный механизм этого смещения [104, с. 6762-6765] и важная роль начального заряда [135, с. 144-148] и типа белка [19, с. 117-118] при определении кинетики последовательной адсорбции или вытеснения адсорбированного слоя кишечными солями желчных кислот, которые были раскрыты. С другой стороны, агрегация и самосборка растворов солей желчных кислот, и их роль в абсорбции / переносе хорошо установлена [70, с. 47-51]. Агрегация солей желчных кислот в растворе происходит из-за гидрофобных взаимодействий и водородных связей между полярным гидроксильным и карбоксильным атомом групп [100, с. 109-112]. Считается, что соли желчных кислот способствуют солюбилизации липидных продуктов переваривания в ламеллярную фазу или смешанные мицеллы. Эта солюбилизация приводит к удалению из липидов продуктов пищеварения, таких как свободные жирные кислоты, моно- и диацилглицерины и ускоряет дальнейшее переваривание и всасывание липидных вспомогательных веществ [147, с. 77-79]. Тем не менее, недостаточно информации о количественной роли водных (неадсорбированных) солей желчных кислот в переваривании липидов и последующей жировой фазой по сравнению с адсорбированной.

Как резюмировали Голдинг и Вустер (2010) [58, с. 92-96], межфазный процесс липолиза включает по существу три ключевых

этапа: связывание комплекса соль желчной кислоты, липаза / колипаза с граница раздела масло / вода, гидролиз эмульгированного липида до 2-моноацилглицеринов и двух свободных жирных кислот и десорбция этих липолитических продуктов для продолжения пищеварения. По итогам этого исследования, предполагается, что неадсорбированные соли желчных кислот вносят более значительный вклад в первую и третьих стадий, тогда как адсорбированные соли желчных кислот преобладают на второй стадии [122, с. 6458-6461]. Кроме того, при более высоких концентрациях солей желчных кислот (5 мг / мл) непрерывная фаза будет состоять из смешанных мицелл, мономерной соли желчных кислот, а также простой мицеллы желчных солей [21, с 2825-2831; 173, с. 625-627]. Скорость и степень липолиза, по-видимому, определялась в основном наличием водных солей желчных кислот. Это может быть связано с растворением и удалением ингибирующих продуктов пищеварения (например, FFA, моно- и / или ди-ацилглицерины), которые могли накапливаться на границе раздела водные соли желчных кислот. Дальнейшая работа необходима для характеристики продуктов гидролиза (длинный цепи FFA), образующиеся в эмульсиях, стабилизированных солями желчных кислот, во время пищеварения панкреатической липазы в присутствии и отсутствии водной фазы желчных экстрактов с использованием хроматографических техник. Также было бы интересно предоставить структурную информацию о смешанных мицелл, образовавшихся в водной фазе с использованием мало углового рассеяния рентгеновских лучей [136, с. 77-79].

У высших позвоночных желчные кислоты C 24 составляют основную часть желчи [69, с. 599-602], а в желчи человека эти соединения почти полностью находятся в конъюгированной форме

либо с глицином (75%), либо с таурином (25%) [172, с. 183-186]. В физиологических условиях конъюгация увеличивает их растворимость в воде.

Среди наиболее важных физиологических свойств желчных солей можно упомянуть транспорт липидов путем солюбилизации и выведение холестерина в кишечник, из которого он плохо всасывается. Эти свойства связаны с их амфипатической природой, что связано с наличием гидрофильной стороны (α -грань, вогнутая нижняя сторона) и гидрофобной стороны (β -грань, выпуклая верхняя сторона) [66, с. 24-28].

Желчные кислоты, традиционно считающиеся пищеварительными молекулами, основная функция которых заключается в содействии эмульсии и всасыванию пищевых жиров и жирорастворимых витаминов, желчные кислоты начинают считаться более универсальными молекулами, чем считалось ранее. Недавние открытия предполагают участие желчных кислот во многих различных функциях [111, с. 804-807].

Секреция желчных кислот в желчные каналы создает осмотическое давление, которое составляет так называемую желчную кислотно-зависимую фракцию желчного протока [3, с. 3-7]. Желчные кислоты стимулируют секрецию желчных липидов [68, с. 2472-2474] и, благодаря своим физико-химическим свойствам, способны образовывать смешанные мицеллы вместе с желчными фосфолипидами, что позволяет солюбилизировать в желчи холестерин и другие липогильные соединения. Смешанные мицеллы также образуют эмульсию пищевых жиров и жирорастворимых витаминов в кишечнике, тем самым способствуя их усвоению. Желчные кислоты также способствуют всасыванию кальция в кишечнике [108, с. 12-15]. Известно, что на кишечном уровне желчные

кислоты модулируют секрецию ферментов поджелудочной железы и высвобождение холецистокинина [3, с. 3-7]. Более того, они являются мощными противомикробными агентами, предотвращающими чрезмерный рост бактерий в тонкой кишке [171, с. 45-48].

Во время прохождения через кишечник молекулы желчной кислоты претерпевают модификации под действием кишечных бактерий. Метаболизм желчных кислот микробами тонкого кишечника состоит в основном из деконъюгации и окисления гидроксильных групп [57, с. 15-18].

Молекулы желчных кислот в основном ограничены территориями так называемого энтерогепатического кровообращения, которое включает печень, желчное дерево, кишечник и портальную кровь, с которыми желчные кислоты возвращаются в печень [67, с. 2584-2387].

В последнее десятилетие, с открытием специфического ядерного рецептора, способного реагировать на желчные кислоты, такого как «фарнезоидный рецептор X» (FXR) [139, с. 55-61], а совсем недавно их мембранного рецептора TGR5 [125, с. 1265-1267] стала очевидной роль желчных кислот как сигнальных молекул с важными паракринными и эндокринными функциями [80, с. 5622-5625]. Помимо регуляции собственного печеночного синтеза и транспорта в печени и кишечнике, желчные кислоты участвуют в запуске адаптивного ответа на холестаза и другие поражения печени [128, с. 4-8]. Наконец, сообщалось об их роли в контроле общего метаболизма, связанного с энергией, а точнее, в обработке глюкозы в печени [157, с. 220-224].

Желчные кислоты регулируют свой собственный синтез по отрицательной обратной связи, в частности, ингибируя активность и экспрессию 7 α -гидроксилазой CYP7A1 [153, с. 2225-2228]. Фактически,

ферменты цитохрома P450 CYP7A1, стерол-12 α -гидроксилазой CYP8B1 и стерол-27-гидроксилазой CYP27A1, участвующие в синтезе желчных кислот, подвергаются регуляции отрицательной обратной связи желчными кислотами, которая в основном опосредуется через ядерный рецептор желчных кислот FXR [98, с. 1518-1521].

Холестерин модулирует собственный катаболизм желчных кислот, в основном на уровне транскрипции. Таким образом, оксистерины активируют LXR, который, в свою очередь, регулирует экспрессию CYP7A1 в гепатоцитах крысы [29, с. 1204-1206].

Гормоны и экзогенные соединения также могут влиять на синтез желчной кислоты. Инсулин подавляет несколько ферментов пути биосинтеза, таких как CYP7A1 и CYP27A1, у разных видов животных [54, с. 680-685], хотя в гепатоцитах человека описан двойной эффект [114, с. 804-808]. Гормоны щитовидной железы индуцируют транскрипцию гена CYP7A1 у крыс [95, с. 168-171], но влияние гормонов щитовидной железы на регуляцию CYP7A1 у людей все еще остается спорным [151, с. 2-7]. Показано воздействие лекарств на синтез желчных кислот, таких как фенобарбитал, действующего через конститутивный рецептор андростана ядерного рецептора (CAR) [179, с. 167-171], так и антибиотика рифампицина, действующего через рецептор прегнана X (PXR) [91, с. 242-247].

Дефекты синтеза желчной кислоты являются редкими генетическими нарушениями, которые составляют примерно 1-2% холестатических расстройств у детей [154, с. 21-26].

Нормальный печеночный синтез и энтерогепатическая циркуляция желчных кислот нарушаются при муковисцидозе [75, с. 143-149] и сахарный диабете [129, с. 160-164].

В тоже время представленные результаты исследований последних лет в основном показывают механизмы участия желчных

кислот в переваривании жиров и участие их в конкурентной адсорбции на поверхности жировых капель с различными веществами. При этом в недостаточной мере представлены исследования конкурентной адсорбции желчных кислот с различными белками и их гидролизатами, особенно при нарушении переваривания белков желудочными пепсинами.

§1.4. Взаимодействие белков и их гидролизатов с жирами, желчными и жирными кислотами

Поверхностно-активные ингредиенты, такие как белки или низкомолекулярные эмульгаторы, адсорбируются на поверхности вновь образованных капель масла и стабилизируют их. Распределение эмульсионных капель по размерам зависит от ряда факторов, но одним из них является то, насколько быстро белковые эмульгаторы способны адсорбироваться на поверхности капель [155, с. 16-18].

Когда масло диспергируется в воде в отсутствие эмульгатора, происходит неблагоприятное нарушение водородных связей в водной фазе, что приводит к разделению масла и воды. Когда белок адсорбируется на границе раздела масло-вода, молекулы воды, контактирующие с поверхностью масла, возвращаются обратно в объемную водную фазу, где они могут H-связываться с другими молекулами воды. Это приводит к снижению свободной энергии смешивания жира и воды и частично компенсирует неблагоприятную свободную энергию границы раздела жир-вода [45, с. 1850-1854].

Белки могут стабилизировать эмульсии с помощью двух механизмов. Они обеспечивают стерический стабилизирующий слой,

который предотвращает соединение эмульсионных капель в фазу разделения, и, если белок заряжен, между двумя одинаково заряженными каплями будет электростатическое отталкивание. Эти отталкивающие силы должны быть сбалансированы с естественной тенденцией к притяжению атомов во всем веществе силами Ван-дер-Ваальса [37, с. 132-135].

Когда приближаются две эмульсионные капли, которые окружены адсорбированным белковым слоем, капли отталкивают друг друга только тогда, когда два белковых слоя соприкасаются. Происхождение этой силы отталкивания может быть объяснено в терминах двух вкладов [81, с. 7879-7884].

Иногда адсорбированные белковые слои соприкасаются, они сжимаются. Это приводит к уменьшению объема в адсорбированном слое, занятом белком. Поскольку белок имеет меньше места, чтобы занимать количество конформаций, которые он может принять, уменьшается, и это приводит к уменьшению конформационной энтропии белковой цепи. Это уменьшение энтропии является неблагоприятным, и в результате возникает сила упругого отталкивания, которая противодействует сжатию слоев и раздвигает их [88, с. 105292- 105296].

Поверхность капель эмульсионного масла в пищевых системах не стабилизируется ни одним типом белка. Существует несколько типов поверхностно-активных молекул, обнаруженных в пищевых продуктах, и все они будут конкурировать за площадь на поверхности эмульсионной капли друг с другом [36, с. 227-232].

Когда были приготовлены эмульсии с $\alpha 1$ -казеином или β -казеином, которые затем смешивались с раствором другого второго казеина, происходил обмен между адсорбированным белком и

неадсорбированным белком, и часть адсорбированного белка вытеснялась из интерфейса капли [39, с. 397-402].

Белки также могут конкурировать поверхность раздела с поверхностно-активными веществами с низкой молекулярной массой. Концентрация белка, необходимая для насыщения границы раздела масло-вода, ниже, чем требуется для низкомолекулярного поверхностно-активного вещества [38, с. 1473-1476]. В результате этого в смешанных слоях белок-поверхностно-активное вещество белок будет преобладать при низких концентрациях поверхностно-активного вещества, но при более высоких концентрациях более эффективная упаковка поверхностно-активного вещества на поверхности приведет к более низкому поверхностному натяжению поверхностно-активного вещества, которое вытеснит белок с поверхности раздела [117, с. 115-118]. Эффективность поверхностно-активного вещества при вытеснении белка зависит от ряда факторов, включая относительную гидрофобность / гидрофильность поверхностно-активного вещества, независимо от того, заряжены они или нет, и взаимодействуют ли они с молекулой белка на границе раздела. Водорастворимые поверхностно-активные вещества, особенно неионные, лучше, чем растворимые в масле, при вытеснении белков с поверхности эмульсионной масляной капли [36, с. 225-227].

Желчные соли являются анионными поверхностно-активными веществами, хотя и имеют более сложную структуру, чем большинство низкомолекулярных поверхностно-активных веществ. Было показано, что они конкурируют межфазную область с белками и вытесняют белок с поверхности раздела. Смещение α_1 -казеина с помощью таурохолата натрия (NaTC) и гликодезоксихолата натрия (NaGDC) было изучено с помощью атомно-силовой микроскопии [102,

с. 4908-4912] и было продемонстрировано, что происходит по тому же орогенному механизму. Юстон и соавт. [45, с. 8942-8946] измерили степень смещения сывороточного белка (WPC), холат натрия (NaC) и NaDC на границе раздела эмульсионных капель. Степень смещения выше для NaDC, чем для NaC, что объясняется большей гидрофобностью стерольного кольца NaDC. Юстон и соавт. (2011) [45, с. 8942-8946] также изучали адсорбцию молекул NaC и NaDC на границе раздела декан-вода с использованием моделирования молекулярной динамики.

Эмульсии дестабилизируются с помощью нескольких механизмов. Из них основными механизмами, наблюдаемыми в пищевых эмульсиях, являются флокуляция, коалесценция и сливки, причем четвертый механизм - созревание по Оствальду - редкость для эмульсий триглицеридного масла. Флокуляция и сливки являются обратимыми [159, с. 145-149].

Исследования показали, что для эмульсий, стабилизированных лактоферрином и β -лактоглобулином, гидролиз пепсина адсорбированного белкового слоя является основной движущей силой в дестабилизации капель эмульгированного жира [138, с. 1563-1568].

В другом исследовании пищеварения, стабилизированного β -казеином и β -лактоглобулином, было обнаружено, что β -казеин переваривается в два раза быстрее, чем β -лактоглобулин, что вызывает большую нестабильность эмульсии [99, с. 542-547]. Опять же, это, скорее всего, объясняется различиями в межфазной конформации, принятой неупорядоченным казеином и глобулярным β -лактоглобулином.

Перевариваемость эмульсий, стабилизированных β -казеином или β -лактоглобулином, сравнивалась с использованием желудочно-

кишечных моделей *in vitro* с добавлением солей желчных кислот и фосфатидилхолина и без них [99, с. 542-547]. Обнаружено, что стабилизированные β -лактоглобулином эмульсии дестабилизируются в основном за счет конкурентной адсорбции между солями белка и желчи и / или фосфатидилхолина, в то время как основным дестабилизатором эмульсий β -казеина является гидролиз в желудке адсорбированного слоя казеина пепсином [104, с. 6761-6764].

Другое исследование показало, что эмульсии, стабилизированные лактоферрином и β -лактоглобулином, подвергались значительной степени слияния при добавлении физиологических концентраций панкреатина и желчи [138, с. 142-145].

Когда соли желчных кислот добавляются в стабилизированные белком эмульсии, они вытесняют белок из границы раздела масла-вода. Степень смещения зависит от концентрации желчной соли, типа белка и типа желчной соли [65, с. 725-728].

Однако при добавлении солей желчных кислот в стабилизированные белком эмульсии сывороточного белка (WPC) явно легче вытеснить, чем казеинат натрия (SCN) при изучении всех солей желчи и всех молярных соотношений [133, с. 3930-3934]. Глобулярные белки WPC (особенно β -лац) могут связывать гидрофобные поверхностно-активные вещества в липофильном связывающем кармане, и это, как известно, изменяет поверхностную активность белка [117, с. 183-187].

Способность солей желчных кислот вытеснять белок с поверхности раздела капель масляно-водной эмульсии является сложным процессом и зависит от природы соли желчных кислот (количество гидроксильных групп, наличие конъюгированной

аминокислоты); природа белка; физическая химия соли желчи, вероятно, многие другие факторы [144, с. 48-51].

Количество гидроксильных групп в стерольном кольце определяет гидрофобность соли желчи. Интуитивно понятно, что более гидрофобные соли желчи будут сильнее адсорбироваться на границе раздела и более эффективно вытеснять белок, но реальная ситуация более сложная [126, с. 1074-1076].

Конкурентная адсорбция отдельных солей желчных кислот с помощью SCN и WPC также будет осложнена в связи с поведением солей желчных кислот в растворе и, в частности, их склонностью к образованию мицелл в растворе. Последствия этого для конкурентной адсорбции с белками пока не ясны [86, с. 65-68].

Если обнаружено, что связывание желчной соли с белками является значительным, то это, вероятно, изменит их поверхностную активность и может частично объяснить разницу в способности вытеснения солей желчи и разницу в вытеснении SCN и WPC. Соли желчных кислот также существуют в виде изомеров, где гидроксильные группы занимают различные положения в кольце стеролов. Они имеют одинаковую гидрофобность, но различаются по некоторым химическим свойствам и поэтому могут отличаться по своей способности вытеснять белки с поверхности раздела эмульсионных капель [45, с. 1850-1853].

Благодаря благоприятной химической структуры, некоторые гидролизаты пищевых белков продемонстрировали значительную активность связывания желчных кислот. [156, с. 370-375; 83, с. 1066-1068; 17, с. 174-180] которая частично зависит от гидрофобности аминокислотных остатков пептидов [83, с. 1066-1069]. Желчные кислоты являются амфипатическими с гидрофобной структурой скелета и полярной функциональностью и, таким образом, могут

связывать другие гидрофобные аминокислоты посредством слабых гидрофобных [156, с. 370-375].

Активность ферментативных гидролизатов пищевых белков по связыванию желчных кислот зависит от типа желчных кислот, которые обладают различными структурными функциями, такими как переменное количество гидроксильных групп, которые могут влиять на их связь с секвестрантами. Это было продемонстрировано с различными ферментативными белковыми гидролизатами, которые проявляли дифференциальное связывание различных типов желчных кислот [17, с. 174-180; 180, с. 32-36; 98, с. 4372-4375], хотя структурные требования к активности и действительным молекулярным взаимодействиям еще предстоит выяснить. Однако также было обнаружено, что некоторые гидролизаты белков неэффективны в связывании желчных кислот, несмотря на умеренную активность негидролизированных белков со связывающей способностью до 60% для различных желчных кислот [107, с. 1155-1157].

Было обнаружено, что гидролизат рыбьего белка с высоким содержанием глицина, таурина и гидрофобных аминокислот увеличивает уровни желчных кислот в плазме гиперлипидемических крыс с сопутствующим снижением липидов печени, уровней ТГ в плазме натошак и массы висцеральной жировой ткани [90, с. 254-257; 89, с. 42-48]. Было отмечено, что присутствие желчных кислот в плазме оказывает регулирующее влияние на метаболизм ТГ в плазме [90, с. 254-257].

Показано расположение участков связывания жирных кислот с высоким и низким сродством на сывороточном альбумине человека, выявленное с помощью ЯМР-анализа. Кроме того альбумин обладает множеством сайтов связывания для своего основного

физиологического лиганда, неэтерифицированных жирных кислот [143, с. 336-341].

В другой работе изучалось аллостерическое определение связывания жирных кислот с помощью ЯМР, применительно к человеческому сывороточному альбумину. Установлено, что ключевым фактором, определяющим связывания жирных кислот является количество длинноцепочечных жирных кислот [76, с. 7457-7461].

Показано, что плазменный альбумин имеет около 7 сайтов связывания для жирных кислот с умеренным или высоким сродством, увеличивая концентрацию жирных кислот на несколько порядков. Кроме того, из-за своей низкой растворимости в водных растворах, таких как плазма крови и интерстициальная жидкость, жирные кислоты нуждаются в связывающих белках для увеличения их концентрации в сосудистых и интерстициальных жидкостях. Альбумин действует как основной белок, связывающий жирные кислоты во внеклеточных жидкостях [162, с. 300-307].

α -Лактальбумин образует с олеиновой кислотой высокомолекулярный комплекс. Белок в комплексе принимает конформацию расплавленной глобулы и взаимодействует с жирной кислотой в основном через свой α -спиральный домен, на что указывают измерения кругового дихроизма и ограниченные эксперименты по протеолизу [41, с. 96-98; 153, с. 8658-8661].

Было показано, что казеин способен связывать как олеиновую кислоту, так и таурохолевую кислоту. Таким образом, присутствие непереваренного белка в верхней тонкой кишке может препятствовать поглощению липидов слизистой оболочкой двойным действием, включающим прямое связывание жирных кислот с

белком и нарушение мицеллярной солюбилизации липидов из-за связывания желчных кислот [146, с. 31-35].

Комплексы олеиновой кислоты и бычьего сывороточного альбумина были исследованы в зависимости от pH. В оптимизированных условиях после связывания олеиновой кислоты и бычьего сывороточного альбумина при молярном соотношении 4: 1 появлялись небольшие изменения вторичной структуры белка, и его поверхностная гидрофобность увеличивалась [93, с. 105689-105692].

Бычий лактоферрин связывает олеиновую кислоту с образованием комплекса. Комплекс был назван HAMLET, который идентифицирован в материнском молоке. Лактоферрин связывает больше олеиновой кислоты, чем α -лактальбумин. α -Лактальбумин может связывать олеиновую кислоту с образованием HAMLET-подобных комплексов. Результаты также показали, что количество связывания олеиновой кислоты с лактоферрином было выше, чем с α -лактальбумин, в то время как оба белка взаимодействовали с олеиновой кислотой через силы Ван-дер-Ваальса и водородные связи [47, с. 535-543].

Протеолитические фрагменты α -лактальбумин, а также других белков, не связанных с α -лактальбумин, могут образовывать комплекс олеиновой кислоты с биологической активностью, аналогичной таковой для HAMLET. Белковая часть просто действует как солюбилизирующий агент для жирной кислоты [51, с. 1125-1128].

Имеющиеся к настоящему времени исследования не показывают в достаточной степени способность белков связываться с желчными кислотами. Так как большое количество не гидролизованных в желудке белков поступающих в двенадцатиперстную кишку может связывать значительную часть желчных кислот. В результате чего может снижаться

эмульгируемость жиров и увеличиваться конкурентная адсорбция белков на поверхности жировых капель, это может оказывать влияние на снижение перевариваемости жиров, особенно при сниженном холекинезе. Кроме того белки могут соединиться с жирными кислотами, что приводит снижению расщепления белков панкреатическими ферментами может являться препятствием переваривания белков в двенадцатиперстной кишке.

ГЛАВА II. ХАРАКТЕРИСТИКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МАТЕРИАЛА И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

§2.1. Экспериментальный материал

В проведенном исследовании применялись желудочный и панкреатический соки, полученные от собак в хронических экспериментах. В первой серии *in vitro* изучалось изменение гидролитической активности липазы поджелудочного сока в присутствии различных белков примененных в качестве эмульгаторов трибутирина содержащего короткоцепочные жирные кислоты (C4) и подсолнечного масла содержащего длинноцепочные жирные кислоты (C18). Липолитическая активность поджелудочного сока [8, с. 746-747], изучалась в присутствии различных белков (казеина, сывороточного альбумина, гемоглобина, желатина, яичного белка, белка мясного порошка). 1% трибутирин или подсолнечное масло, эмульгированные с подходящим белком в увеличивающейся концентрации от 0,1 до 1%, использовали в качестве субстрата для изучения липолитической активности поджелудочной железы. В качестве стабилизатора эмульсии использовали 2,5% раствор гуммиарабика. Для уменьшения гидролиза белков и снижения их эмульгирующей способности, протеолитическая активность панкреатического сока была ослаблена 0,1% раствором соевого ингибитора путем предварительной инкубации.

Изучение активности липазы панкреатического сока с исследуемыми белками проводили в 3 разных временных интервалах: 1 - до инкубации с желудочным соком, 2 - с 30-минутной предварительной инкубацией с желудочным соком, 3 - с 60-минутной предварительной инкубацией с желудочным соком.

Предварительную инкубацию белковых субстратов с желудочным соком проводили при pH 2, затем нейтрализовали до pH 8 добавлением раствора NaOH и фосфатного буфера с pH 8,2, а затем субстрат инкубировали с панкреатическим соком.

Дистиллированную воду в эквивалентном объеме добавляли с соответствующим добавлением раствора NaOH и фосфатного буфера и раствора арабской камеди, используемых в неинкубационных исследованиях. В качестве контроля приняты показатели липолитической активности без добавления белков.

Во второй серии *in vitro* изучали изменение ферментативной активности липазы панкреатического сока под влиянием различных белков, используемых в качестве эмульгатора трибутирина и подсолнечного масла в присутствии желчи. Кроме того, активность липазы [8, с. 746-747], определялась в соке поджелудочной железы при наличии различных белков (казеин, сывороточный альбумин, гемоглобин, желатин, яичный белок, белок мясного порошка), так же как в первой серии, только в качестве эмульгатора использовалась желчь, разведенная 1:5 физиологическим раствором и дополнительно белков нарастающей концентрации от 1 до 36%.

В третьей серии *in vitro* изучалось влияние взаимодействия различных белков с желчными кислотами на активность протеаз панкреатического сока. Исследовалась общая протеолитическая активность (ОПА) панкреатического сока в присутствии желчи, разведенная 1:5 физиологическим раствором и дополнительно различных белков (гемоглобин, казеин, яичный белок, сывороточный альбумин, желатина, белок мясного порошка) в следующих вариантах: 1-белок 0,5%, 2-белок 0,5% + желчь, 3-белок 1%, 4-белок 1% + желчь, 5-только белок 2%, 6-белок 2% + желчь.

В четвертой серии *in vitro* исследовалось изменение протеолитической активности поджелудочного сока под влиянием жирных кислот (масляная кислота – С4, олеиновая кислота - С18), с использованием различных белков (гемоглобин, казеин, желатина, сывороточный альбумин, яичный белок, белок мясного порошка) в следующих вариантах: 1- только белок, 2- белок + жирная кислота 0,5%, 3- белок + жирная кислота 1%. 4 - белок + жирная кислота 2%.

В пятой серии *in vitro* исследовалось изменение ОПА панкреатического и желудочного сока при использовании различных белков в составе белково-жировых эмульсий. Изучено изменение активности протеаз в соке поджелудочной железы под влиянием различных белков, используемых в качестве эмульгатора с трибутирином и подсолнечным маслом. Протеолитическая активность панкреатического сока [11, с. 34-38], с использованием различных белков (казеин, сывороточный альбумин, гемоглобин, желатина, яичный белок, белок мясного порошка) в нарастающей концентрации от 0,1 до 1%. Исследование протеолитической активности поджелудочного сока с исследуемыми белками проводилось в 4 вариантах: 1-ОПА поджелудочного сока без жировой эмульсии, 2- ОПА без преинкубации с желудочным соком, 3 - ОПА после 30 мин. преинкубации с желудочным соком, 4 - ОПА после 60 мин. преинкубации 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 шестой серии исследовалось изменение ОПА поджелудочного и желудочного соков в зависимости от концентрации жиров, в составе белково-жировых эмульсий, с использованием различных

белков (казеин, сывороточный альбумин, гемоглобин, желатина, яичный белок, белок мясного порошка). Общая протеолитическая активность исследовалась с использованием белково-жировой эмульсии (белок + трибутирин, белок + подсолнечное масло) и желудочного сока (белок + трибутирин, белок + подсолнечное масло, в качестве субстрата с желудочным или поджелудочным соком: только белка, наблюдается при увеличении концентрации 1,0%, 1,5%, 2,0%.

В седьмой серии изучалось влияние различных концентраций продуктов расщепления жиров на протеазную активность сока поджелудочной железы [11, с. 34-38] с использованием (белок + трибутирин, белок + подсолнечное масло) и желудочного сока (белок + трибутирин, протеин + подсолнечное масло).

СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТОВ IN VITRO



1 серия изменение липолитической активности поджелудочного сока под влиянием различных белков использованных в качестве эмульгаторов трибутирина.



2 серия изменение липолитической активности поджелудочного сока под влиянием различных белков использованных в качестве эмульгаторов трибутирина и подсолнечного масла в присутствии желчи.





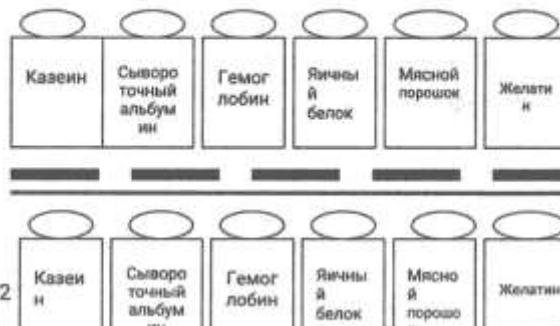
3 серия эффекты взаимодействия белков с желчными кислотами на протеолитическую



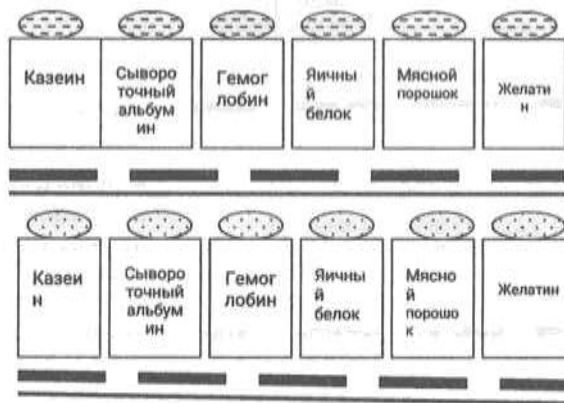
4 серия эффекты взаимодействия белков с жирными кислотами на протеолитическую активность.



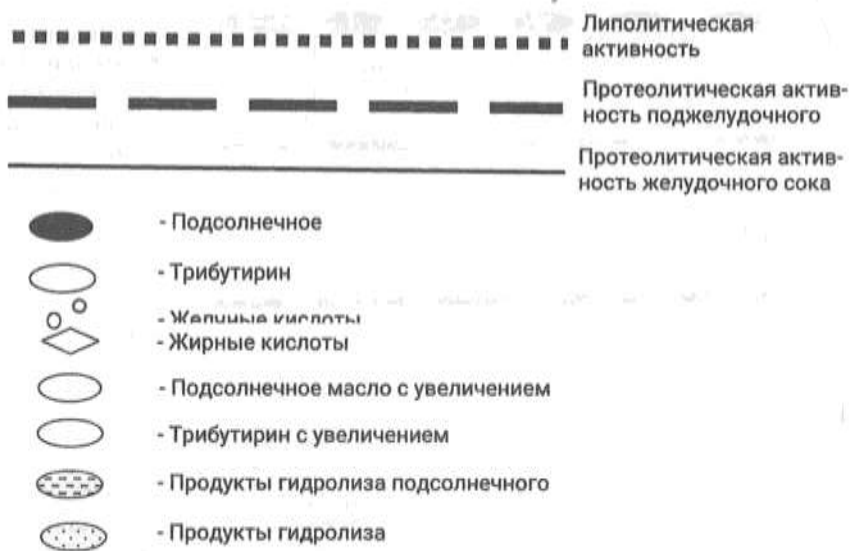
5 серия изменение протеолитической активности поджелудочного сока под влиянием различных белков использованных в качестве эмульгаторов трибутирина и подсолнечного масла.



6 серия изменение протеолитической активности поджелудочного и желудочного соков в зависимости от концентрации жиров, в составе белково-жировых эмульсий



7 серия изменение протеолитической активности поджелудочного и желудочного соков под влиянием продуктов гидролиза жиров, в составе белково-жировых эмульсий.



При условиях применения с желудочным или панкреатическим соком: только белка, масляной эмульсии без предварительной

преинкубации её без белка с поджелудочным соком, масляной эмульсии после предварительной 30 мин. преинкубации её без белка с поджелудочным соком, масляной эмульсии после предварительной 60 мин. преинкубации её без белка с поджелудочным соком.

В 8, 9, 10 сериях хронических экспериментов (180) на собаках (9), по 20 экспериментов на каждой собаке в 3 сериях. Исследовались в крови показатели триглицеридов и холестерина до и в течение 6 часов после кормления животных исследуемыми белками или белково-жировыми эмульсиями. Проводили исследования кормлением: 1- 200 мл 30% раствора казеина или гемоглобина или желатина; 2- 200 мл эмульсии, содержащей 30% казеина или гемоглобина или желатина и 5% подсолнечного масла; 3- 200 мл эмульсии, содержащей 30% казеина или гемоглобина или желатина подвергнутого 2 часовой инкубации при pH 2 желудочным соком, и 5% подсолнечного масла; 4 - 200 мл эмульсии, содержащей 30% казеина или гемоглобина или желатина подвергнутого 2 часовой инкубации при pH 8 поджелудочным соком, и 5% подсолнечного масла. Производился учет показателей в течение 6 часов наблюдения после кормления, а также учитывались показатели общего прироста по отношению к исходным показателям до кормления.

§2.2. Методы экспериментальных исследований

Техника проведения экспериментов на собаках.

Хирургическая подготовка собак к хроническим экспериментам проводилась общепринятыми методами на 9 собаках. У всех подопытных собак производилась операция наложения фистулы по Ба-сову. Дополнительно к Басовской фистуле производилась операция наложения U-образной панкреатической фистулы по

Бакурадзе. Операции выполнены под гексеналовым наркозом. Эксперименты на живот-ных начинались после заживления ран, восстановления аппетита, исходной массы тела и общего клинического состояния, но не рань-ше, чем через 1 месяц после операции. Примерно за 1-1,5 недели до начала эксперимента животные приучались к станку.

Собаки содержались в виварии института на смешанном и контролируемом в период экспериментов рационе. Опыты начинались через 18-20 часов после последнего кормления.

Определение протеолитической активности желудочного сока и поджелудочного соков определялась спектрофотометрическим методом и выражалась в "тирози-новых" единицах по калибровочному графику [11, с. 34-38]

Липолитическая активность поджелудочного сока определялась способом, в основе которого лежит метод определения глицерина, образующегося при липолизе, в количестве, эквивалентном количеству полностью гидролизованных молекул субстрата. [8, с. 746-747].

Исследование в крови показателей триглицеридов и холестерина производилось биохимическими методами (Стандартные комплекты ООО «Вектор-Бест», Россия).

§2.3. Статистические методы

Статистические расчеты проводились в программной среде Microsoft Windows с использованием пакетов программ Microsoft Office Excel-2012 и Statistica version 6.0. Полученные данные отражены в диссертации в виде $M \pm m$, где M – среднее значение вариационного ряда, m – стандартная ошибка среднего значения. Достоверность различий между независимыми выборками

определялось по методу Манна–Уитни и Стьюденту, в оценке динамики в парных рядах использован критерий Вилкоксона.

t-критерий Стьюдента вычисляли с использованием формулы:

$$t = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}}$$

где: М – среднее, m – стандартная ошибка среднего.

Полученную величину выверяли по таблице Стьюдента и получали критерий достоверности. Достоверность различий между средними принимали при $P < 0,05$.

Правильность результатов лабораторных данных выявляли с использованием формулы:

$$A = \frac{\text{Заданная величина} - \text{Истинная величина}}{\text{Заданная величина}} \cdot 100$$

Отклонение результатов в пределах $\pm 3\sigma$ считалось допустимым, и результаты лабораторных тестов расценивали как удовлетворительные.

ГЛАВА III. ЖЕЛУДОЧНЫЙ ГИДРОЛИЗ БЕЛКОВ В УЛУЧШЕНИИ ПЕРЕВАРИВАНИЯ ЖИРОВ И БЕЛКОВ ПОДЖЕЛУДОЧНЫМ СОКОМ

В проведенных к настоящему времени исследованиях установлено, что пищеварение - это взаимодополняющий процесс, в котором различные пищеварительные ферменты работают вместе, чтобы расщепить. Хотя более точную информацию о механизмах пищеварения можно получить, изучая очищенные белки, такие данные не позволяют прогнозировать переваривание сложных пищевых комплексов и могут быть неточными. Поэтому исследования пищеварения с использованием только очищенных белковых субстратов не рекомендуется. [152, с. 2034-2037].

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 [118, с. 321-325; 155, с. 6505-6509; 179, с. 105-109].

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. Активность белковых гидролизатов и пептидов зависит от их физико-химических свойств, включая гидрофобность аминокислотных остатков, но существует пробел в знаниях о детальных структурно-

функциональных отношениях и влиянии на всасывание триглицеридов [59, с. 1214-1217; 165, с. 8127-8132].

Хотя взаимодействие белков с жирными кислотами изучался десятилетиями. Однако только некоторые аспекты взаимодействия между белками и жирными кислотами были прояснены к настоящему времени. [66, с. 145-147].

Для решения поставленной задачи нами были проведены следующие серии экспериментов *in vitro*, описанные в данной главе. Исследовалось изменение липолитической активности поджелудочного сока под влиянием различных белков использованных в качестве эмульгаторов трибутирина содержащего короткоцепочные жирные кислоты (С4) и подсолнечного масла содержащего длиноцепочные жирные кислоты (С18) (1 серия). Проводилось изучение изменения липолитической активности поджелудочного сока под влиянием различных белков использованных в качестве эмульгаторов трибутирина и подсолнечного масла в присутствия желчи (2 серия). Изучалось влияние взаимодействия различных белков с желчными кислотами на протеолитическую активность поджелудочного сока (3 серия). Исследовались эффекты взаимодействия белков с жирными кислотами на протеолитическую активность поджелудочного сока (4 серия). Проводилось изучение изменения протеолитической активности поджелудочного и желудочного соков при использовании различной концентрации жиров (5 серия). Исследовалось изменение протеолитической активности поджелудочного и желудочного соков в зависимости от концентрации жиров, в составе белково-жировых эмульсий (6 серия). Исследовались эффекты взаимодействия продуктов гидролиза

жиров на протеолитическую активность желудочного и поджелудочного соков (7 серия).

§3.1. Изменение липолитической активности поджелудочного сока под влиянием различных белков использованных в качестве эмульгаторов трибутирина и подсолнечного масла

Ранее вопрос изменения липолитической активности поджелудочного сока под влиянием различных белков, в аспекте улучшения перевариваемости жиров не изучался в достаточной степени. Также не исследовался вопрос изменение липолитической активности поджелудочного сока под влиянием различных белков, в улучшении перевариваемости жиров имеющих различную длину жирных кислот. В данном разделе работы представлены сведения об изменении липолитической активности поджелудочного сока под влиянием различных белков в качестве эмульгаторов трибутирина имеющего короткоцепочные жирные кислоты (C4) и подсолнечного масла имеющего длинноцепочные жирные кислоты (C18).

По результатам проведенных 2520 биохимических исследований *in vitro*, в которых изучалось изменение липолитической активности поджелудочного сока под влиянием различных белков использованных в качестве эмульгаторов трибутирина и подсолнечного масла. Было установлено, что применение казеина в качестве эмульгатора, липолитическая активность значительно снижалась с применением его в концентрации 0,1%, и с увеличением концентрации казеина полностью отсутствовала без преинкубации при 0,4% с применением трибутирина и 0,3% подсолнечного масла. После предварительной 30 минутной преинкубации при 0,5% с использованием трибутирина и 0,4% подсолнечного масла, а после 60 минутной преинкубации с

желудочным соком при концентрации казеина 0,6% с использованием трибутирина и 0,5% с использованием подсолнечного масла (смотрите рисунок 3. 1 А и А1).

В исследованиях при использовании сывороточного альбумина в качестве эмульгатора, липолитическая активность значительно снижалась, начиная с концентрации 0,1% и без преинкубации до полного отсутствия её активности при 0,7% трибутирина и 0,4% концентрации подсолнечного масла. После предварительной 30 минутной преинкубации при 0,7% с использованием трибутирина и 0,7% подсолнечного масла, а после 60 минутной преинкубации с желудочным соком при концентрации казеина 0,8% с использованием трибутирина и 0,5% с использованием подсолнечного масла (смотрите рисунок 1Б и Б1).

Применение гемоглобина в качестве эмульгатора, способствовало также значительному снижению липолитической активности при концентрации его 0,1% и без преинкубации до полного отсутствия активности при концентрации гемоглобина 0,5% с использованием трибутирина и 0,4% с использованием подсолнечного масла. После предварительной 30 минутной преинкубации при 0,6% с использованием трибутирина и 0,6% подсолнечного масла, а после 60 минутной преинкубации с желудочным соком при концентрации казеина 0,7% с использованием трибутирина и 0,5% с использованием подсолнечного масла (смотрите рисунок 1 В и В1).

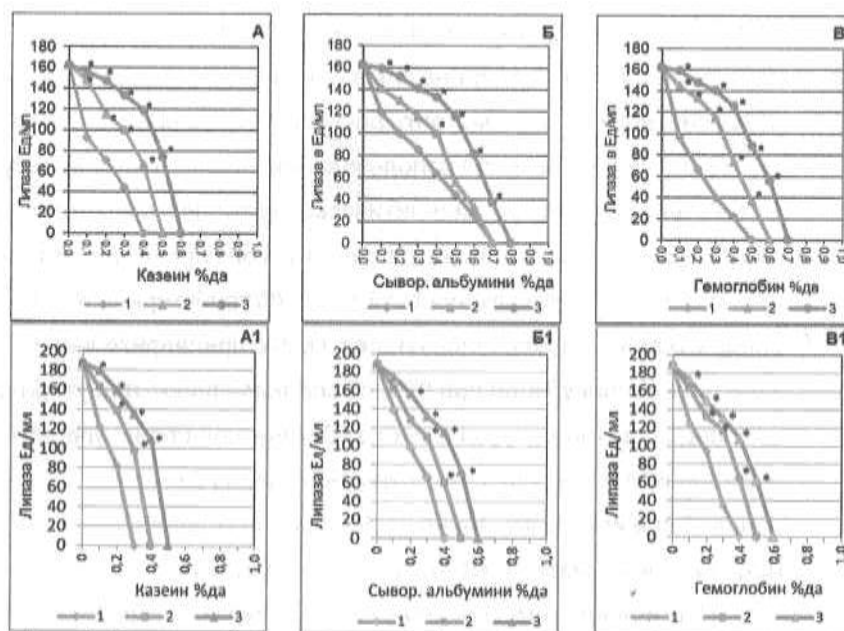


Рис. 1. Влияние белков различной концентрации после гидролиза желудочным соком на активность липазы ($\times 10^3$) поджелудочного сока

Примечание: А, Б, В, - трибутирин, А1, Б1, В1, - подсолнечное масло, 1- без преинкубации с желудочным соком, 2- после 30 мин. преинкубации с желудочным соком, 3- после 60 мин. преинкубации с желудочным соком. *- достоверно отличающиеся величина по отношению к показателям без преинкубации с желудочным соком.

Применение яичного белка в качестве эмульгатора, способствовало более значительному снижению липолитической активности по сравнению с применением казеина, сывороточного альбумина и гемоглобина. Это снижение проявлялось при концентрации яичного белка 0,1% и без преинкубации до полного отсутствия липолитической активности при 0,3% концентрации трибутирина и подсолнечного масла. После предварительной 30 минутной преинкубации при 0,3% с использованием трибутирина и 0,2% подсолнечного масла, а после 60 минутной преинкубации с

желудочным соком при концентрации казеина 0,3% с использованием трибутирина и подсолнечного масла (смотрите рисунок 2 Г и Г1).

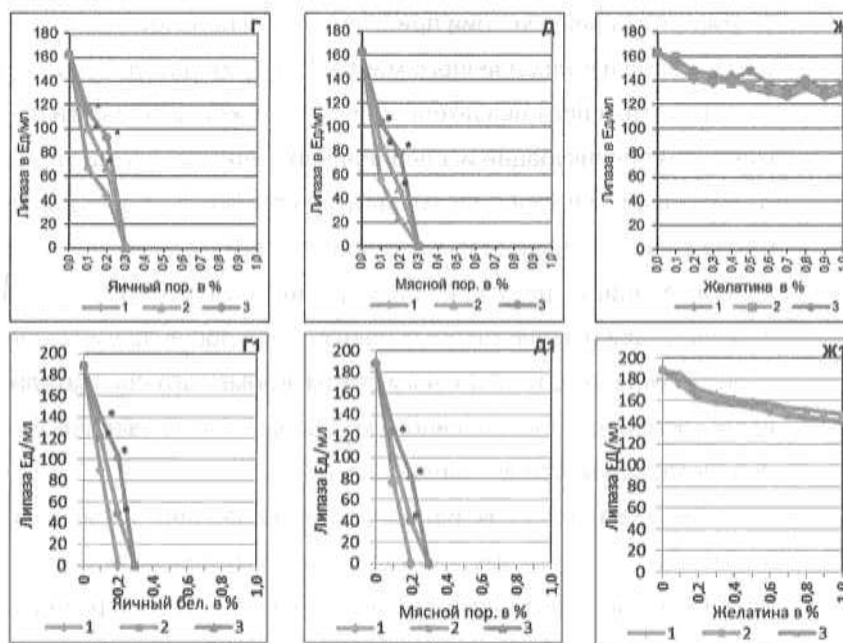


Рис. 2. Влияние белков различной концентрации после гидролиза желудочным соком на активность липазы ($\times 10^3$) поджелудочного сока.

Примечание: Г, Д, Ж, - трибутирин, Г1, Д1, Ж1, - подсолнечное масло, 1- без преинкубации с желудочным соком, 2- после 30 мин. преинкубации с желудочным соком, 3- после 60 мин. преинкубации с желудочным соком. * - достоверно отличающиеся величина по отношению к показателям без преинкубации с желудочным соком.

Использование мясного порошка в качестве эмульгатора трибутирина и подсолнечного масла, 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 изменениям с применением яичного порошка. Это снижение проявлялось так же, при концентрации мясного порошка от 0,1% и

без преинкубации до полного отсутствия липолитической активности при концентрации 0,3% при использовании трибутирина и 0,2% при использовании подсолнечного масла. После предварительной 30 и 60 минутной преинкубации при 0,3% как с использованием трибутирина и подсолнечного масла (смотрите рисунок 2 Д и Д1).

При этом все показатели липолитической активности после 60 минутной преинкубации исследованных белков с желудочным соком и применением в качестве эмульгатора трибутирина и подсолнечного масла были достоверно выше таковых показателей с использованием трибутирина и подсолнечного масла без преинкубации и выше таковых показателей после 30 минутной преинкубации их с желудочным соком. Кроме того показатели с использованием подсолнечного масла были ниже таковых с использованием трибутирина.

Липолитическая активность в исследованиях с применением желатина в качестве эмульгатора, как трибутирина, так и подсолнечного масла, существенно не снижалась, при различных ее концентрациях от 0,1% до 1%, как без преинкубации, так и после 30 и 60 минутной преинкубации (смотрите рисунок 2 Ж и Ж1).

Полученные данные показывают, что все исследованные белки, кроме желатина 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, 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. Следует так же отметить, что ингибирующая способность белками липазы также зависит от физико-химических свойств жиров. Жиры, имеющие в своем составе короткоцепочные жирные кислоты, в меньшей степени обладают ингибирующей способностью белками липазы, а жиры имеющие длинноцепочные жирные кислоты в большей степени. Это может быть связано с тем, что жиры, имеющие в своем составе короткоцепочные жирные кислоты, способствуют в меньшей степени конкурентной адсорбции белков по отношению к липазе на поверхности жировых капель, по сравнению с жирами имеющие в своем составе длинноцепочные жирные кислоты.

Таким образом, 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.

§3.2. Изменение липолитической активности поджелудочного сока под влиянием различных белков использованных в качестве эмульгаторов трибутирина и подсолнечного масла в присутствия желчи

Помимо вопроса изменения липолитической активности поджелудочного сока под влиянием различных белков, в плане улучшения перевариваемости жиров представляло интерес изучение влияния желчи на этот процесс. В данном разделе работы представлены данные влияния различных белков на перевариваемость жиров в присутствии желчи.

По результатам проведенных 3024 биохимических исследований *in vitro*, в которых изучалось изменение липолитической активности поджелудочного сока под влиянием различных белков в присутствии желчи.

В данном исследовании установлено, что при применении казеина в качестве эмульгатора трибутирина совместно с желчью, без преинкубации его с желудочным соком. С увеличением концентрации казеина до 12% активность липазы повышается, а при концентрации 16% активность липазы полностью исчезла. С применением казеина в качестве эмульгатора подсолнечного масла совместно с желчью, концентрации казеина до 9% активность липазы повышается, а при концентрации 12% активность липазы полностью исчезает (смотрите рисунок 3 А и А1).

После предварительной 30 минутной преинкубации казеина с желудочным соком и дальнейшем использовании его в качестве эмульгатора трибутирина совместно с желчью, липолитическая активность с увеличением его концентрации до 8% повышалась и затем значительно снижалась до полного отсутствия при концентрации 24%. В тоже время с применением казеина в качестве эмульгатора подсолнечного масла совместно с желчью, липолитическая активность с увеличением его до концентрации 10% повышалась и затем значительно снижалась и полностью отсутствовала при концентрации 18% (смотрите рисунок 3А и А1).

Подобная тенденция динамики изменения активности липазы отмечалась с использованием в качестве эмульгатора трибутирина совместно с желчью. Липолитическая активность с увеличением его концентрации до 10% повышалась и затем значительно снижалась до концентрации 36%, когда полностью отсутствовала. При этом с применением казеина в качестве эмульгатора подсолнечного масла совместно с желчью, липолитическая активность с увеличением его концентрации до 12% повышалась и затем значительно снижалась и полностью отсутствовала при концентрации 26% (смотрите рисунок 3А и А1).

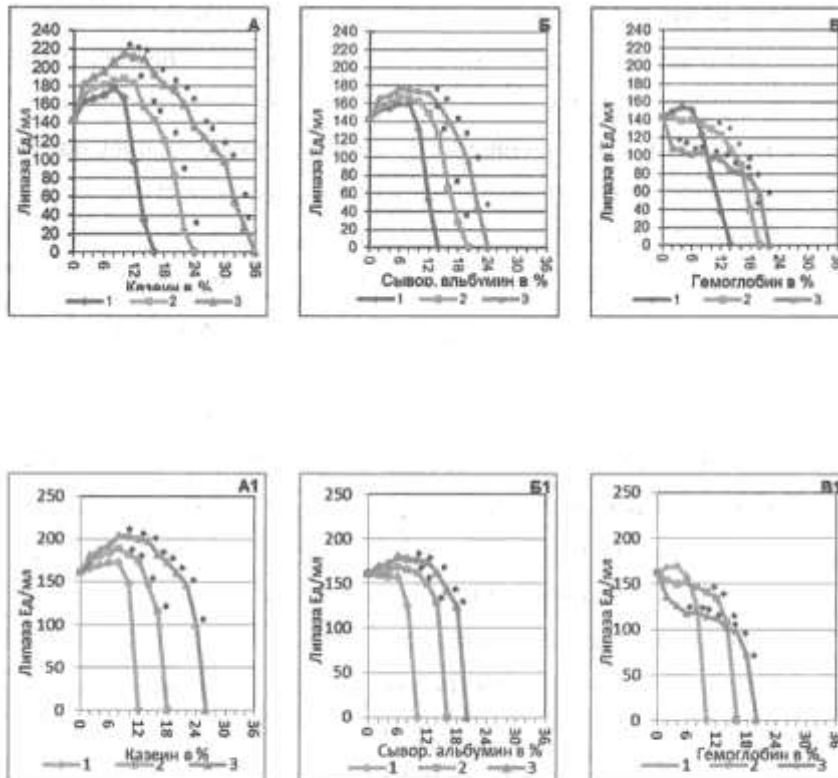


Рис. 3. Влияние белков различной концентрации в присутствии желчи на активность липазы ($\times 10^3$) поджелудочного сока, до и после гидролиза их желудочным соком

Примечание: А, Б, В, - трибутирин, А1, Б1, В1, - подсолнечное масло 1- без преинкубации с желудочным соком, 2- после 30 мин. преинкубации с желудочным соком, 3- после 60 мин. преинкубации с желудочным соком. * - достоверно отличающиеся величина по отношению к показателям без преинкубации с желудочным соком.

Результаты исследований так же показали, что при использовании сывороточного альбумина в качестве эмульгатора совместно с желчью, липолитическая активность с увеличением его концентрации до 8% повышалась и затем значительно снижалась до концентрации 14%, когда полностью отсутствовал а её активность. С применением сывороточного альбумина в качестве эмульгатора подсолнечного масла совместно с желчью, липолитическая активность с увеличением его концентрации до 9% повышалась и затем значительно снижалась и полностью отсутствовала при концентрации 12% (смотрите рисунок 3 Б и Б1).

После предварительной 30 минутной преинкубации сывороточного альбумина с желудочным соком и дальнейшем использовании в качестве эмульгатора трибутирина совместно с желчью, липолитическая активность с увеличением его концентрации до 6% повышалась и затем значительно снижалась до концентрации 20%, когда полностью отсутствовала. При этом использование в качестве эмульгатора подсолнечного масла совместно с желчью, липолитическая активность с увеличением его концентрации до 6% повышалась и затем значительно снижалась и полностью отсутствовала при концентрации 16% (смотрите рисунок 3 Б и Б1).

Такая же динамика изменения активности липазы отмечалась при использовании в качестве эмульгатора трибутирина сывороточным альбумином совместно с желчью и после 60

минутной преинкубации его с желудочным соком. Липолитическая активность с увеличением его концентрации до 8% повышалась и затем значительно снижалась до концентрации 24%, когда полностью отсутствовала. При этом с применением же сывороточного альбумина в качестве эмульгатора подсолнечного масла совместно с желчью, липолитическая активность с увеличением его концентрации до 12% повышалась и затем значительно снижалась и полностью отсутствовала при концентрации 20% (смотрите рисунок 3 Б и Б1).

Помимо этого результаты исследований так же показали, что при использовании гемоглобина в качестве эмульгатора трибутирина совместно с желчью, липолитическая активность с увеличением его концентрации до 4% повышалась и затем значительно снижалась до концентрации 14%, когда полностью отсутствовала её активность. При этом с применением гемоглобина в качестве эмульгатора подсолнечного масла совместно с желчью, липолитическая активность с увеличением его концентрации до 4% повышалась и затем значительно снижалась и полностью отсутствовала при концентрации 10% (смотрите рисунок 3 В и В1).

После предварительной 30 минутной преинкубации гемоглобина с желудочным соком и дальнейшем использовании его в качестве эмульгатора трибутирина совместно с желчью, липолитическая активность с увеличением его концентрации постепенно снижалась до концентрации 20%, когда полностью отсутствовала. При этом использование в качестве эмульгатора подсолнечного масла гемоглобина совместно с желчью, липолитическая активность с увеличением его плавно снижалась и

полностью отсутствовала при концентрации 16% (смотрите рисунок 3 В и В1).

После 60 минутной преинкубации гемоглобина с желудочным соком и использовании гемоглобина в качестве эмульгатора трибутирина совместно с желчью, липолитическая активность с увеличением его концентрации значительно снижалась до концентрации 22%, когда полностью отсутствовала. Кроме того использование в качестве эмульгатора подсолнечного масла гемоглобином совместно с желчью, липолитическая активность с увеличением его концентрации значительно снижалась и полностью отсутствовала при концентрации гемоглобина 20% (смотрите рисунок 3 В и В1).

В результате исследования было установлено, что при использовании яичного белка в качестве эмульгатора трибутирина совместно с желчью, с увеличением его концентрации до 4% активность липазы повышалась, а при концентрации 14% полностью исчезала её активность, постепенно снижаясь. С применением яичного белков качестве эмульгатора подсолнечного масла совместно с желчью, с увеличением его концентрации до 4% активность липазы повышалась, а при концентрации 8% полностью исчезала постепенно снижаясь (смотрите рисунок 4Г и Г1).

После предварительной 30 минутной преинкубации яичного белка различной концентрации с желудочным соком и дальнейшем использовании их в качестве эмульгатора трибутирина совместно с желчью, липолитическая активность с увеличением его концентрации повышалась до 4%, а затем снижалась до концентрации 14%, когда полностью отсутствовала. В тоже время с применением яичного белка в качестве эмульгатора яичного белка подсолнечного масла совместно с желчью, липолитическая

активность с увеличением его повышалась до 4% и далее снижалась и полностью отсутствовала при концентрации 12% (смотрите рисунок 4 Г и Г1).

После 60 минутной преинкубации яичного белка с желудочным соком и использовании в качестве эмульгатора трибутирина, совместно с желчью, липолитическая активность с увеличением его концентрации значительно снижалась до концентрации 20%, когда полностью отсутствовала. В тоже время с применением яичного белка в качестве эмульгатора подсолнечного масла совместно с желчью, липолитическая активность с увеличением его концентрации значительно снижалась и полностью отсутствовала при концентрации яичного белка 16% (смотрите рисунок 4 Г и Г1).

Так же результаты исследований показали, что при использовании мясного порошка в качестве эмульгатора трибутирина совместно с желчью, липолитическая активность с увеличением его концентрации снижалась до концентрации 10%, когда полностью отсутствовала. С применением мясного порошка в качестве эмульгатора подсолнечного масла совместно с желчью, липолитическая активность с увеличением его концентрации снижалась и полностью отсутствовала при концентрации 6% (смотрите рисунок 4 Д и Д1).

После предварительной 30 минутной преинкубации мясного порошка различной концентрации с желудочным соком и дальнейшем использовании их в качестве эмульгатора трибутирина совместно с желчью, липолитическая активность с увеличением его концентрации снижалась до концентрации 16%, когда полностью отсутствовала. В тоже время с применением в качестве эмульгатора мясного порошка и подсолнечного масла совместно с желчью, липолитическая активность с увеличением его снижалась и

полностью отсутствовала при концентрации 10% (смотрите рисунок 4 Д и Д1).

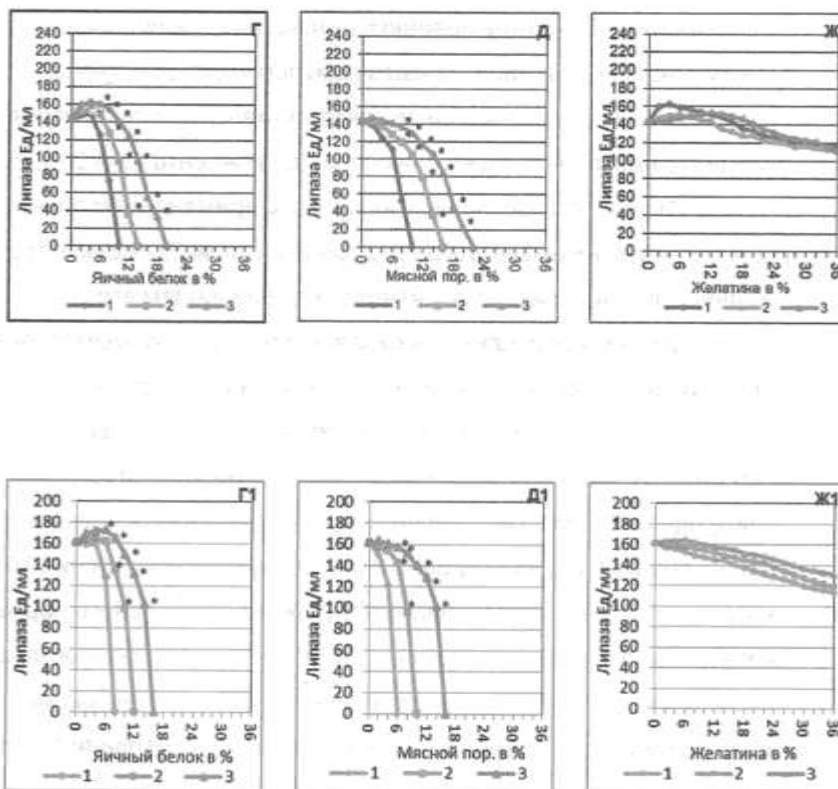


Рис. 4. Влияние белков различной концентрации в присутствии желчи на активность липазы ($\times 10^3$) поджелудочного сока, до и после гидролиза их желудочным соком

Примечание: Г, Д, Ж, - трибутирин, Г1, Д1, Ж1, - подсолнечное масло 1- без преинкубации с желудочным соком, 2- после 30 мин. преинкубации с желудочным соком, 3- после 60 мин. преинкубации с желудочным соком. * - достоверно отличающиеся величина по отношению к показателям без преинкубации с желудочным соком.

После 60 минутной преинкубации мясного порошка и использования в качестве эмульгатора трибутирина совместно с желчью, липолитическая активность с увеличением его концентрации значительно снижалась до концентрации 22%, когда полностью отсутствовала. В тоже время с применением мясного порошка в качестве эмульгатора подсолнечного масла совместно с желчью, липолитическая активность с увеличением его концентрации значительно снижалась и полностью отсутствовала при концентрации 16% (смотрите рисунок 4 Д и Д1).

Липолитическая активность в исследованиях с применением желатина в качестве эмульгатора, как трибутирина, так и подсолнечного масла, существенно не снижалась, при различных ее концентрациях как без желчи, так и с желчью, такие же эффекты отмечались как без преинкубации, так и после 30 и 60 минутной преинкубации (смотрите рисунок 4 Ж и Ж1).

Полученные данные показали, что все белки кроме желатина в отсутствии желчных кислот обладают ингибирующим действием на липазу в составе панкреатического сока в более низких концентрациях. В тоже время при использовании их в качестве эмульгатора, совместно с желчью, эти белки ингибировали липазу при значительно более высоких концентрациях. При увеличении концентрации белков сначала вызывалось повышение активности панкреатической липазы, возможно за счет увеличения эмульгируемости смешанного субстрата используемого для определения панкреатической липазы. Затем при достижении концентрации белков до определенного уровня, отмечалось значительное снижение активности липазы, которое доходило до нуля. Что касается отсутствия ингибирующих эффектов желатина на панкреатическую липазу. То возможно это связано с тем, что

молекулы липазы обладают более высокой конкурентной адсорбцией на поверхности жировых капель по отношению к молекулам желатина. Это также может связано с тем, что желатин является продуктом гидролиза белка коллагена, содержащим крупные пептидные молекулы, обладающим меньшим молекулярным весом и за счет чего меньшей конкурентной адсорбцией.

После 30 минутной, а еще в большей мере после 60 минутной преинкубации с желудочным соком, белков, и дальнейшем использовании их в качестве эмульгаторов. Липолитическая активность панкреатического сока, при отсутствии желчных кислот, по сравнению с таковыми показателями без преинкубации, достоверно повышалась. Что указывает на снижение ингибирования белками связанного с уменьшением их количества за счет гидролиза при преинкубации и отсутствие ингибирующего влияния на липолитическую активность панкреатической липазы продуктами их гидролиза.

Так же ингибирующая способность белками липазы зависела от физико-химических свойств жиров. Жиры, имеющие в своем составе короткоцепочные жирные кислоты в меньшей степени обладают ингибирующей способностью белками липазы, а жиры имеющие длинноцепочные жирные кислоты в большей степени.

§3.3. Влияние взаимодействия различных белков с желчными кислотами на протеолитическую активность поджелудочного сока

Вопрос изучения влияния взаимодействия различных белков с желчными кислотами на протеолитическую активность поджелудочного сока представляет интерес в связи с тем, что показано связывание желчных кислот с белками и влияние на

вторичную структуру [31, с. 74-79; 178, с. 89-93]. В данном разделе работы представлены сведения об изменении протеолитической активности поджелудочного сока, под влиянием желчных кислот с использованием в качестве субстрата различных белков.

По результатам проведенных 252 биохимических исследований *in vitro*, в которых изучалось изменение протеолитической активности поджелудочного сока.

При исследовании влияния взаимодействия различных белков с желчными кислотами, на ОПА под влиянием поджелудочного сока, было выявлено, что при использовании казеина 0.5% без желчи ОПА поджелудочного сока составляла 1142.4 ± 97.4 Ед/мл, а при использовании такового казеина совместно с желчью ОПА составляла 851.8 ± 62.7 Ед/мл ($P < 0.05$), что было достоверно ниже, чем без желчи. При этом с применением 1% казеина без желчи ОПА составляла 1393.6 ± 117.5 Ед/мл, а с желчью отмечалось не достоверное снижение ОПА до 1223.9 ± 93.6 Ед/мл. В тоже время при использовании 2% казеина без желчи ОПА составляла 1644.8 ± 135.8 Ед/мл. Применение 2% казеина с желчью вызывало не достоверное снижение ОПА поджелудочного сока до 1526.8 ± 127.5 Ед/мл (смотрите рисунок 5).

С применением сывороточного альбумина 0.5% без желчи ОПА поджелудочного сока составляла 999.8 ± 65.3 Ед/мл, с использованием же сывороточного альбумина 0,5% с желчью ОПА была достоверно ниже, чем без желчи и составляла 671.5 ± 45.2 Ед/мл ($P < 0.001$). При применении 1% сывороточного альбумина без желчи ОПА составляла 1250.8 ± 102.7 Ед/мл, с желчью отмечалось не достоверное увеличение ОПА до 1143.5 ± 86.4 Ед/мл. В тоже время при использовании 2% сывороточного альбумина без желчи ОПА составляла 1502.3 ± 124.6 Ед/мл. Применение 2% сывороточного

альбумина с желчью вызывало не достоверное снижение ОПА поджелудочного сока до $1437,2 \pm 116,9$ Ед/мл (смотрите рисунок 5).

При использовании гемоглобина 0.5% без желчи ОПА поджелудочного сока составляла $1285,2 \pm 84,2$ Ед/мл, с использованием же гемоглобина 0,5% с желчью ОПА была достоверно меньше, чем без желчи и составляла $918,7 \pm 61,7$ Ед/мл ($P < 0,001$). При употреблении 1% гемоглобина без желчи ОПА составляла $1536,4 \pm 126,3$ Ед/мл, с желчью отмечалось не достоверное снижение ОПА до $1374,3 \pm 115,9$ Ед/мл. При этом с применением 2% гемоглобина без желчи ОПА составляла $1787,6 \pm 138,6$ Ед/мл, а 2% гемоглобина с желчью вызывало не достоверное снижение ОПА поджелудочного сока до $1678,9 \pm 139,5$ Ед/мл (смотрите рисунок 3.5).

С употреблением яичного белка 0,5% без желчи ОПА поджелудочного сока была равна $856,8 \pm 59,4$ Ед/мл, с применением же яичного белка 0,5% с желчью ОПА была достоверно меньше, чем без желчи и составляла $634,1 \pm 41,7$ Ед/мл ($P < 0,001$). При употреблении 1% яичного белка без желчи ОПА составляла $1108,7 \pm 86,1$ Ед/мл, с желчью отмечалось не достоверное снижение ОПА до $973,5 \pm 79,5$ Ед/мл. В то же время с использованием 2% яичного белка без желчи ОПА составляла $1359,2 \pm 95,3$ Ед/мл, а 2% яичного белка с желчью вызывало не достоверное снижение ОПА поджелудочного сока до $1297,6 \pm 83,9$ Ед/мл (смотрите рисунок 5).

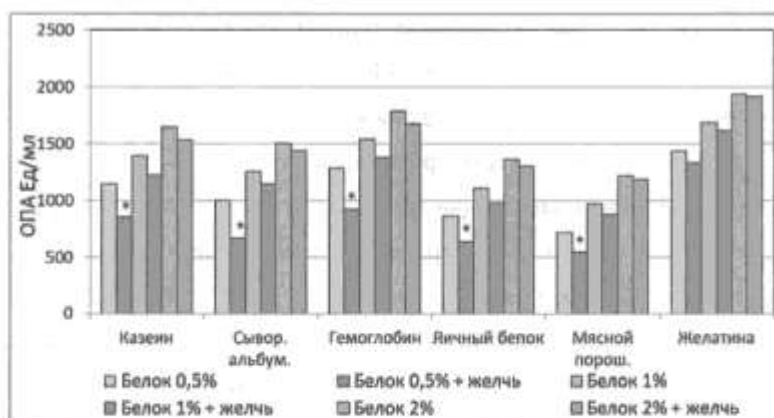


Рис. 5. Изменение протеолитической активности (Ед/мл) поджелудочного сока под влиянием желчных кислот с использованием различных белков

*- достоверно отличающиеся величины по отношению к показателям и с пользования в качестве субстрата только белка.

С применением мясного порошка 0.5% без желчи ОПА поджелудочного сока составляла $714,2 \pm 51,1$ Ед/мл, с использованием же мясного порошка 0,5% с желчью ОПА была достоверно ниже, чем без желчи и составляла $546,3 \pm 39,8$ Ед/мл ($P < 0,05$). При употреблении 1% мясного порошка без желчи ОПА составляла $965,2 \pm 72,8$ Ед/мл, с желчью отмечалось не достоверное снижение ОПА до $873,7 \pm 57,4$ Ед/мл. При этом с применением 2% мясного порошка без желчи ОПА составляла $1216,4 \pm 91,5$ Ед/мл, а 2% мясного порошка с желчью вызывало достоверное снижение ОПА поджелудочного сока до $1184,9 \pm 89,2$ Ед/мл (смотрите рисунок 5).

С использованием желатина 0.5% без желчи ОПА поджелудочного сока составляла $1431,3 \pm 127,5$ Ед/мл, а с использованием желатина 0,5% с желчью ОПА была не достоверно меньше, чем без желчи и составляла $1326,5 \pm 114,6$ Ед/мл. С применением 1% желатина без желчи ОПА составляла $1682,2 \pm 139,9$ Ед/мл, с желчью отмечалось не достоверное снижение ОПА до

1618,1±125,1 Ед/мл. При этом с применением 2% желатина без желчи ОПА составляла 1933,5±157,3 Ед/мл, а 2% желатина с желчью вызывало не достоверное снижение ОПА поджелудочного сока до 1912,4±153,4 Ед/мл (смотрите рисунок 5).

Полученные данные показывают, что ОПА поджелудочного сока при низкой концентрации белкового субстрата достоверно снижается. Эти изменения проявляются со всеми исследуемыми белками, кроме желатина, где эта способность менее выражена. Объяснить механизм снижения ОПА под влиянием протеаз поджелудочного сока можно тем, что желчные кислоты связываются с белками и тем самым препятствуют действию протеаз на белковые молекулы. С увеличением концентрации белка эффект снижения ОПА уменьшается. Это можно объяснить тем, что желчные кислоты связывают определенное количество белка, а с увеличением концентрации белка, повышается количество белка не связанного с желчными кислотами. Увеличение свободных белков, которые подвергаются действию протеаз, способствует увеличению продуктов гидролиза белка, по которым мы судим об увеличении активности протеаз. В тоже время менее выраженные эффекты с желатином по сравнению с другими белками можно объяснить меньшим связыванием желчных кислот с этим белком.

Таким образом, можно заключить, что желчные кислоты, входящие в состав желчи, могут связываться с белками. Так было показано изменение вторичной структуры белка из-за положительного кооперативного эффекта связывания желчных солей с белком [31, с. 74-79; 178, с. 89-93]. Кроме того желчные кислоты могут создавать препятствие перевариванию белков в двенадцатиперстной кишке [85, с. 345-348].

§3.4. Эффекты взаимодействия белков с жирными кислотами на протеолитическую активность поджелудочного сока

Влияния взаимодействия различных белков с жирными кислотами на протеолитическую активность поджелудочного сока представляет интерес в связи с тем, что показаны возможные конформационные изменения при связывании молекул жирных кислот с белками. На основании расчетов свободной энергии связывания были идентифицированы сайты связывания с высоким и низким сродством жирных кислот с сывороточным альбумином [53, с. 5427-5431; 63, с. 183-186].

В данном разделе работы представлены сведения об изменении протеолитической активности поджелудочного сока, под влиянием жирных кислот с использованием в качестве субстрата различных белков.

По результатам проведенных 336 биохимических исследований *in vitro*, в которых изучалось изменение протеолитической активности поджелудочного сока.

На основании полученных результатов влияния взаимодействия различных белков с жирными кислотами, на ОПА под влиянием поджелудочного сока, было установлено, что при использовании казеина без масляной кислоты, ОПА поджелудочного сока составляла $1134 \pm 83,7$ Ед/мл. С применением же казеина совместно с 0,5% и 1% масляной кислотой - C_4 отмечалось незначительное снижение ОПА поджелудочного сока, а с применением 2% масляной кислоты - C_4 наблюдалось более выраженное, но не достоверное снижение ОПА которое составляло $979 \pm 61,8$ Ед/мл. В тоже время с использованием казеина совместно с 0,5% олеиновой кислотой - C_{18} ОПА поджелудочного сока по отношению к показателям без олеиновой кислоты не значительно повышалась.

При этом совместно с 1% олеиновой кислотой - C_{18} ОПА поджелудочного сока не достоверно снижалась, а с применением казеина совместно с 2% олеиновой кислотой - C_{18} ОПА поджелудочного сока достоверно снижалась до $831 \pm 62,6$ Ед/мл (смотрите таблицу 1).

Так же было обнаружено, что при использовании сывороточного альбумина без масляной кислоты, ОПА поджелудочного сока составляла $968 \pm 72,8$ Ед/мл. С применением сывороточного альбумина совместно с 0,5% и 1% масляной кислотой - C_4 отмечалось не значительное снижение ОПА поджелудочного сока, а с применением совместно сывороточного альбумина и 2% масляной кислоты - C_4 наблюдалось более выраженное, но не достоверное снижение ОПА которое составляло $824 \pm 51,9$ Ед/мл. В тоже время с использованием сывороточного альбумина совместно с 0,5% олеиновой кислотой - C_{18} ОПА поджелудочного сока по отношению к показателям без олеиновой кислоты не значительно снижалась. При этом совместно с 1% олеиновой кислотой - C_{18} ОПА поджелудочного сока достоверно снижалась, а с применением сывороточного альбумина совместно с 2% олеиновой кислотой - C_{18} ОПА поджелудочного сока еще больше достоверно снижалась и составляла $685 \pm 51,9$ Ед/мл (смотрите таблицу 3.1).

Кроме того было установлено, что с применением гемоглобина без масляной кислоты, ОПА поджелудочного сока составляла $1073 \pm 88,1$ Ед/мл. С применением гемоглобина совместно с 0,5% и 1% масляной кислотой - C_4 отмечалось не значительное снижение ОПА поджелудочного сока, а с применением совместно гемоглобина и 2% масляной кислоты - C_4 наблюдалось более выраженное, но не достоверное снижение ОПА которое составляло $875 \pm 57,4$ Ед/мл. В тоже время с использованием гемоглобина совместно с 0,5%

олеиновой кислотой - C₁₈ ОПА поджелудочного сока по отношению к показателям без олеиновой кислоты не достоверно снижалась. При этом совместно с 1% олеиновой кислотой - C₁₈ ОПА поджелудочного сока отмечалось достоверное снижение, а с применением гемоглобина совместно с 2% олеиновой кислотой - C₁₈ ОПА поджелудочного сока еще более значительное достоверно снижение которое составляло 622±48,5Ед/мл(смотрите таблицу 3.1).

С применением яичного белка без масляной кислоты, ОПА поджелудочного сока составляла 854±76,2 Ед/мл. С применением яичного белка совместно с 0,5% масляной кислотой - C₄ отмечалось не значительное повышение ОПА поджелудочного сока, а с применением совместно яичного белка и 1% и 2% масляной кислоты - C₄ наблюдалось не значительное снижение ОПА которое, при этом с 2% масляной кислотой - C₄ составляло 811±57,4 Ед/мл. В тоже время с использованием яичного белка совместно с 0,5% и 1% олеиновой кислотой - C₁₈ ОПА поджелудочного сока по отношению к показателям без олеиновой кислоты не достоверно повышалась. Совместно же с 2% олеиновой кислотой - C₁₈ ОПА поджелудочного сока отмечалось достоверное снижение до 653±41,5Ед/мл (смотрите таблицу 3.1).

Таблица 3.1

Изменение протеолитической активности (Ед/мл) поджелудочного сока под влиянием жирных кислот

	Масляная кислота - C ₄				Олеиновая кислота - C ₁₈			
	1	2	3	4	1	2	3	4
Казеин	1134± 83,7	1108± 79,5	1117± 67,9	979± 61,8	1134± 83,7	1179± 99,3	917± 76,4	831± 62,6*
Сывороточный альбумин	968± 72,8	914± 65,2	875± 59,7	824± 51,9	968± 72,8	837± 69,4	763± 56,4*	685± 51,9*
Гемоглобин	1073± 88,1	987± 73,5	913± 68,7	875± 57,4	1073± 88,1	876± 68,2	712± 54,7*	622± 48,5*
Яичный белок	854± 76,2	865± 81,3	842± 69,4	811± 72,8	854±7 6,2	968± 83,7	893± 71,6	653± 41,5*
Мясной порошок	698± 66,9	687± 52,6	671± 48,5	634± 41,7	698± 66,9	583± 43,2	491± 37,5*	407± 34,6*

Желатина	1388± 97,3	1351± 106,1	1396± 91,7	1318± 85,9	1388± 97,3	1372± 121,8	1335± 113,5	1267± 106,9
----------	---------------	----------------	---------------	---------------	---------------	----------------	----------------	----------------

Примечание: в качестве субстрата использовались: 1- только белок, 2- белок + жирная кислота 0,5%, 3- белок + жирная кислота 1%. 4 - белок + жирная кислота 2%. * - достоверно отличающиеся величины по отношению к показателям использования в качестве субстрата только белка.

Из полученных данных выявлено, что с применением мясного порошка без масляной кислоты, ОПА поджелудочного сока составляла $698 \pm 66,9$ Ед/мл. С применением мясного порошка совместно с 0,5% и 1% масляной кислотой - C_4 отмечалось незначительное снижение ОПА поджелудочного сока, а с применением совместно мясного порошка и 2% масляной кислоты - C_4 наблюдалось более выраженное, но не достоверное снижение ОПА которое составляло $634 \pm 41,7$ Ед/мл. В тоже время с использованием мясного порошка совместно с 0,5% олеиновой кислотой - C_{18} ОПА поджелудочного сока по отношению к показателям без олеиновой кислоты не достоверно снижалась. А совместно мясного порошка с 1% и 2% олеиновой кислотой - C_{18} ОПА поджелудочного сока отмечалось достоверное снижение показателей, которое составляло с 2% олеиновой кислотой - C_{18} $407 \pm 34,6$ Ед/мл (смотрите таблицу 1).

Эффекты применение желатина как с масляной кислотой - C_4 , так и с олеиновой кислотой - C_{18} при различных их концентрациях, в отличии от применения выше описанных белков были менее выражены с не существенным снижением показателей ОПА при применении 2%, как с масляной кислотой - C_4 , так и с олеиновой кислотой - C_{18} .

Результаты этих исследований демонстрируют, что ОПА поджелудочного сока не одинаково изменяется в меньшую сторону у различных белков при низкой концентрации жирных кислот. Однако у всех белков при увеличении до 2% концентрации жирных кислот отмечается снижение ОПА. Эти эффекты снижения ОПА с применением высоких концентраций жирных кислот в меньшей

степени выявлялись при использовании масляной кислоты - C_4 . Где у всех белков отмечалось однонаправленное недостоверное снижение ОПА поджелудочного сока. В тоже время, с использованием олеиновой кислоты - C_{18} , с увеличением её концентрации, отмечалось выраженное и достоверное снижение ОПА с применением ряда белков, таких как сывороточный альбумин, гемоглобин и мясной порошок, при концентрации олеиновой кислоты - C_{18} в 1%. При этом у всех использованных белков, кроме желатина отмечалось более выраженное и достоверное снижение ОПА при концентрации до 2%. Из полученных данных видно, что чем больше молекулярная масса или длинна цепи жирной кислоты, тем в большей мере может проявляться взаимодействие их с белками и это может оказывать препятствие в переваривании белков в двенадцатиперстной кишке.

§3.5. Изменение протеолитической активности поджелудочного сока под влиянием трибутирина и подсолнечного масла в составе белково-жировых эмульсий

Вопрос изменения протеолитической активности поджелудочного сока под влиянием трибутирина имеющего короткоцепочные жирные кислоты (C_4) и подсолнечного масла имеющего длинноцепочные жирные кислоты (C_{18}), с использованием различных белков, в аспекте улучшения их перевариваемости не изучался в достаточной степени. В данном разделе работы представлены сведения об изменении протеолитической активности поджелудочного сока при использовании различных белков в качестве эмульгаторов трибутирина имеющего короткоцепочные жирные кислоты (C_4) и подсолнечного масла имеющего длинноцепочные жирные кислоты (C_{18}).

По результатам проведенных 3360 биохимических исследований *in vitro*, в которых изучалось изменение

протеолитической активности поджелудочного сока под влиянием различных белков использованных в качестве эмульгаторов трибутирина и подсолнечного масла.

В результате исследования ОПА поджелудочного сока с применением белково-жировых эмульсий, было установлено, что динамика изменения повышения показателей ОПА без преинкубации казеина с желудочным соком, при использовании эмульсии из казеина и трибутирина, а также казеина и подсолнечного масла была не достоверно выше, по сравнению с ОПА без жировой эмульсии. Также установлено, что динамики показателей ОПА с применением подсолнечного масла в составе жировой эмульсии были выше относительно показателей ОПА с применением трибутирина в составе жировой эмульсии (смотрите рисунок 6А и А1).

После предварительной 30 минутной преинкубации субстратов казеина различной концентрации с желудочным соком и дальнейшем использовании их в качестве эмульгаторов как трибутирина, так и подсолнечного масла, ОПА также повышалась по сравнению с ОПА без жировой эмульсии. Похожая динамика изменения ОПА с использованием в качестве эмульгатора трибутирина и подсолнечного масла казеином различной концентрации отмечалась и после 60 минутной преинкубации его с желудочным соком. (смотрите рисунок 6А и А1).

Также обнаружено, что уровень изменения динамики показателей ОПА с применением подсолнечного масла в составе жировой эмульсии был выше относительно показателей ОПА с применением трибутирина в составе жировой эмульсии (смотрите рисунок 6А и А1).

При использовании эмульсии из сывороточного альбумина и трибутирина, а также подсолнечного масла, динамика изменения

повышения показателей ОПА без преинкубации сывороточного альбумина с желудочным соком была не достоверно выше по сравнению с ОПА без жировой эмульсии. В тоже время установлено, что уровень изменения этой динамики показателей ОПА с применением подсолнечного масла в составе жировой эмульсии был выше относительно показателей ОПА с применением трибутирина в составе жировой эмульсии (смотрите рисунок 6Б и Б1).

После предварительной 30 минутной преинкубации субстратов сывороточного альбумина различной концентрации с желудочным соком и дальнейшем использовании их в качестве эмульгаторов трибутирина и подсолнечного масла, ОПА также повышалась по сравнению с ОПА без жировой эмульсии. Похожая динамика изменения ОПА с использованием в качестве эмульгатора трибутирина и подсолнечного масла сывороточным альбумином отмечалась и после 60 минутной преинкубации его с желудочным соком (смотрите рисунок 6 Б и Б1).

При этом уровень изменения динамики показателей ОПА с применением подсолнечного масла в составе жировой эмульсии был выше относительно показателей ОПА с применением трибутирина в составе жировой эмульсии. С использованием эмульсии из гемоглобина и и трибутирина, а также подсолнечного масла динамика изменения повышения показателей ОПА без преинкубации гемоглобина с желудочным соком была не достоверно выше по сравнению с ОПА без жировой эмульсии и продолжала увеличиваться до концентрации гемоглобина в 1,0%, когда достигала максимума (смотрите рисунок 6 В и В1).

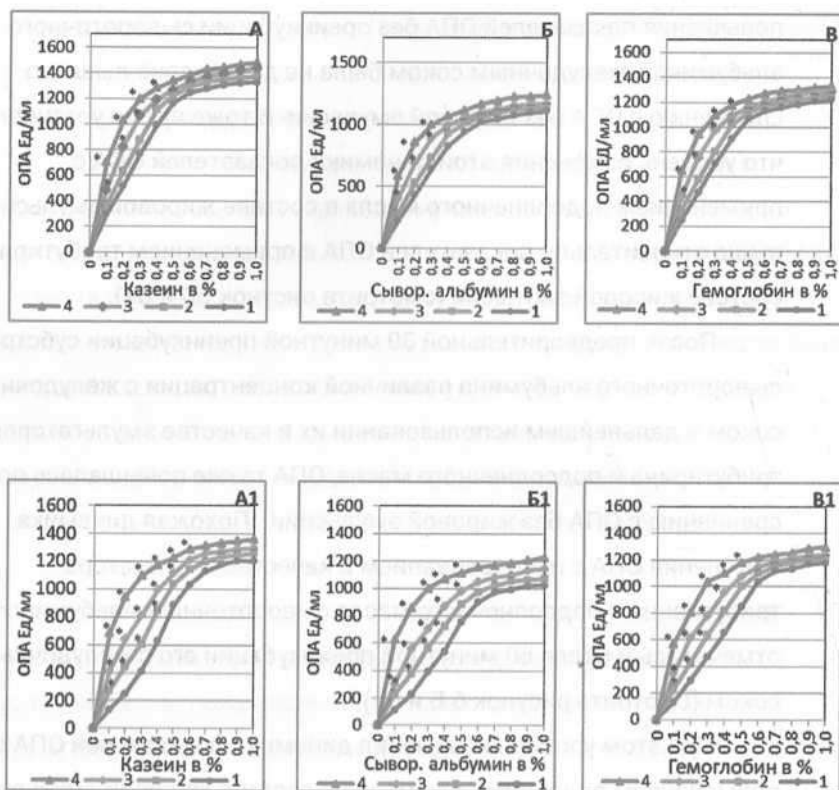


Рис. 6. Влияние белков различной концентрации в составе белково-жировой эмульсии на активность ОПА поджелудочного сока, при использовании трибутирина и подсолнечного масла.

Примечание: А, Б, В, - трибутирин, А1, Б1, В1, - подсолнечное масло 1-ОПА поджелудочного сока без жировой эмульсии, 2- ОПА без преинкубации с желудочным соком, 3 - ОПА после 30 мин. преинкубации с желудочным соком, 4 - ОПА после 60 мин. преинкубации с желудочным соком. *-достоверно отличающиеся величины ОПА по отношению к показателям ОПА без жировой эмульсии.

После предварительной 30 минутной преинкубации субстратов гемоглобина различной концентрации с желудочным соком и

дальнейшем использовании их в качестве эмульгаторов трибутирина и подсолнечного масла, ОПА также повышалась по сравнению с ОПА без жировой эмульсии продолжала увеличиваться. Сходная динамика изменения ОПА с использованием в качестве эмульгатора трибутирина и подсолнечного масла гемоглобином отмечалась и после 60 минутной преинкубации его с желудочным соком. При этом выявлено, что уровень изменения этой динамики показателей ОПА с применением подсолнечного масла в составе жировой эмульсии был выше относительно показателей ОПА с применением трибутирина в составе жировой эмульсии (смотрите рисунок 6В и В1).

С применением эмульсии из яичного белка и трибутирина, а также подсолнечного масла динамика изменения повышения показателей ОПА без преинкубации яичного белка с желудочным соком была не достоверно выше по сравнению с ОПА без жировой эмульсии и продолжала увеличиваться (смотрите рисунок 7 Г и Г1).

После предварительной 30 минутной преинкубации субстратов яичного белка с желудочным соком и дальнейшем использовании в качестве эмульгаторов трибутирина и подсолнечного масла, ОПА также повышалась по сравнению с ОПА без жировой эмульсии продолжала увеличиваться. Близкая динамика изменения ОПА с использованием в качестве эмульгатора трибутирина яичного белка различной концентрации отмечалась и после 60 минутной преинкубации его с желудочным соком (смотрите рисунок 7 Г и Г1). Обнаружено также, что уровень изменения этой динамики показателей ОПА с применением подсолнечного масла в составе жировой эмульсии был выше относительно показателей ОПА с применением трибутирина в составе жировой эмульсии.

При использовании эмульсии из мясного порошка и трибутирина, а также подсолнечного масла динамика изменения

повышения показателей ОПА без преинкубации мясного порошка с желудочным соком была не достоверно выше по сравнению с ОПА без жировой эмульсии и продолжала увеличиваться (смотрите рисунок 7Д и Д1).

После предварительной 30 минутной преинкубации субстратов мясного порошка с желудочным соком и дальнейшем использовании в качестве эмульгаторов трибутирина и подсолнечного масла, ОПА также повышалась по сравнению с ОПА без жировой эмульсии продолжала увеличиваться. Аналогичная динамика изменения ОПА с использованием в качестве эмульгатора трибутирина мясного порошка различной концентрации отмечалась и после 60 минутной преинкубации его с желудочным соком (смотрите рисунок 7Д и Д1).

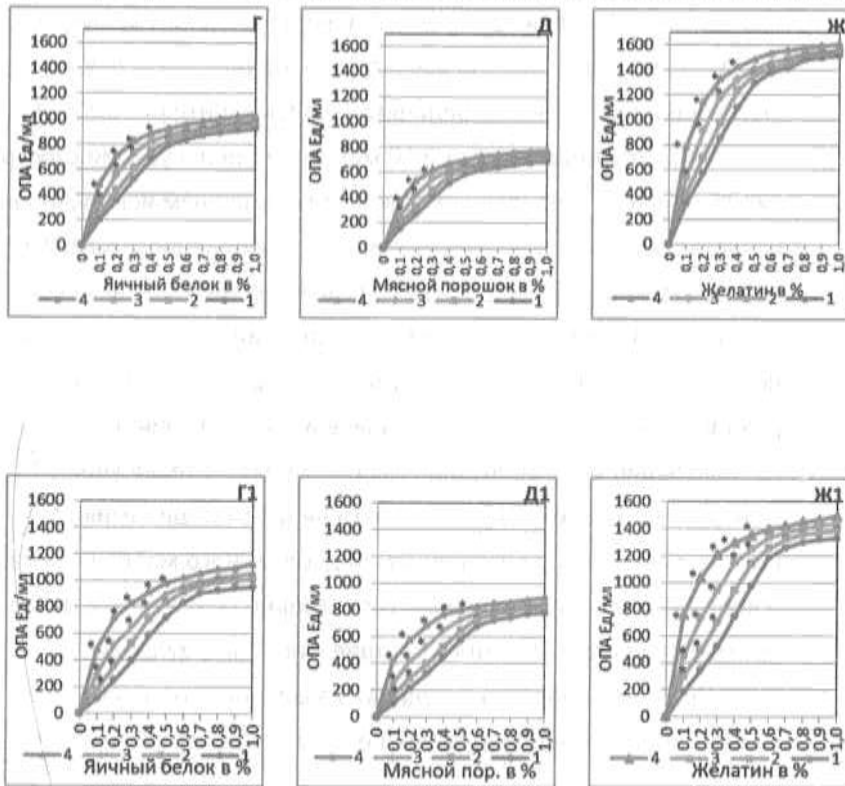


Рисунок 7. Влияние белков различной концентрации в составе белково-жировой эмульсии на ОПА поджелудочного сока, при использовании трибутирина и подсолнечного масла

Примечание: Г, Д, Ж, - трибутирин, Г1, Д1, Ж1, - подсолнечного масла. 1-ОПА поджелудочного сока без жировой эмульсии, 2- ОПА без преинкубации с желудочным соком, 3 - ОПА после 30 мин. преинкубации с желудочным соком, 4 - ОПА после 60 мин. преинкубации с желудочным соком.*- достоверно отличающиеся величины ОПА по отношению к показателям ОПА без жировой эмульсии.

При использовании эмульсии из желатина и трибутирина, а также подсолнечного масла динамика изменения повышения показателей ОПА без преинкубации желатина с желудочным соком также была не достоверно выше по сравнению с ОПА без жировой эмульсии и продолжала увеличиваться (смотрите рисунок 7Ж и Ж1).

После предварительной 30 минутной преинкубации субстратов желатина различной концентрации с желудочным соком и дальнейшем использовании их в качестве эмульгаторов трибутирина и подсолнечного масла, ОПА также повышалась по сравнению с ОПА без жировой эмульсии. Такая же динамика изменения ОПА с использованием в качестве эмульгатора трибутирина и подсолнечного масла желатиной различной концентрации отмечалась и после 60 минутной преинкубации его с желудочным соком. Также установлено, что уровень изменения этой динамики показателей ОПА с применением подсолнечного масла в составе жировой эмульсии был выше относительно показателей ОПА с применением трибутирина в составе жировой эмульсии (смотрите рисунок 7Ж и Ж1).

Результаты этих исследований показывают, что при использовании белково-жировых эмульсий с применением подсолнечного масла и белков, наблюдалось достоверное повышение показателей ОПА поджелудочного сока по сравнению с таковыми результатами без жировой эмульсии с использованием в качестве субстрата только белка. В тоже время таковые афффекты

повышения показателей ОПА с использованием трибутирина были менее выражены по сравнению с показателями ОПА с применением подсолнечного масла. При этом было выявлено, что как с использованием подсолнечного масла, так и трибутирина, после 30 минутной и еще в большей мере после 60 минутной преинкубации с желудочным соком белков, наблюдалось достоверное повышение показателей ОПА поджелудочного сока по сравнению с таковыми без жировой эмульсии с использованием в качестве субстрата только белка.

На основании этих данных можно предположить, что на различие степени адсорбции белков на подсолнечном масле и трибутирине влияет различие физико-химического строения этих масел. Подсолнечное масло является триглицеридом в состав которого входят в основном длинноцепочные жирные кислоты олеиновая и линолевая кислоты содержащие соответственно в цепи 17 и 18 атомов углерода. Тогда как в состав триглицерида трибутирина входит масляная жирная кислота в состав цепи которой входит 4 атома углерода. За счет этого, можно предположить, что сила взаимодействия белков с подсолнечным маслом, при адсорбции его на поверхности жировой капли значительно выше, чем с трибутирином.

Таким образом, можно заключить, что адсорбция белков на поверхности жировых капель может способствовать увеличению их гидролиза протеазами. Степень взаимодействия жиров с белками зависит от физико-химических свойств жиров. Взаимодействие с белками и подсолнечным маслом в составе белково-жировой эмульсии проявляется в более выраженном увеличении ОПА под влиянием поджелудочного сока. А взаимодействие с белками и трибутирином в составе белково-жировой эмульсии проявляется в

менее значимом увеличении на показатели ОПА под влиянием поджелудочного сока.

§3.6. Изменение протеолитической активности поджелудочного и желудочного соков в зависимости от концентрации жиров, в составе белково-жировых эмульсий

Вопрос изменение протеолитической активности поджелудочного и желудочного соков в зависимости от концентрации трибутирина и подсолнечного масла, в составе белково-жировых эмульсий, с использованием различных белков, в аспекте улучшения их перевариваемости не изучался в достаточной степени. В данном разделе работы представлены сведения об изменении протеолитической активности желудочного и поджелудочного сока при использовании различных белков в качестве эмульгаторов различной концентрации трибутирина и подсолнечного масла.

По результатам проведенных 672 биохимических исследований *in vitro*, в которых изучалось изменение протеолитической активности желудочного и поджелудочного сока под влиянием различных белков использованных в качестве эмульгаторов трибутирина и подсолнечного масла.

В проведенных исследованиях, где изучалось влияние различной концентрации трибутирина и подсолнечного масла в составе белково-жировой эмульсии на ОПА желудочного и поджелудочного сока, было установлено, что при использовании 1,0 % эмульсии из казеина показатели ОПА были не достоверно выше по сравнению с ОПА, где был только казеин. При этом показатели ОПА желудочного и поджелудочного сока при использовании 1,5% трибутирина или подсолнечного масла были достоверно выше по

сравнению с ОПА без жировой эмульсии. Такая же направленность ОПА отмечалась при использовании 2,0% трибутирина или подсолнечного масла, которая проявлялась в достоверно более высоких показателях по сравнению с ОПА без жировой эмульсии. В общем, при этом наблюдалось достоверно выраженное постепенное повышение ОПА с нарастанием концентрации трибутирина под влиянием желудочного сока и более выраженное повышение ОПА под влиянием поджелудочного сока (смотрите таблицу 3.2).

Похожая динамика изменения ОПА желудочного и поджелудочного сока отмечалась с применением сывороточного альбумина, а также различной концентрации трибутирина или подсолнечного масла в составе белково-жировой эмульсии. Было установлено, что при использовании 1,0% эмульсии показатели ОПА были выше, но не достоверно выражены, по сравнению с ОПА, где использовался только сывороточного альбумина без жировой эмульсии. В тоже время показатели ОПА желудочного и поджелудочного сока при использовании 1,5% жировой эмульсии были достоверно выше по сравнению с ОПА без жировой эмульсии и выше показателей с применением 1,0% жировой эмульсии, также показатели ОПА были выше таковых с использованием трибутирина. Похожая направленность ОПА желудочного и поджелудочного сока отмечалась при использовании 2,0% жировой эмульсии сывороточного альбумина, а также различной концентрации трибутирина и подсолнечного масла.

Таблица 3.2

Изменение протеолитической активности (Ед/мл) поджелудочного и желудочного соков в зависимости от концентрации жиров, в составе белково-жировых эмульсий

	Желудочный сок				Поджелудочный сок			
	1	2	3	4	1	2	3	4
Казеин + трибутирин	148± 15,2	177± 16,1	198± 17,3*	218± 18,1*	1023± 89,6	1246± 112,0	1589± 137,8*	1742± 161,5*
Казеин +масло Подсолнечное	148± 15,2	200± 18,7	241± 22,7*	258± 24,4*	1023± 89,6	1454± 137,1*	1929± 186,2*	2127± 198,7*
Сыворт. альбумин +трибутирин	132± 11,9	149± 13,5	176± 15,2	197± 17,9*	884± 73,5	993± 81,2	1165± 98,3*	1268± 112,6*
Сыворт. альбумин + масло подсолнеч.	132± 11,9	164± 15,7	191± 17,3*	220± 19,8*	884± 73,5	1118± 92,6	1289± 114,7*	1435± 129,4*
Гемоглобин +трибутирин	161± 14,6	186± 17,2	219± 18,3*	237± 22,4*	1239± 116,1	1346± 124,7	1689± 146,3*	1842± 176,4*
Гемоглобин+масло о подсолнечное	161± 14,6	199± 17,3	231± 21,5*	258± 22,7*	1239± 116,1	1687± 142,6*	1896± 184,7*	2242± 219,5*
Яичный порошок + трибутирин	117± 12,4	126± 11,5	144± 13,1	165± 14,3*	724± 63,8	891± 74,2	1118± 98,7*	1246± 114,3*
Яичный порошок + масло подсолнечн.	117± 12,4	138± 13,2	152± 14,7	181± 16,7*	724± 63,8	923± 86,2	1215± 113,4*	1398± 122,9*
Мясной порошок + трибутирин	96± 8,7	107± 9,6	118± 10,2	129± 11,4	617± 54,6	695± 62,1	788± 71,6	845± 79,8*
Мясной порошок + масло подсолнечн.	96± 8,7	112± 10,3	121± 11,8	142± 13,6*	617± 54,6	764± 62,7	853± 81,5*	913± 87,4*
Желатина + трибутирин	192± 17,3	221± 19,4	262± 23,8*	283± 25,9*	1333± 116,3	1852± 171,2*	2272± 212,6*	2491± 231*
Желатина + масло подсолнечное	192± 17,3	255± 23,2*	290± 26,8*	330± 31,2*	1333± 116,3	2136± 196,8*	2651± 249,4*	3178± 287,6*

В качестве субстрата использовались: 1 - только белок; 2 - белок в 1,0% масляной эмульсии; 3 - белок в 1,5% масляной эмульсией; 4 - белок в 2,0% масляной эмульсией. * - достоверно отличающиеся величины по отношению к показателям использования в качестве субстрата только белка.

Это проявлялось в достоверно более высоких показателях по сравнению с ОПА без жировой эмульсии и выше показателей с применением 1,0% и 1,5% жировой эмульсии. Таким образом, наблюдалось достоверно выраженное постепенное повышение ОПА желудочного и поджелудочного сока с нарастанием концентрации трибутирина и подсолнечного масла, однако уровень показателей с использованием трибутирина был ниже по сравнению с уровнем показателей с использованием подсолнечного масла (смотрите таблицу 3.2).

С применением гемоглобина, а также различной концентрации трибутирина и подсолнечного масла в составе белково-жировой эмульсии. Было установлено, что при использовании 1,0% эмульсии показатели ОПА были не достоверно выше по сравнению с ОПА, где использовался только гемоглобин без жировой эмульсии. В тоже время показатели ОПА желудочного и поджелудочного сока при использовании 1,5% и 2% жировой эмульсии были достоверно выше по сравнению с ОПА без жировой эмульсии и выше показателей с применением 1,0% жировой эмульсии. При этом наблюдалось достоверно выраженное постепенное повышение ОПА желудочного и поджелудочного сока с нарастанием концентрации трибутирина и подсолнечного масла, однако уровень показателей с применением трибутирина был ниже по сравнению с уровнем показателей с применением подсолнечного масла (смотрите таблицу 3.2).

При исследовании яичного белка, а также различной концентрации трибутирина и подсолнечного масла в составе белково-жировой эмульсии. Было установлено, что при использовании 1,0% эмульсии показатели ОПА были не достоверно выше по сравнению с ОПА, где использовался только яичного белка без жировой эмульсии. В тоже время показатели ОПА желудочного сока при использовании 2% и поджелудочного сока 1,5% и 2% жировой эмульсии были достоверно выше по сравнению с ОПА без жировой эмульсии и выше показателей с применением 1,0% жировой эмульсии. При этом наблюдалось достоверно выраженное постепенное повышение ОПА желудочного и поджелудочного сока с нарастанием концентрации трибутирина и подсолнечного масла, однако уровень показателей с использованием трибутирина был ниже по сравнению с уровнем показателей с использованием трибутирина подсолнечного масла (смотрите таблицу 3.2).

При изучении мясного порошка, а также различной концентрации трибутирина и подсолнечного масла в составе белково-жировой эмульсии. Было установлено, что показатели динамики ОПА желудочного сока при увеличении концентрации трибутирина были не достоверны, но были выше по сравнению с ОПА, где использовался только мясной порошок без жировой эмульсии. В тоже время в динамике нарастания показателей ОПА желудочного сока при использовании 2% эмульсии подсолнечного масла и мясного порошка показатели были достоверно выше по сравнению с ОПА, где использовался только мясной порошок без жировой эмульсии. При этом показатели динамики ОПА поджелудочного сока при увеличении концентрации трибутирина до 2% были достоверно выше по сравнению с ОПА, где использовался только мясной порошок без жировой эмульсии. Также в динамике нарастания показателей ОПА поджелудочного сока при использовании 1,5% и 2% эмульсии подсолнечного масла и мясного порошка показатели были достоверно выше по сравнению с ОПА, где использовался только мясной порошок без жировой эмульсии (смотрите таблицу 3.2).

При исследовании ОПА желудочного сока с применением эмульсий состоящих как из желатина и подсолнечного масла, так и из желатина и трибутирина, было установлено, что при нарастании концентрации подсолнечного масла и трибутирина отмечалось достоверное повышение ОПА желудочного сока по отношению к показателям использования только желатина. Подобная динамика отмечалась при исследовании ОПА поджелудочного сока с применением эмульсий состоящих как из желатина и подсолнечного масла, так и из желатина и трибутирина, было установлено, что при нарастании концентрации подсолнечного масла и трибутирина отмечалось достоверное повышение ОПА поджелудочного сока по

отношению к показателям использования только желатина (смотрите таблицу 3.2).

В результате проведенных исследований, при изучении влияния различной концентрации подсолнечного масла в составе белково-жировой эмульсии на ОПА поджелудочного сока, было установлено достоверно постепенное повышение ОПА поджелудочного сока с нарастанием концентрации подсолнечного масла. Это связано с тем, что белки обладают адсорбцией на поверхности жировых капель, в белково-жировых эмульсиях. Полученные результаты также можно объяснить тем, что при повышении концентрации подсолнечного масла в составе белково-жировых эмульсий, увеличивается количество жировых капель и общая поверхность этих капель. За счет этого увеличивается количество адсорбированного на жировых каплях белка, и это взаимодействие способствует увеличению влияния протеаз на молекулы белка, в результате отмечается повышение ОПА поджелудочного сока при использовании белково-жировой эмульсии.

При изучении влияния различной концентрации трибутина в составе белково-жировой эмульсии наблюдалось менее выраженное достоверное постепенное повышение ОПА желудочного и поджелудочного сока с нарастанием концентрации трибутина, но уровень этих показателей был ниже по сравнению с показателями подсолнечного масла. На основании этих данных можно предположить, что на отличие эффектов подсолнечного масла и трибутина может оказывать влияние различие физико-химических свойств этих масел, что влияет на различие степени адсорбции белков на подсолнечном масле и трибутине. Возможно, это связано с тем, что подсолнечное масло является триглицеридом в состав, которого входят в основном длинноцепочные жирные

кислоты олеиновая и линолевая кислоты. Тогда как в состав триглицерида трибутирина входит короткоцепочная масляная кислота. Можно предположить, что сила взаимодействия белков с подсолнечным маслом, при адсорбции на поверхности жировой капли, за счет присутствия длинноцепочных жирных кислот значительно выше, чем с трибутирином. Это способствует увеличению адсорбции белка и повышению влияния протеаз желудочного и поджелудочного сока на адсорбированный на поверхности жировой капли белок, что приводит к более выраженному повышению ОПА при использовании подсолнечного масла, чем при применении трибутирина.

Таким образом, повышение концентрации подсолнечного масла в составе эмульсии с белками способствует более выраженному достоверному повышению ОПА поджелудочного сока по отношению к повышению концентрации трибутирина в составе эмульсии с белками. Повышение концентрации как трибутирина, так и подсолнечного масла в составе эмульсии с белками в кислой среде в меньшей степени влияют на ОПА желудочного сока, по сравнению с таковыми эффектами поджелудочного сока.

§3.7. Эффекты влияния продуктов гидролиза жиров на протеолитическую активность желудочного и поджелудочного соков

Вопрос изменения протеолитической активности желудочного и поджелудочного соков под влиянием продуктов гидролиза жиров, с использованием различных белков, в плане изменения их перевариваемости не изучался в достаточной степени. В данном разделе работы представлены сведения об изменении протеолитической активности желудочного и поджелудочного сока

под влиянием различной концентрации продуктов гидролиза жиров за счет увеличения продолжительности их предварительной инкубации с поджелудочным соком, при использовании различных белков в качестве эмульгаторов трибутирина и подсолнечного масла.

В проведенных 672 биохимических исследований *in vitro* было установлено, что при использовании в качестве субстрата эмульсии из казеина и трибутирина, а также подсолнечного масла. Отмечалось недостаточно выраженное снижение показателей ОПА желудочного сока без предварительной инкубации трибутирина и подсолнечного масла с поджелудочным соком, по отношению к показателям ОПА желудочного сока с использованием в качестве субстрата только казеин. С нарастанием продуктов гидролиза трибутирина и подсолнечного масла за счет увеличения времени их предварительной инкубации (30, 60 мин.) с поджелудочным соком, отмечалось постепенное незначительное снижение ОПА желудочного сока по отношению к показателям без предварительной инкубации, и использованием в качестве субстрата только казеин (смотрите таблицу 3).

Таблица 3.3
Изменение протеолитической активности (Ед/мл) поджелудочного и желудочного соков под влиянием продуктов гидролиза жиров, в составе белково-жировых эмульсий.

	Желудочный сок				Поджелудочный сок			
	1	2	3	4	1	2	3	4
Казеин + трибутирин	202± 18,5	194± 17,3	191± 19,6	188± 16,9	1215± 115,8	1085± 99,3	939± 86,4	812± 72,6*
Казеин +масло подсолнечное	202± 18,5	187± 19,3	184± 16,9	178± 17,2	1215± 115,8	891± 75,3*	787± 61,5*	703± 59,8*
Сыворт. альбумин +трибутирин	146± 13,7	130± 10,4	132± 12,1	138± 13,2	1097± 89,6	854± 78,1	759± 68,9*	732± 59,7*
Сыворт. альбумин + масло подсолнеч.	146± 13,7	118± 11,2	124± 10,9	128± 12,3	1097± 89,6	746± 81,2*	677± 98,3*	623± 112,6*
Гемоглобин +трибутирин	158± 15,1	152± 13,9	154± 15,2	156± 14,8	1168± 98,9	937± 89,3	829± 75,2*	784± 67,6*
Гемоглобин+масло подсолнечное	158± 15,1	146± 12,8	148± 13,1	152± 14,5	1168± 98,9	821± 73,4*	767± 69,8*	692± 58,6*

Яичный белок + трибутирин	131± 11,9	126± 12,1	114± 10,9	103± 9,5	937± 86,2	774± 69,5	618± 58,3*	509± 45,9*
Яичный белок + масло подсолнечн.	131± 11,9	117± 10,3	105± 9,2	97± 8,9	937± 86,2	685± 61,3*	591± 48,9*	479± 41,6*
Мясной порошок + трибутирин	122± 11,8	116± 9,8	111± 10,2	108± 8,7	735± 66,9	672± 59,3	598± 52,4	486± 43,9*
Мясной порошок + масло подсолнечн.	122± 11,8	112± 10,1	105± 9,3	96± 8,2	735± 66,9	612± 53,6	506± 42,3*	423± 37,5*
Желатина + трибутирин	252± 23,8	249± 25,4	247± 22,6	245± 24,1	1416± 132,7	1185± 112,3	983± 91,7*	819± 79,5*
Желатина + масло подсолнечное	252± 23,8	244± 21,9	242± 24,5	239± 22,7	1416± 132,7	1011± 95,4*	874± 79,2*	765± 69,8*

В качестве субстрата использовались: 1- только белок, 2- только жировая эмульсия без предварительной инкубации её с поджелудочным соком, 3- жировая эмульсия после 30 мин. преинкубации её с поджелудочным соком. 4 - жировая эмульсия после 60 мин. преинкубации её с поджелудочным соком.*- достоверно отличающиеся величины по отношению к показателям использования в качестве субстрата только белка.

Аналогичная, но более выраженная динамика изменения показателей отмечалась в исследованиях, где изучалось влияние различной концентрации продуктов гидролиза трибутирина и особенно подсолнечного масла на ОПА поджелудочного сока. Было установлено незначительное снижение ОПА поджелудочного сока без предварительной инкубации трибутирина и подсолнечного масла с поджелудочным соком. При этом отмечалось более выраженное достоверное повышение ОПА поджелудочного сока, при дальнейшем использовании эмульсии казеина и трибутирина, а также в большей мере подсолнечного масла. После увеличения времени предварительной инкубации (30, 60 мин.) с поджелудочным соком, по отношению к показателям ОПА поджелудочного сока с использованием в качестве субстрата только казеин (смотрите таблицу 3).

При изучении в качестве субстрата эмульсии из сывороточного альбумина и трибутирина, а также подсолнечного масла, было установлено недостаточно выраженное снижение показателей ОПА желудочного сока без

предварительной инкубации трибутирина и подсолнечного масла с поджелудочным соком, по отношению к показателям ОПА желудочного сока с использованием в качестве субстрата только сывороточного альбумина. С нарастанием продуктов гидролиза трибутирина и подсолнечного масла за счет увеличения времени их предварительной инкубации (30, 60 мин.) с поджелудочным соком, отмечалось постепенное незначительное снижение ОПА желудочного сока по отношению к показателям без предварительной инкубации, и использованием в качестве субстрата только сывороточного альбумина (смотрите таблицу 3.3).

Также в проведенных исследованиях с использованием сывороточного альбумина была обнаружена, более выраженная динамика изменения показателей, где изучалось влияние различной концентрации продуктов гидролиза трибутирина и особенно подсолнечного масла на ОПА поджелудочного сока. Было выявлено незначительное снижение ОПА поджелудочного сока без предварительной инкубации трибутирина и подсолнечного масла с поджелудочным соком. При этом отмечалось более выраженное и достоверное повышение ОПА поджелудочного сока, при дальнейшем использовании эмульсии сывороточного альбумина и трибутирина, а также в большей мере подсолнечного масла. После увеличения времени предварительной инкубации (30, 60 мин.) с поджелудочным соком, по отношению к показателям ОПА поджелудочного сока с использованием в качестве субстрата только сывороточного альбумина (смотрите таблицу 3.3).

В проведенных исследованиях в качестве субстрата эмульсии из гемоглобина или яичного белка, а также трибутирина и подсолнечного масла. Было установлено также недостаточно выраженное снижение показателей ОПА желудочного сока без

предварительной инкубации трибутирина и подсолнечного масла с поджелудочным соком, по отношению к показателям ОПА желудочного сока с использованием в качестве субстрата только гемоглобина или яичный белок. С нарастанием продуктов гидролиза трибутирина и подсолнечного масла за счет увеличения времени их предварительной инкубации (30, 60 мин.) с поджелудочным соком, отмечалось постепенное незначительное снижение ОПА желудочного сока по отношению к показателям без предварительной инкубации, и использованием в качестве субстрата только гемоглобин или яичный белок (смотрите таблицу 3.3).

С использованием гемоглобина или яичного белка было обнаружено, более выраженная динамика изменения показателей, где изучалось влияние различной концентрации продуктов гидролиза трибутирина и особенно подсолнечного масла на ОПА поджелудочного сока. Было выявлено незначительное снижение ОПА поджелудочного сока без предварительной инкубации трибутирина и подсолнечного масла с поджелудочным соком. При этом отмечалось более выраженное и достоверное повышение ОПА поджелудочного сока, при дальнейшем использовании эмульсии гемоглобина или яичного белка, а также трибутирина, и в большей мере подсолнечного масла. После увеличения времени предварительной инкубации (30, 60 мин.) с поджелудочным соком, по отношению к показателям ОПА поджелудочного сока с использованием в качестве субстрата только гемоглобин или яичный белок (смотрите таблицу 3.3).

При использовании в качестве субстрата эмульсии из мясного порошка или желатина, а также трибутирина и подсолнечного масла. Было установлено также недостаточно выраженное снижение показателей ОПА желудочного сока без предварительной инкубации

трибутирина и подсолнечного масла с поджелудочным соком, по отношению к показателям ОПА желудочного сока с использованием в качестве субстрата только мясного порошка или желатина. С нарастанием продуктов гидролиза трибутирина и подсолнечного масла за счет увеличения времени их предварительной инкубации (30, 60 мин.) с поджелудочным соком, отмечалось постепенное незначительное снижение ОПА желудочного сока по отношению к показателям без предварительной инкубации, и использованием в качестве субстрата только мясного порошка или желатина (смотрите таблицу 3.3).

С применением мясного порошка или желатина была обнаружена, более выраженная динамика изменения показателей, где изучалось влияние различной концентрации продуктов гидролиза трибутирина и особенно подсолнечного масла на ОПА поджелудочного сока. Было выявлено незначительное снижение ОПА поджелудочного сока без предварительной инкубации трибутирина и подсолнечного масла с поджелудочным соком. При этом отмечалось более выраженное и достоверное повышение ОПА поджелудочного сока, при дальнейшем использовании эмульсии мясного порошка или желатина, а также трибутирина, и в большей мере подсолнечного масла. После увеличения времени предварительной инкубации (30, 60 мин.) с поджелудочным соком, по отношению к показателям ОПА поджелудочного сока с использованием в качестве субстрата только мясного порошка или желатина (смотрите таблицу 3.3).

Полученные результаты исследований показали, что в условиях щелочной среды, с увеличением продуктов гидролиза подсолнечного масла и трибутирина, отмечающееся более выраженное снижение ОПА поджелудочного сока, может быть связано с возможностью

образования жирных кислот, концентрация которых повышается с увеличением времени преинкубации жиров. Образовавшиеся жирные кислоты при взаимодействии с молекулами белков имеют способность создавать комплексы, которые могут препятствовать действию протеаз поджелудочного сока. В тоже время в условиях кислой среды, с увеличением продуктов гидролиза подсолнечного масла и трибутирина, отмечается менее выраженное снижение ОПА желудочного сока. Это может быть связано с тем, что образовавшиеся жирные кислоты, концентрация которых повышается с увеличением времени преинкубации подсолнечного масла, могут обладать незначительно выраженной способностью к образованию с молекулами белков комплексов в кислой среде, которые могли бы препятствовать действию пепсина желудочного сока.

Результаты этих исследований являются дополнительным подтверждением того, что на отличие эффектов продуктов гидролиза подсолнечного масла и трибутирина влияют различные физико-химические строения этих масел. Можно предположить, что сила взаимодействия белков с жирными кислотами подсолнечного масла значительно выше, чем с жирными кислотами трибутирина за счет присутствия длинноцепочных жирных кислот и это может препятствовать влиянию протеаз поджелудочного сока, что способствует снижению ОПА поджелудочного сока при использовании продуктов гидролиза подсолнечного масла.

ГЛАВА IV. ВЛИЯНИЕ ГИДРОЛИЗАТОВ, БЕЛКОВ, ПОЛУЧЕННЫХ ПОД ВЛИЯНИЕМ ЖЕЛУДОЧНОГО И ПОДЖЕЛУДОЧНОГО СОКА, НА ЛИПИДЕМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ

В предыдущей главе мы рассматривали необходимость предварительного гидролиза белков пепсинами желудка для улучшения перевариваемости жиров панкреатической липазой и белков панкреатическими протеазами. Представляло интерес изучить необходимость предварительного гидролиза белков пепсинами желудка в улучшении всасывания жиров. Так как гидролиз белка может высвободить пептиды и открывать гидрофобные области, которые будут способствовать стабилизирующему эффекту эмульсий [61, с. 414-417]. Например, Qietal., [131, с. 10536-10539] продемонстрировали, что гидролиз изолятов соевого белка панкреатином привело к увеличению гидрофобности поверхности и емкости эмульгирования по сравнению с нативными изолятами соевого белка. Следует отметить, что модификация белков ограниченным гидролизом приводит к высокой межфазной активности и, таким образом, к быстрому пенообразованию и эмульгированию [61, с. 414-417].

Активность белковых гидролизатов и пептидов зависит от их физико-химических свойств, включая гидрофобность аминокислотных остатков, но существует пробел в знаниях о детальном структурно-функциональном отношении и эффективности у людей с гиперлипидемией [73, с. 40-46].]. Предполагается, что продукты гидролиза и пептиды белков выполняют свои функции посредством связывания желчных кислот и разрушения мицелл холестерина в желудочно-кишечном тракте, а также путем изменения активности печеночных и адипоцитарных

ферментов и экспрессии генов липогенных белков, которые могут модулировать aberrантные физиологические профили липидов [82, с. 1365-1370].

Кроме того показано, что гидролиз белка приводит к изменениям в глобулярной структуре отколотых фрагментов, обнажает гидрофобные аминокислотные участки, такие как Phe, Tyr, Trp и Leu, которые обычно скрыты внутри структуры нативного белка [14, с. 47-52]. Гидрофобность играет жизненно важную роль во многих функциональных и биоактивных свойствах пищевых пептидов. Например, присутствие ароматических аминокислотных остатков на С-конце и гидрофобных аминокислотных остатков на N-конце усиливает активность пептидов в ингибировании активности ангиотензин-1 превращающего фермента (АПФ) [27, с. 9234-9237; 101, с. 471-477].

Модификация белков путем контроля степени гидролиза может привести к их структурной перестройке, увеличению растворимости, уменьшению размера молекулы, гидрофобному воздействию аминокислоты, и увеличению гидрофобности поверхности для повышения эмульгирующей стабилизирующей способности пептидов [84, с. 975-978; 158, с. 381-388].

Пептиды обладают способностью к самосборке, представляющей спонтанный процесс, посредством которого молекулярные единицы организуются в упорядоченные структуры через межмолекулярные и внутримолекулярные взаимодействия. Спонтанный процесс регулируется уравниванием сил притяжения и отталкивания, существующих внутри молекул [105, с. 3544-3547]. Молекулы, которые подвергаются самосборке, как правило, амфифильные и, следовательно, содержат как гидрофобные, так и гидрофильные фрагменты. Пептиды могут

быть амфифильными и, таким образом, под этим влиянием подвергаться самосборке такими факторами как концентрация, температура, pH и ионная сила окружающей их среды [34, с. 28-35; 40, с. 20120740-20120743].

Биологически активные пептиды были определены как «пищевые компоненты, которые помимо своей пищевой ценности оказывают физиологическое воздействие на организм» [34, с. 28-35]. Интересно, что в составе исходных белков пептиды неактивны и поэтому должны высвободиться, чтобы оказывать действие. Эти биоактивные пептиды обычно имеют длину 2–20 аминокислотных остатков, хотя сообщается, что некоторые из них содержат более 20 аминокислотных остатков. Биологически активные пептиды могут всасываться через кишечник, где они в последствии попадают в кровеносную систему без изменений, чтобы оказывать различные физиологические эффекты, или они могут вызывать локальные эффекты в пищеварительном тракте [43, с. 643-645]. Было показано, что пищевые биоактивные пептиды обладают широким спектром физиологических функций, включая антигипертензивные, антиоксидантные, опиоидные агонистические, иммуномодулирующие, антимикробные, пребиотические, минерало-связывающие, антитромботические и гипохолестеринемические эффекты [16, с. 219-221]. Мясо, рыба и молоко являются ценными источниками белка для многих групп населения во всем мире, кроме того, эти белки обладают огромным потенциалом в качестве новых источников биологически активных пептидов. [83, с. 1066-1069; 110, с. 16-18].

§4.1. Влияние гидролизатов, казеина, полученных под влиянием желудочного и поджелудочного сока, на липидемические показатели крови

Нами было показано, что предварительный гидролиз белков пепсинами желудка влияет на улучшение перевариваемости жиров панкреатической липазой и белков панкреатическими протеазами. Представляло интерес изучить влияние гидролизатов белков полученных под влиянием желудочного и поджелудочного сока на липидемические показатели крови, как отражение всасывания жиров из тонкого кишечника. Ранее этот вопрос не изучался в достаточной степени. В данном разделе работы представлены сведения об изменении липидемических показателей крови под воздействием гидролизатов, казеина, полученных под влиянием желудочного и поджелудочного сока.

По результатам проведенных 60 хронических экспериментов на 3 собаках, в которых изучалось изменение липидемических показателей крови под воздействием гидролизатов, казеина, полученных под влиянием желудочного и поджелудочного сока.

Полученные данные показали, что после кормления животных раствором казеина в крови не отмечалось существенных изменений показателей триглицеридов на протяжении 6 часов наблюдения (Рис 1А.). После кормления эмульсией из казеина и подсолнечного масла отмечалось увеличение всех средних показателей триглицеридов по сравнению с таковыми до кормления. Однако достоверное увеличение этих показателей наблюдалось ко 2 ($1,52 \pm 0,14$ ммоль/л), 3 ($1,57 \pm 0,16$ ммоль/л) и 4 часу ($1,35 \pm 0,12$ ммоль/л) по сравнению со средними показателями до кормления ($0,87 \pm 0,07$ ммоль/л) ($P < 0,01$). В тоже время показатели триглицеридов, полученные после кормления эмульсией из казеина, подвергнутого инкубации с желудочным соком, и подсолнечного масла, по сравнению со средними показателями до кормления, были достоверно выше средних показателей триглицеридов на протяжении всего 6 часового периода

наблюдения. При этом показатели триглицеридов ко 2 часу составляли $2,14 \pm 0,19$ ммоль/л, а к 3 часу - $2,11 \pm 0,20$ ммоль/л, что было достоверно выше, как показателей до кормления, так и показателей 2 и 3 часа после кормления эмульсией из казеина без инкубации и подсолнечного масла. После кормления эмульсией из казеина, подвергнутого инкубации с поджелудочным соком, и подсолнечного масла, данные на протяжении 6 часов наблюдения были выше по сравнению со средними показателями до кормления, но ниже показателей после кормления эмульсией из казеина и подсолнечного масла. При этом показатели только на 2 ($1,31 \pm 0,11$ ммоль/л) и 3 час ($1,26 \pm 0,10$ ммоль/л) отмечались выше данных до кормления ($0,87 \pm 0,07$ ммоль/л), а показатель 3 часа был достоверно ниже результатов после кормления эмульсией из казеина и подсолнечного масла. Из этих же результатов было установлено, что средний показатель прироста триглицеридов за 6-ти часовой период после кормления эмульсией из казеина и подсолнечного масла составлял $0,43 \pm 0,03$ ммоль/л по отношению к таковым до кормления. При этом после кормления эмульсией из казеина, подвергнутого инкубации с желудочным соком, и подсолнечного масла показатель среднего прироста триглицеридов (смотрите рисунок 8Б) составлял $0,80 \pm 0,08$ ммоль/л, что было достоверно выше прироста триглицеридов после кормления эмульсией из казеина и подсолнечного масла. В тоже время после кормления эмульсией из казеина, подвергнутого инкубации с поджелудочным соком, и подсолнечного масла средний показатель прироста триглицеридов составлял $0,24 \pm 0,02$ ммоль/л, что было достоверно ниже прироста триглицеридов после кормления эмульсией из казеина и подсолнечного масла.

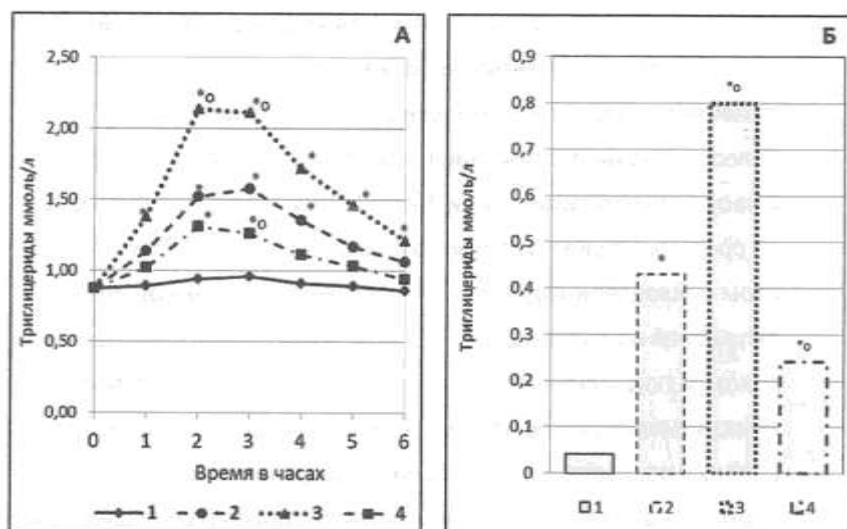


Рис. 3.8. Изменение показателей содержания триглицеридов в крови А- в течение 6 часов, Б- средний прирост по отношению к показателям до кормления. Исследования кормлением: 1-раствор казеина; 2-эмульсия, содержащая казеин и подсолнечное масло; 3-эмульсия, содержащая казеин, подвергнутый 2 часовой инкубации с желудочным соком, и подсолнечное масло; 4-эмульсия, содержащая казеин, подвергнутый 2 часовой инкубации с поджелудочным соком, и подсолнечное масло.

*- достоверно отличающиеся величины по отношению к показателям с кормлением раствора казеина. о- достоверно отличающиеся величины по отношению к показателям с кормлением эмульсии содержащей казеин и подсолнечное масло.

По результатам исследования показателей холестерина в крови было установлено, что после кормления животных раствором казеина на протяжении 6 часов наблюдения, эти показатели

существенно не отличались от таковых до кормления (Рис 3.9А.). После кормления эмульсией из казеина и подсолнечного масла отмечалось недостоверное увеличение средних показателей холестерина на протяжении 6 часов, с максимальным ростом его ко 2 часу ($7,34 \pm 0,62$ ммоль/л) и 3 часу ($7,39 \pm 0,84$ ммоль/л) по сравнению со средними показателями до кормления ($6,94 \pm 0,75$ ммоль/л). При этом показатели холестерина, полученные после кормления эмульсией из казеина, подвергнутого инкубации с желудочным соком, и подсолнечного масла, по сравнению со средними показателями до кормления, были так же недостоверно выше средних показателей холестерина на протяжении всего 6 часового периода наблюдения. В тоже время эти показатели холестерина на протяжении 6 часов были недостоверно выше таковых после кормления эмульсией из казеина и подсолнечного масла.

После кормления эмульсией из казеина, подвергнутого инкубации с поджелудочным соком, и подсолнечного масла, показатели холестерина на протяжении 6 часов наблюдения были недостоверно выше по сравнению со средними показателями до кормления. Также эти показатели холестерина на протяжении 6 часового наблюдения были не достоверно ниже таковых после кормления эмульсией из казеина и подсолнечного масла. Было установлено, что средний показатель прироста холестерина после кормления эмульсией из казеина и подсолнечного масла составлял $0,29 \pm 0,02$ ммоль/л (смотрите рисунок 3.9Б), а после кормления эмульсией из казеина, подвергнутого инкубации с желудочным соком, и подсолнечного масла - $0,40 \pm 0,03$ ммоль/л, что было достоверно выше прироста холестерина после кормления эмульсией из казеина и подсолнечного масла. В тоже время после кормления эмульсией из казеина, подвергнутого инкубации с поджелудочным

соком, и подсолнечного масла средний показатель прироста холестерина составлял $0,18 \pm 0,02$ ммоль/л, что было достоверно ниже прироста холестерина после кормления эмульсией из казеина и подсолнечного масла.

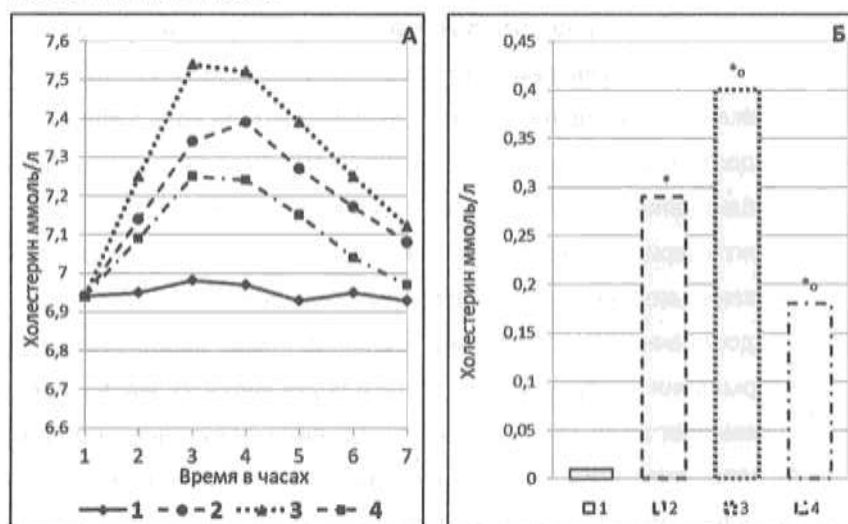


Рис. 3.9. Изменение показателей содержания холестерина в крови А - в течение 6 часов, Б- средний прирост по отношению к показателям до кормления. Исследования кормления: 1-раствор казеина; 2-эмульсия, содержащая казеин и подсолнечное масло; 3-эмульсия, содержащая казеин, подвергнутый 2 часовой инкубации с желудочным соком, и подсолнечное масло; 4-эмульсия, содержащая казеин, подвергнутый 2 часовой инкубации с поджелудочным соком, и подсолнечное масло.

*- достоверно отличающиеся величины по отношению к показателям с кормлением раствора казеина. o- достоверно отличающиеся величины по отношению к показателям с кормлением эмульсии содержащей казеин и подсолнечное масло.

В результате проведенных исследований, при изучении влияния кормления эмульсией из казеина, подвергнутого инкубации с желудочным соком, и подсолнечного масла, на показатели триглицеридов и холестерина крови было установлено, что по сравнению со средними показателями до кормления, а также после кормления эмульсией из казеина и подсолнечного масла, показатели триглицеридов были достоверно, а показатели холестерина недостоверно выше на протяжении всего 6 часового периода наблюдения. Также выявлено, что средние показатели прироста триглицеридов и холестерина под влиянием кормления эмульсией из казеина, подвергнутого инкубации с желудочным соком, и подсолнечного масла были достоверно выше таковых после кормления эмульсией из казеина и подсолнечного масла. Это указывает на то, что гидролизаты казеина, полученные под влиянием желудочного сока, способствуют улучшению переваривания и всасывания жиров в тонком кишечнике. Кроме того, при кормлении собак эмульсией из казеина, подвергнутого инкубации с поджелудочным соком, и подсолнечного масла, было обнаружено, что по сравнению со средними показателями до кормления, а также после кормления эмульсией из казеина и подсолнечного масла, показатели триглицеридов были достоверно, а показатели холестерина недостоверно ниже на протяжении всего 6 часового периода наблюдения. Также выявлено, что средний показатель общего прироста триглицеридов и холестерина под влиянием кормления эмульсией из казеина, подвергнутого инкубации с поджелудочным соком, и подсолнечного масла были достоверно ниже таковых после кормления эмульсией из казеина и подсолнечного масла. Это указывает на то, что гидролизаты казеина,

полученные при воздействии поджелудочного сока, способствуют снижению переваривания и всасывания жиров в тонком кишечнике.

Полученные нами данные по гиполипидемическому эффекту гидролизатов казеина у собак согласуются с результатами исследований, где было показано гиполипидемическое воздействие пептидных фракций казеина на липиды сыворотки крови у крыс, получавших рацион с нормальной или высокой жирностью [79, с. 263-270].

Активность белковых гидролизатов и пептидов зависит от их физико-химических свойств, включая гидрофобность аминокислотных остатков, но существует пробел в знаниях о детальных структурно-функциональных отношениях и эффективности у людей с гиперлипидемией [73, с 40-51]. Предполагается, что продукты гидролиза и пептиды белков выполняют свои функции посредством связывания желчных кислот и разрушения мицелл холестерина в желудочно-кишечном тракте, а также путем изменения активности печеночных и адипоцитарных ферментов и экспрессии генов липогенных белков, которые могут модулировать aberrантные физиологические профили липидов [82, с. 1365-1370].

Гидролизаты казеина, полученные под влиянием желудочного сока, способствуют улучшению переваривания и всасывания жиров. Гидролизаты казеина, полученные под влиянием поджелудочного сока, оказывают содействие снижению переваривания и всасывания жиров. Эффекты влияния гидролизатов казеина на липидемические показатели крови зависят от того, под влиянием каких протеаз получены гидролизаты казеина, а также возможно от последовательности действия протеаз на казеин при получении из него гидролизатов и пептидов.

§4.2. Влияние гидролизатов, гемоглобина, полученных под влиянием желудочного и поджелудочного сока, на липидемические показатели крови

Помимо изменения липидемических показателей крови под воздействием гидролизатов казеина, полученных под влиянием желудочного и поджелудочного сока. Представляло интерес изучить влияние гидролизатов гемоглобина полученных под влиянием желудочного и поджелудочного сока на липидемические показатели крови. Ранее этот вопрос не изучался в достаточной степени. В данном разделе работы представлены сведения об изменении липидемических показателей крови под воздействием гидролизатов гемоглобина, полученных под влиянием желудочного и поджелудочного сока.

По результатам проведенных 60 хронических экспериментов на 3 собаках, в которых изучались изменения липидемических показателей крови под воздействием гидролизатов гемоглобина, полученных под влиянием желудочного и поджелудочного сока.

Полученные данные показали, что после кормления животных раствором гемоглобина, в крови не отмечалось существенных изменений показателей триглицеридов на протяжении 6 часов наблюдения (Рис 3.10А.). После кормления эмульсией из гемоглобина и подсолнечного масла отмечалось увеличение всех средних показателей триглицеридов по сравнению с таковыми до кормления. Однако достоверное увеличение этих показателей наблюдалось ко 2 ($1,64 \pm 0,13$ ммоль/л), 3 ($1,70 \pm 0,15$ ммоль/л) и 4 часу ($1,46 \pm 0,13$ ммоль/л) по сравнению со средними показателями до кормления ($0,94 \pm 0,08$ ммоль/л) ($P < 0,01$). В тоже время показатели триглицеридов, полученные после кормления эмульсией из гемоглобина, подвергнутого инкубации с желудочным соком, и

подсолнечного масла, по сравнению со средними показателями до кормления, были выше средних показателей триглицеридов на протяжении всего 6 часового периода наблюдения. При этом показатели триглицеридов ко 2 часу составляли $1,51 \pm 0,13$ ммоль/л, а к 3 часу - $1,52 \pm 0,140$ ммоль/л и 4 часу ($1,31 \pm 0,11$ ммоль/л) что было достоверно выше, показателей до кормления и ниже показателей после кормления эмульсией из гемоглобина без инкубации и подсолнечного масла. После кормления эмульсией из гемоглобина, подвергнутого инкубации с поджелудочным соком, и подсолнечного масла, данные на протяжении 6 часов наблюдения были выше по сравнению со средними показателями до кормления, но ниже показателей после кормления эмульсией из гемоглобина и подсолнечного масла. При этом показатели только на 2 ($1,41 \pm 0,12$ ммоль/л) и 3 час ($1,36 \pm 0,11$ ммоль/л) отмечались выше данных до кормления ($0,94 \pm 0,08$ ммоль/л), а показатель 3 часа был достоверно ниже результатов после кормления эмульсией из гемоглобина и подсолнечного масла (Рис 3.10А.).

Из этих же результатов было установлено, что средний показатель прироста триглицеридов за 6-ти часовой период после кормления эмульсией из гемоглобина и подсолнечного масла составлял $0,54 \pm 0,03$ ммоль/л по отношению к таковым до кормления. При этом после кормления эмульсией из гемоглобина, подвергнутого инкубации с желудочным соком, и подсолнечного масла показатель среднего прироста триглицеридов (смотрите рисунок 3Б) составлял $0,43 \pm 0,02$ ммоль/л, что было достоверно ниже прироста триглицеридов после кормления эмульсией из гемоглобина и подсолнечного масла. В тоже время после кормления эмульсией из гемоглобина, подвергнутого инкубации с поджелудочным соком, и подсолнечного масла средний показатель прироста триглицеридов

составлял $0,33 \pm 0,02$ ммоль/л, что было также достоверно ниже прироста триглицеридов после кормления эмульсией из гемоглобина и подсолнечного масла (смотрите рисунок 3.10Б).

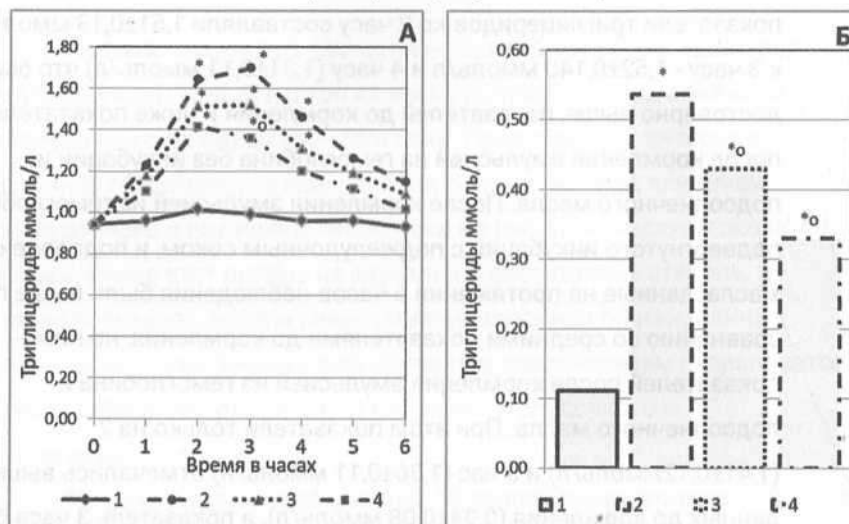


Рис.3.10. Изменение показателей содержания триглицеридов в крови А- в течение 6 часов, Б- средний прирост по отношению к показателям до кормления. Исследования кормлением: 1-раствор гемоглобина; 2-эмульсия, содержащая гемоглобин и подсолнечное масло; 3-эмульсия, содержащая гемоглобин, подвергнутый 2 часовой инкубации с желудочным соком, и подсолнечное масло; 4-эмульсия, содержащая гемоглобин, подвергнутый 2 часовой инкубации с поджелудочным соком, и подсолнечное масло.
*- достоверно отличающиеся величины по отношению к показателям с кормлением раствора гемоглобина. o- достоверно отличающиеся величины по отношению к показателям с кормлением эмульсии содержащей гемоглобин и подсолнечное масло.

По результатам исследования показателей холестерина в крови было установлено, что после кормления животных раствором гемоглобина на протяжении 6 часов наблюдения, эти показатели существенно не отличались от таковых до кормления (Рис 3.11А.).

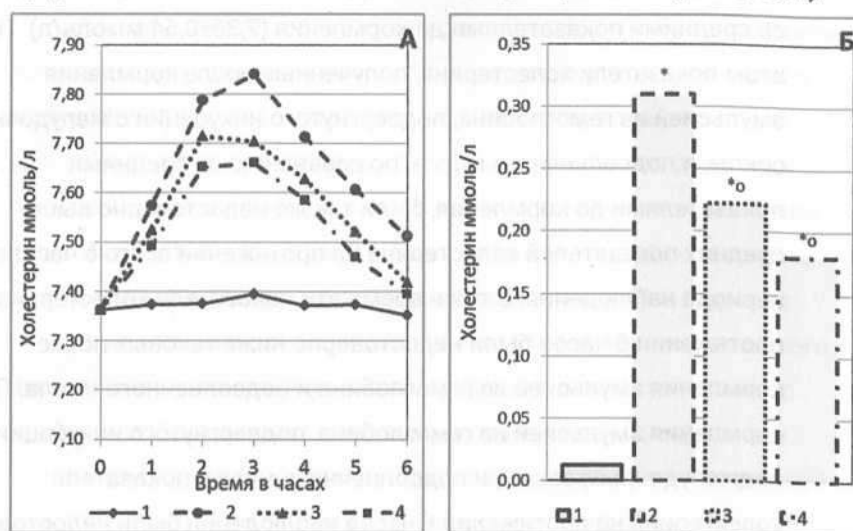


Рис. 11. Изменение показателей содержания холестерина в крови А- в течение 6 часов, Б- средний прирост по отношению к показателям до кормления. Исследования кормлением: 1-раствор гемоглобина; 2-эмульсия, содержащая казеин и подсолнечное масло; 3-эмульсия, содержащая гемоглобин, подвергнутый 2 часовой инкубации с желудочным соком, и подсолнечное масло; 4-эмульсия, содержащая гемоглобин, подвергнутый 2 часовой инкубации с поджелудочным соком, и подсолнечное масло
*- достоверно отличающиеся величины по отношению к показателям с кормлением раствора гемоглобина. ^o- достоверно отличающиеся величины по отношению к показателям с кормлением эмульсии содержащей гемоглобин и подсолнечное масло.

После кормления эмульсией из гемоглобина и подсолнечного масла отмечалось недостоверное увеличение средних показателей холестерина на протяжении 6 часов, с максимальным ростом его ко 2 часу ($7,79 \pm 0,59$ ммоль/л) и 3 часу ($7,84 \pm 0,63$ ммоль/л) по сравнению со средними показателями до кормления ($7,36 \pm 0,54$ ммоль/л). При этом показатели холестерина, полученные после кормления эмульсией из гемоглобина, подвергнутого инкубации с желудочным соком, и подсолнечного масла, по сравнению со средними показателями до кормления, были так же недостоверно выше средних показателей холестерина на протяжении всего 6 часового периода наблюдения. В тоже время эти показатели холестерина на протяжении 6 часов были недостоверно ниже таковых после кормления эмульсией из гемоглобина и подсолнечного масла. После кормления эмульсией из гемоглобина, подвергнутого инкубации с поджелудочным соком, и подсолнечного масла, показатели холестерина на протяжении 6 часов наблюдения были недостоверно выше по сравнению со средними показателями до кормления. Также эти показатели холестерина на протяжении 6 часового наблюдения были не достоверно ниже таковых после кормления эмульсией из гемоглобина и подсолнечного масла.

Было установлено, что средний показатель прироста холестерина после кормления эмульсией из гемоглобина и подсолнечного масла составлял $0,31 \pm 0,02$ ммоль/л (смотрите рисунок 3.4Б), а после кормления эмульсией из гемоглобина, подвергнутого инкубации с желудочным соком, и подсолнечного масла - $0,22 \pm 0,01$ ммоль/л, что было достоверно ниже прироста холестерина после кормления эмульсией из гемоглобина и подсолнечного масла. В тоже время после кормления эмульсией из гемоглобина, подвергнутого инкубации с поджелудочным соком, и

подсолнечного масла средний показатель прироста холестерина составлял $0,18 \pm 0,01$ ммоль/л, что было достоверно ниже прироста холестерина после кормления эмульсией из гемоглобина и подсолнечного масла (смотрите рисунок 3.11Б).

В результате проведенных исследований, при изучении влияния кормления эмульсии из гемоглобина, подвергнутого инкубации с желудочным соком, и подсолнечного масла, на показатели триглицеридов и холестерина крови по сравнению со средними показателями до кормления были выше, а после кормления были ниже в сопоставлении с эмульсией гемоглобина и подсолнечного масла. При этом показатели триглицеридов были достоверно, а показатели холестерина не достоверно выше на протяжении всего 6 часового периода наблюдения по сравнению с показателями до кормления. Также выявлено, что средние показатели прироста триглицеридов и холестерина под влиянием кормления эмульсией из гемоглобина, подвергнутого инкубации, как с желудочным, так и поджелудочным соком, и подсолнечного масла были достоверно ниже таковых после кормления эмульсией из гемоглобина и подсолнечного масла. Это указывает на то, что гидролизаты гемоглобина, полученные под влиянием, как желудочного, так и поджелудочного сока, способствуют ухудшению переваривания и всасывания жиров в тонком кишечнике.

Гидролизаты гемоглобина, полученные под влиянием, как желудочного, так и поджелудочного сока, способствуют ухудшению переваривания и всасывания жиров. Эффекты влияния гидролизатов гемоглобина на липидемические показатели крови не зависят от того, под влиянием каких протеаз получены гидролизаты казеина, а также возможно от последовательности действия протеаз на гемоглобин при получении из него гидролизатов и пептидов.

§4.3. Влияние гидролизатов, желатина, полученных под влиянием желудочного и поджелудочного сока, на липидемические показатели крови

Кроме изучения липидемических показателей крови под воздействием гидролизатов казеина и гемоглобина полученных под влиянием желудочного и поджелудочного сока. Представляло интерес изучить влияние гидролизатов желатина полученных под влиянием желудочного и поджелудочного сока на липидемические показатели крови. Ранее этот вопрос также не изучался в достаточной степени. В данном разделе работы представлены сведения об изменении липидемических показателей крови под воздействием гидролизатов желатина, полученных под влиянием желудочного и поджелудочного сока.

По результатам проведенных 60 хронических экспериментов на 3 собаках, в которых изучалось изменение липидемических показателей крови под воздействием гидролизатов желатина, полученных под влиянием желудочного и поджелудочного сока.

Из полученных результатов было установлено, что после кормления животных раствором желатина в крови не отмечалось существенных изменений показателей триглицеридов на протяжении 6 часов наблюдения (Рис 12А.). После кормления эмульсией из желатина и подсолнечного масла отмечалось увеличение всех средних показателей триглицеридов по сравнению с таковыми до кормления. Однако достоверное увеличение этих показателей наблюдалось ко 2 ($1,64 \pm 0,14$ ммоль/л), 3 ($1,75 \pm 0,15$ ммоль/л) и 4 часу ($1,46 \pm 0,13$ ммоль/л) по сравнению со средними показателями до кормления ($0,91 \pm 0,08$ ммоль/л) ($P < 0,01$). В тоже время показатели триглицеридов, полученные после кормления эмульсией из желатина, подвергнутого инкубации с желудочным

соком, и подсолнечного масла, по сравнению со средними показателями до кормления, были выше средних показателей триглицеридов на протяжении всего 6 часового периода наблюдения. При этом показатели триглицеридов ко 2 часу составляли $1,77 \pm 0,16$ ммоль/л, а к 3 часу - $1,80 \pm 0,17$ ммоль/л и 4 часу ($1,56 \pm 0,14$ ммоль/л) что было достоверно выше, показателей до кормления и незначительно выше показателей после кормления эмульсией из желатина без инкубации и подсолнечного масла. После кормления эмульсией из желатина, подвергнутого инкубации с поджелудочным соком, и подсолнечного масла, данные на протяжении 6 часов наблюдения были выше по сравнению со средними показателями до кормления, но не существенно ниже показателей после кормления эмульсией из желатина и подсолнечного масла. При этом показатели только на 2 ($1,60 \pm 0,14$ ммоль/л) и 3 час ($1,61 \pm 0,15$ ммоль/л) и 4 часу ($1,42 \pm 0,12$ ммоль/л) отмечались выше данных до кормления ($0,91 \pm 0,08$ ммоль/л) (смотрите рисунок 3.12А).

Из этих же результатов было установлено, что средний показатель прироста триглицеридов за 6-ти часовой период после кормления эмульсией из желатина и подсолнечного масла составлял $0,50 \pm 0,03$ ммоль/л по отношению к таковым до кормления. При этом после кормления эмульсией из желатина, подвергнутого инкубации с желудочным соком, и подсолнечного масла показатель среднего прироста триглицеридов (смотрите рисунок 3.12Б) составлял $0,58 \pm 0,04$ ммоль/л, что было не значительно выше прироста триглицеридов после кормления эмульсией из желатина и подсолнечного масла. В тоже время после кормления эмульсией из желатина, подвергнутого инкубации с поджелудочным соком, и подсолнечного масла средний показатель прироста триглицеридов

составлял $0,44 \pm 0,03$ ммоль/л, что было не существенно ниже прироста триглицеридов после кормления эмульсией из желатина и подсолнечного масла (смотрите рисунок 3.12Б).

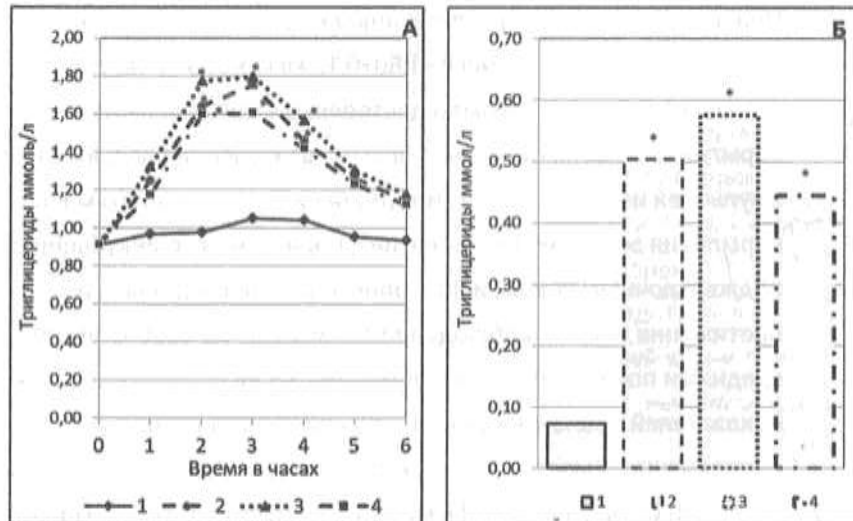


Рис. 3.12. Изменение показателей содержания триглицеридов в крови А- в течение 6 часов, Б- средний прирост по отношению к показателям до кормления. Исследования кормлением: 1-раствор желатина; 2-эмульсия, содержащая желатин и подсолнечное масло; 3-эмульсия, содержащая желатин, подвергнутый 2 часовой инкубации с желудочным соком, и подсолнечное масло; 4-эмульсия, содержащая желатин, подвергнутый 2 часовой инкубации с поджелудочным соком, и подсолнечное масло.

*- достоверно отличающиеся величины по отношению к показателям с кормлением раствора желатина. о- достоверно отличающиеся величины по отношению к показателям с кормлением эмульсии содержащей желатин и подсолнечное масло.

По результатам исследования показателей холестерина в крови было установлено, что после кормления животных раствором желатина на протяжении 6 часов наблюдения, эти показатели существенно не отличались от таковых до кормления (смотрите рисунок 3.13А.). После кормления эмульсией из желатина и подсолнечного масла отмечалось недостоверное увеличение средних показателей холестерина на протяжении 6 часов, с максимальным ростом его ко 2 часу ($7,63 \pm 0,54$ ммоль/л) и 3 часу ($7,62 \pm 0,61$ ммоль/л) по сравнению со средними показателями до кормления ($7,29 \pm 0,49$ ммоль/л). При этом показатели холестерина, полученные после кормления эмульсией из желатина, подвергнутого инкубации с желудочным соком, и подсолнечного масла, по сравнению со средними показателями до кормления, были так же недостоверно выше средних показателей холестерина на протяжении всего 6 часового периода наблюдения. В тоже время эти показатели холестерина на протяжении 6 часов были незначительно выше таковых после кормления эмульсией из желатина и подсолнечного масла. После кормления эмульсией из желатина, подвергнутого инкубации с поджелудочным соком, и подсолнечного масла, показатели холестерина на протяжении 6 часов наблюдения были недостоверно выше по сравнению со средними показателями до кормления. Также эти показатели холестерина на протяжении 6 часового наблюдения были не значительно ниже таковых после кормления эмульсией из желатина и подсолнечного масла (смотрите рисунок 3.13А.).

Было установлено, что средний показатель прироста холестерина после кормления эмульсией из желатина и подсолнечного масла составлял $0,19 \pm 0,01$ ммоль/л (смотрите рисунок 3.6Б), а после кормления эмульсией из желатина, подвергнутого

инкубации с желудочным соком, и подсолнечного масла - $0,22 \pm 0,01$ ммоль/л, что было достоверно ниже прироста холестерина после кормления эмульсией из желатина и подсолнечного масла. В тоже время после кормления эмульсией из желатина, подвергнутого инкубации с поджелудочным соком, и подсолнечного масла средний показатель прироста холестерина составлял $0,17 \pm 0,01$ ммоль/л, что было достоверно ниже прироста холестерина после кормления эмульсией из желатина и подсолнечного масла (смотрите рисунок 3.13Б).

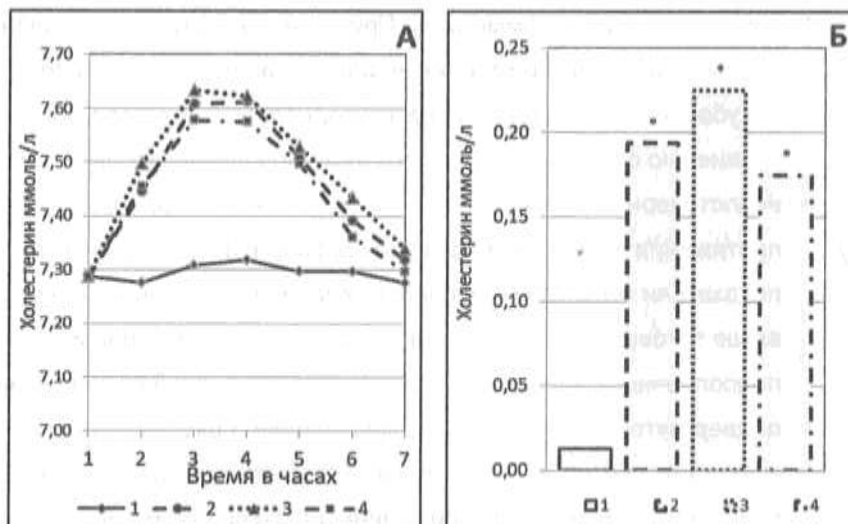


Рис. 3.13. Изменение показателей содержания холестерина в крови А- в течение 6 часов, Б- средний прирост по отношению к показателям до кормления. Исследования кормлением: 1-раствор желатина; 2-эмульсия, содержащая желатин и подсолнечное масло;

3-эмульсия, содержащая желатин, подвергнутый 2 часовой инкубации с желудочным соком, и подсолнечное масло; 4-эмульсия, содержащая желатин, подвергнутый 2 часовой инкубации с поджелудочным соком, и подсолнечное масло.

*- достоверно отличающиеся величины по отношению к показателям с кормлением раствора желатина. о- достоверно отличающиеся величины по отношению к показателям с кормлением эмульсии содержащей желатин и подсолнечное масло.

В результате проведенных исследований, при изучении влияния кормления эмульсии из желатина, подвергнутого инкубации с желудочным соком, и подсолнечного масла, на показатели триглицеридов и холестерина крови по сравнению со средними показателями до кормления были выше, а после кормления были незначительно выше в сопоставлении с эмульсией желатина и подсолнечного масла. При этом показатели триглицеридов и холестерина недостоверно выше на протяжении всего 6 часового периода наблюдения по сравнению с показателями до кормления. Также выявлено, что средние показатели прироста триглицеридов и холестерина под влиянием кормления эмульсией из желатина и подсолнечного масла, подвергнутого инкубации с желудочным соком не существенно выше, а с поджелудочным соком не значительно ниже таковых после кормления эмульсией из желатина и подсолнечного масла. Это указывает на то, что гидролизаты желатина, полученные под влиянием, как желудочного, так и поджелудочного сока, существенно не влияют на переваривание и всасывание жиров в тонком кишечнике.

Гидролизаты желатина, полученные под влиянием, как желудочного, так и поджелудочного сока, не влияют на переваривание и всасывание жиров. Эффекты влияния гидролизатов желатина на липидемические показатели крови не зависят от того, под влиянием каких протеаз получены гидролизаты желатина, а

также возможно от последовательности действия протеаз на желатин при получении из него гидролизатов и пептидов.

Полученные данные показывают, что предварительный гидролиз белков пепсинами в желудке может влиять не только на улучшение переваривания жиров, но также на их всасывание из тонкого кишечника. При этом гидролизаты, полученные от переваривания большинства белков желудочными пепсинами, в большей степени способствуют улучшению всасывания жиров и в меньшей степени обладают гиполипидемическим свойством. Однако некоторые белки, например гемоглобин, как нами показано, при желудочном гидролизе его, обладает гиполипидемическим эффектом. В тоже время предварительный гидролиз некоторых белков панкреатическими протеазами способствует снижению всасывания жиров, и проявлению гиполипидемических свойств. Предполагается, что механизм этих эффектов связан с тем, что гидролиз белка некоторыми протеазами приводит к обнажению гидрофобных аминокислотных участков, которые обычно скрыты внутри структуры нативного белка [14, с. 51-55]. Так же предполагается, что продукты гидролиза и пептиды белков выполняют свои функции посредством связывания желчных кислот и разрушения мицелл холестерина в желудочно-кишечном тракте, а также путем изменения активности печеночных и адипоцитарных ферментов и экспрессии генов липогенных белков, которые могут модулировать aberrантные физиологические профили липидов [82, с. 1365-1370].

Таким образом, можно предположить, что гидролиз белков желудочными пепсинами является физиологическим механизмом, как для улучшения переваривания жиров панкреатической липазой, так и улучшения всасывания их из тонкого кишечника. В тоже время

при нарушении этой последовательности гидролиза белков могут образовываться пептиды с гидрофобными свойствами, которые будут способствовать связыванию желчных кислот и нарушению всасывания жиров.

Так как некоторые белковые гидролизаты, а также пептиды обладают гиполлипидемическими свойствами и могут модулировать нарушенные физиологические уровни липидов. Поэтому применение белковых гидролизатов и пептидов могло бы стать альтернативой применения статинов, часто назначаемых для снижения уровня холестерина, но сопровождающихся различными миопатиями, гиперемией кожи и нарушением гликемического контроля. Но существует пробел в знаниях о детальных структурно-функциональных отношениях и их эффективности при гиперлипидемиях [73, с. 40-45].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Переваривание жиров широко обсуждается в литературе [132, с. 7400-7405; 109, с. 48-52; 29, с. 9352-9355; 174, с. 14-17; 33, с. 1831-1835], из-за важности этого вопроса для здоровья человека, а также для интереса фармацевтической промышленности. 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 и т. д. [33, с. 1831-1835].

Одним из возможных способов контроля абсорбции жира является регулирование ферментативной активности в GIT с использованием ингибиторов ферментов [33, с. 1831-1835].

Другим способом регуляции активности ферментов является использование соответствующих эмульгаторов, которые конкурируют с ферментами 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 [73, с. 40-45]. В этих исследованиях было показано, что скорость пищеварения может быть значительно снижена с использованием соответствующих эмульгаторов, таких как биополимеры [158, с. 381-384], экстракта зеленого чая [78, с. 45-51] и пищевых волокон [123, с. 269-275].

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 [115, с. 321-324; 152, с. 6505-6509].

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 [55, с. 1214-1217; 56, с. 326-331; 162, с. 8127-8132].

Активность белковых гидролизатов и пептидов зависит от их физико-химических свойств, включая гидрофобность аминокислотных остатков, но существует пробел в знаниях о детальных структурно-функциональных отношениях и влиянии на всасывание триглицеридов [73, с. 40-45]. Предполагается, что продукты гидролиза и пептиды белков выполняют свои функции посредством связывания желчных кислот и разрушения мицелл холестерина в желудочно-кишечном тракте, а также путем изменения активности печеночных и адипоцитарных ферментов и экспрессии генов липогенных белков, которые могут модулировать aberrантные физиологические профили липидов [82, с. 1365-1370].

В тоже время ранее не ставился вопрос о влиянии желудочного гидролиза пепсинами белков на улучшение перевариваемости жиров панкреатической липазой и улучшении всасывания жиров в кровь из тонкого кишечника.

Проведенные нами исследования показали, что все исследованные белки, кроме желатины обладают ингибирующим действием на липазу в составе панкреатического сока, степень

ингибирующего действия у каждого белка выражена неодинаково. 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. Следует так же отметить, что ингибирующая способность белками липазы также зависит от физико-химического свойств жиров. Жиры, имеющие в своем составе короткоцепочные жирные кислоты в меньшей степени обладают ингибирующей способностью белками липазы, а жиры, имеющие длинноцепочные жирные кислоты в большей степени.

Полученные данные показали, что при использовании белков в качестве эмульгатора, совместно с желчью, белки ингибировали липазу при значительно более высоких их концентрациях. При увеличении концентрации белков сначала вызывалось повышение активности панкреатической липазы, возможно за счет увеличения эмульгируемости смешанного субстрата используемого для определения панкреатической липазы. Затем при достижении концентрации белков до определенного уровня, отмечалось значительное снижение активности липазы, которое доходило до нуля.

После 30 минутной, а еще в большей мере после 60 минутной преинкубации с желудочным соком, белков, и дальнейшем использовании их в качестве эмульгаторов. Липолитическая активность панкреатического сока, при отсутствии желчных кислот, по сравнению с таковыми показателями без преинкубации, достоверно повышалась. Что указывает на снижение ингибирования белками связанного с уменьшением их количества за счет гидролиза

при преинкубации и отсутствие ингибирующего влияния на липолитическую активность панкреатического сока продуктами их гидролиза.

Так же ингибирующая способность белками липазы зависит от физико-химических свойств жиров. Жиры, имеющие в своем составе низкоцепочные жирные кислоты в меньшей степени обладают ингибирующей способностью белками липазы, а жиры имеющие длинноцепочные жирные кислоты в большей степени. Это может быть связано с тем, что жиры это триглицериды имеющие в своем составе низкоцепочные жирные кислоты, способствуют в меньшей степени конкурентной адсорбции белков по отношению к липазе на поверхности жировых капель, по сравнению с жирами имеющие в своем составе длинноцепочные жирные кислоты.

Полученные данные показывают, что ОПА поджелудочного сока в присутствии желчи при низкой концентрации белкового субстрата достоверно снижается. Эти изменения проявляются со всеми исследуемыми белками, кроме желатина, где эта способность менее выражена. Объяснить механизм снижения ОПА в присутствии желчи под влиянием протеаз поджелудочного сока можно тем, что желчные кислоты связываются с белками и тем самым препятствуют действию протеаз на белковые молекулы.

Таким образом, можно заключить, что желчные кислоты, входящие в состав желчи могут связываться с белками. Так было показано изменение вторичной структуры белка из-за положительного кооперативного эффекта связывания желчных солей с белком[31, с. 74-81; 178, с. 89-94]. Кроме того желчные кислоты могут создавать препятствие в переваривании белков в двенадцатиперстной кишке[85, с. 343-347].

Результаты исследований демонстрируют, что ОПА поджелудочного сока не одинаково изменяется в меньшую сторону у различных белков при низкой концентрации жирных кислот. Однако у всех белков при увеличении до 2% концентрации жирных кислот отмечается снижение ОПА. Эти эффекты снижения ОПА с применением высоких концентраций жирных кислот в меньшей степени выявлялись при использовании масляной кислоты - C_4 . Где у всех белков отмечалось однонаправленное не достоверное снижение ОПА поджелудочного сока. В тоже время, с использованием олеиновой кислоты - $C_{18,c}$ увеличением её концентрации, отмечалось выраженное и достоверное снижение ОПА с применением ряда белков, таких как сывороточный альбумин, гемоглобин и мясной порошок, при концентрации олеиновой кислоты - C_{18} в 1%. При этом у всех использованных белков, кроме желатина отмечалось более выраженное и достоверное снижение ОПА при концентрации до 2%. Из полученных данных видно, что чем больше молекулярная масса или длинна цепи жирной кислоты, тем в большей мере может проявляться взаимодействие их с белками и это может оказывать препятствие в переваривании белков в двенадцатиперстной кишке.

Полученные данные также показали, что при использовании белково-жировых эмульсий с применением подсолнечного масла и белков, наблюдалось достоверное повышение показателей ОПА поджелудочного сока по сравнению с таковыми результатами без жировой эмульсии с использованием в качестве субстрата только белка. В тоже время эффекты повышения показателей ОПА с использованием трибутирина были менее выражены по сравнению с показателями ОПА с применением подсолнечного масла.

При этом было выявлено, что как с использованием подсолнечного масла, так и трибутирина, после 30 минутной и еще в большей мере после 60 минутной преинкубации с желудочным соком белков, наблюдалось достоверное повышение показателей ОПА поджелудочного сока по сравнению таковыми без жировой эмульсии с использованием в качестве субстрата только белка.

Полученные результаты могут быть связаны с тем, что при увеличении преинкубации белков с желудочным соком отмечается снижение остаточного белка и увеличение продуктов их гидролиза которые в меньшей степени могут влиять на ОПА. Это подтверждается тем, что с увеличением времени преинкубации белка с желудочным соком и снижении свободного белка, при этом увеличении продуктов гидролиза белка, отмечается повышение ОПА под влиянием поджелудочного сока с использованием эмульсии состоящей, как из подсолнечного масла, так и трибутирина, а также предварительно гидролизованного белка. Поэтому можно предположить, что при увеличении времени преинкубации отмечается снижение свободного белка и за счет этого большая часть белка адсорбирована на поверхности жировых капель подсолнечного масла или трибутирина, что может способствовать увеличению ОПА поджелудочного сока в составе жировой эмульсии. С нарастанием концентрации белка увеличивается концентрация свободного белка за счет того, что жировые капли подсолнечного масла в большей мере покрыты предыдущими концентрациями белка и при нарастании концентрации белка расход на адсорбционную часть уменьшается и увеличивается концентрация свободного белка, за счет этого увеличивается ОПА поджелудочного сока. В проведенных исследованиях с использованием белково-жировой эмульсии состоящей из белка и трибутирина изменения,

описанные выше, менее выражены, по сравнению использованием подсолнечного масла.

На основании этих данных можно предположить, что на различие степени адсорбции белков на подсолнечном масле и трибутирине влияет различие физико-химического строения этих масел. За счет этого, можно предположить, что сила взаимодействия белков с подсолнечным маслом, при адсорбции его на поверхности жировой капли значительно выше, чем с трибутирином. Это может быть связано вследствие присутствия длинноцепочных жирных кислот, что повышает влияние протеаз поджелудочного сока на адсорбированный белок на поверхности жировой капли и что приводит к повышению ОПА при использовании подсолнечного масла. Таким образом, можно заключить, что адсорбция белков на поверхности жировых капель может способствовать увеличению их гидролиза протеазами.

В результате проведенных исследований, при изучении влияния различной концентрации подсолнечного масла в составе белково-жировой эмульсии на ОПА поджелудочного сока, было установлено достоверно постепенное повышение ОПА поджелудочного сока с нарастанием концентрации подсолнечного масла. Это связано с тем, что белки обладают адсорбцией на поверхности жировых капель, в белково-жировых эмульсиях. Полученные результаты также можно объяснить тем, что при повышении концентрации подсолнечного масла в составе белково-жировых эмульсий, увеличивается количество жировых капель и общая поверхность этих капель. За счет этого увеличивается количество адсорбированного на жировых каплях белка, и это взаимодействие способствует увеличению влияния протеаз на молекулы белка, в результате отмечается

повышение ОПА поджелудочного сока при использовании белково-жировой эмульсии.

При изучении влияния различной концентрации трибутирина в составе белково-жировой эмульсии наблюдалось менее выраженное достоверное постепенное повышение ОПА желудочного и поджелудочного сока с нарастанием концентрации трибутирина, но уровень этих показателей был ниже по сравнению с показателями подсолнечного масла. На основании этих данных можно предположить, что на отличие эффектов подсолнечного масла и трибутирина может оказывать влияние различие физико-химических свойств этих масел, что влияет на различие степени адсорбции белков на подсолнечном масле и трибутирине. Возможно, это связано с тем, что подсолнечное масло является триглицеридом в состав, которого входят в основном длинноцепочные жирные кислоты олеиновая и линолевая кислоты. Тогда как в состав триглицерида трибутирина входит короткоцепочная масляная кислота. Можно предположить, что сила взаимодействия белков с подсолнечным маслом, при адсорбции на поверхности жировой капли, за счет присутствия длинноцепочных жирных кислот значительно выше, чем с трибутирином. Это способствует увеличению адсорбции белка и повышению влиянию протеаз желудочного и поджелудочного сока на адсорбированный на поверхности жировой капли белок, что приводит к более выраженному повышению ОПА при использовании подсолнечного масла, чем при применении трибутирина.

Полученные результаты исследований показали, что в условиях щелочной среды, с увеличением продуктов гидролиза подсолнечного масла и трибутирина, отмечающееся более выраженное снижение ОПА поджелудочного сока, может быть связано с возможностью

образования жирных кислот, концентрация которых повышается с увеличением времени преинкубации жиров. Образовавшиеся жирные кислоты при взаимодействии с молекулами белков имеют способность создавать комплексы, которые могут препятствовать действию протеаз поджелудочного сока. В тоже время в условиях кислой среды, с увеличением продуктов гидролиза подсолнечного масла и трибутирина, отмечается менее выраженное снижение ОПА желудочного сока. Это может быть связано с тем, что образовавшиеся жирные кислоты, концентрация которых повышается с увеличением времени преинкубации подсолнечного масла, могут обладать незначительно выраженной способностью к образованию с молекулами белков комплексов в кислой среде, которые могли бы препятствовать действию пепсина желудочного сока.

Также результаты проведенных исследований показали, что при использовании белково-жировых эмульсий с применением трибутирина и белков, наблюдалось незначительно выраженное снижение ОПА как поджелудочного, так и желудочного сока с нарастанием концентрации продуктов гидролиза трибутирина. Это может быть связано с тем, что образовавшиеся жирные кислоты, концентрация которых повышается с увеличением времени преинкубации трибутирина, могут обладать менее выраженной способностью к образованию с молекулами белка комплексов, которые могли бы препятствовать в щелочной среде действию протеаз поджелудочного сока, а также могли бы препятствовать в кислой среде действию пепсина желудочного сока.

Результаты этих исследований являются дополнительным подтверждением того, что на отличие эффектов продуктов гидролиза подсолнечного масла и трибутирина влияют различные физико-

химические строения этих масел. Можно предположить, что сила взаимодействия белков с жирными кислотами подсолнечного масла значительно выше, чем с жирными кислотами трибутирина за счет присутствия длинноцепочных жирных кислот и это может препятствовать влиянию протеаз поджелудочного сока, что способствует снижению ОПА поджелудочного сока при использовании продуктов гидролиза подсолнечного масла. В тоже время на различие эффектов при использовании продуктов гидролиза подсолнечного масла и трибутирина влияет pH среды. В кислой среде сила взаимодействия белков с жирными кислотами, как подсолнечного масла, так и трибутирина существенно не отличается. Это может быть связано с тем, что в кислой среде жирные кислоты, как подсолнечного масла, так и трибутирина могут обладать незначительно выраженной способностью к образованию с молекулами белков комплексов, которые могли бы препятствовать в кислой среде действию пепсина желудочного сока.

Полученные данные показывают, что предварительный гидролиз белков пепсинами в желудке может влиять не только на улучшение переваривания жиров, но также на их всасывание из тонкого кишечника. При этом гидролизаты полученные от переваривания большинства белков желудочными пепсинами в большей степени способствуют улучшению всасывания жиров и в меньшей степени обладают гиполлипидемическим свойством. Однако некоторые белки например гемоглобин, как нами показано при желудочном гидролизе его обладает гиполлипидемическим эффектом. В тоже время предварительный гидролиз некоторых белков панкреатическими протеазами способствует снижению всасывания жиров, и проявлению гиполлипидемических свойства. Предполагается, что механизм этих эффектов связан с тем, что при

гидролизе белка некоторыми протеазами приводит к обнажению гидрофобных аминокислотных участков, которые обычно скрыты внутри структуры нативного белка[14, с. 51-55].

В общем, полученные данные показывают, что желудочный гидролиз пепсинами белков способствует не только дальнейшему улучшению гидролиза их под влиянием протеолитических ферментов поджелудочного сока, но также и гидролизу жиров под влиянием панкреатической липазы. Механизм этих процессов заключается в том, что все белки за счет конкурентной адсорбции белков и десорбции белками липазы с поверхности жировых капель обладают ингибирующим действием на липазу в составе панкреатического сока. Степень ингибирующего действия у каждого белка выражена неодинаково. Полученные данные показывают, что желудочное переваривание белков снижает их способность ингибировать панкреатическую липазу. Так же ингибирующая способность белками липазы зависит от физико-химических свойств жиров. Кроме того белки обладают способностью связываться с желчными кислотами. Поэтому большое количество не гидролизованных в желудке белков поступающих в двенадцатиперстную кишку может связывать значительную часть желчных кислот. Это может снизить эмульгируемость жиров и увеличить конкурентную адсорбцию белков на поверхности жировых капель, что может способствовать снижению перевариваемости жиров, особенно при снижении желчевыделения. При этом предварительный гидролиз белков в желудке способствует снижению связывания белками желчных кислот, что также способствует улучшению переваривания жиров панкреатической липазой. Также связывание белков с желчными кислотами способствует снижению гидролиза белков панкреатическими протеазами, что является препятствием

переваривания белков в двенадцатиперстной кишке и дополнительным фактором необходимости предварительного гидролиза белков в желудке пепсинами. Белки могут связываться с жирными кислотами. Это способствует снижению гидролиза белков панкреатическими протеазами, что является также препятствием переваривания белков в двенадцатиперстной кишке и дополнительным фактором необходимости предварительного гидролиза белков пепсинами в желудке (Смотрите схему).

Кроме того продукты гидролиза жиров панкреатической липазой, способствуют снижению перевариваемости белков панкреатическими протеазами, что может препятствовать перевариванию белков в двенадцатиперстной кишке и дополнительным фактором необходимости предварительного гидролиза белков пепсинами в желудке. В тоже время адсорбция белков на жировых каплях способствует улучшению перевариваемости белков.

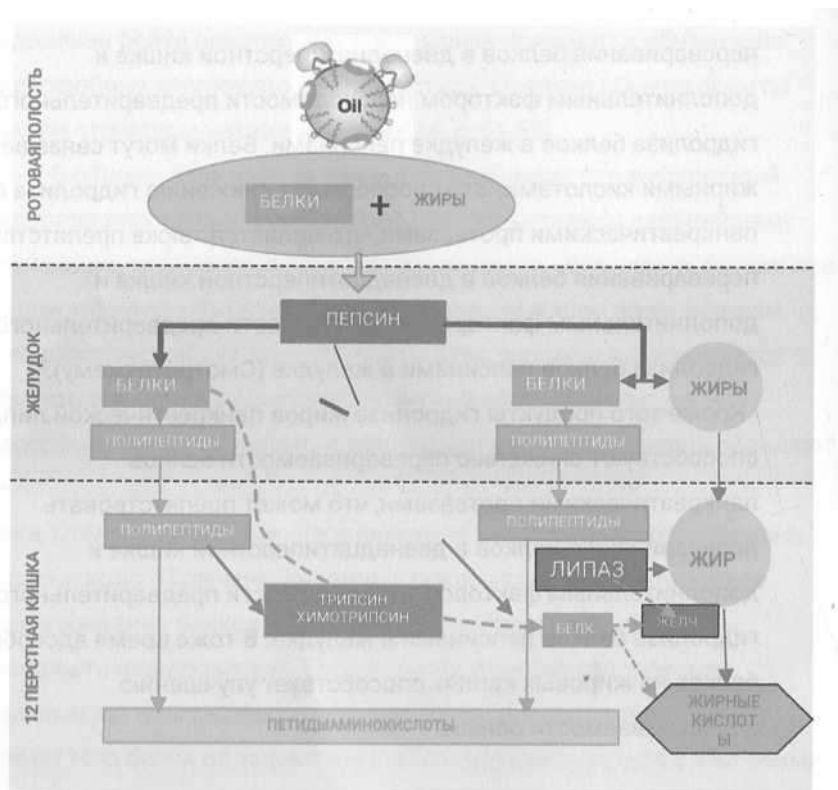


СХЕМА ВЛИЯНИЯ ГИДРОЛИЗА БЕЛКОВ ПЕПСИНАМИ ЖЕЛУДКА НА УЛУЧШЕНИЕ ПЕРЕВАРИВАНИЯ ЖИРОВ

Таким образом, можно заключить, что предварительный гидролиз белков в желудке является этапом ферментативной дезинтеграции их с жирами, желчными и жирными кислотами, а также другими биологически активными соединениями, способствуя, прежде всего в улучшении переваривания жиров, а также белков. Возможно, этот факт является более важным для гидролитической функции желудка, чем улучшения гидролиза белков панкреатическими протеазами и главным эволюционным фактором предварительного переваривания белков желудочным соком.

Степень гидролиза различных белков в желудке может иметь существенное воздействие на переваривание и всасывание жиров. Также может являться одним из патогенетических механизмов нарушения гидролиза и всасывания жиров у некоторых больных с пониженной общей концентрацией желчных кислот - с илеоэктомией, стеатореей, и у пациентов с недостаточностью поджелудочной железы, а также с недостаточной функцией желудка. Это может стать дополнительным обоснованием для разработки и использования лечебных диет с использованием пепсиновых гидролизатов белков в специфической терапевтической коррекции у таких больных. Кроме того в качестве коррекции нарушения переваривания жиров часто применяются препарат панкреатин содержащий ферменты поджелудочной железы, что патогенетически не соответствует полученными нами данными и более эффективней будет применение препаратов стимулирующих секреторную и ферментовыделительную деятельность желудка.

Полученные данные также показывают, что предварительный гидролиз белков пепсинами в желудке может влиять не только на улучшение переваривания жиров, но также на их всасывание в кровь из тонкого кишечника. При этом гидролиз большинства белков желудочными пепсинами является физиологическим процессом, так как способствует улучшению всасывания жиров. В тоже время предварительный гидролиз белков трипсином или другими протеазами может способствовать нарушению всасывания жиров. Что также подтверждает необходимость применения пепсиновых гидролизатов с целью диетической коррекции нарушения переваривания и всасывания жиров у больных с пониженной функцией желудка и сниженным желчевыделением, но не

трипсиновых гидролизатов, которые могут способствовать нарушению всасывания жиров.

Предполагается, что продукты гидролиза и пептиды белков выполняют свои функции посредством связывания желчных кислот и разрушения мицелл холестерина в желудочно-кишечном тракте, а также путем изменения активности печеночных и адипоцитарных ферментов и экспрессии генов липогенных белков, которые могут модулировать aberrантные физиологические профили липидов [82, с. 1365-1370].

Таким образом, гидролиз белков желудочными пепсинами является физиологическим механизмом, как для улучшения переваривания жиров панкреатической липазой, так и улучшения всасывания их из тонкого кишечника. В тоже время при нарушении этой последовательности гидролиза белков могут образовываться пептиды с гидрофобными свойствами, которые будут способствовать связыванию желчных кислот и нарушению всасывания жиров.

Так как некоторые белковые гидролизаты, а также пептиды обладают гиполлипидемическими свойствами и могут модулировать нарушенные физиологические уровни липидов. Поэтому применение белковых гидролизатов и пептидов могло бы стать альтернативой применения статинов, часто назначаемых для снижения уровня холестерина, но сопровождающихся различными миопатиями, гиперемией кожи и нарушением гликемического статуса. Но существует пробел в знаниях о детальных структурно-функциональных отношениях и их эффективности при гиперлипидемиях [73, с. 40-45].

ВЫВОДЫ

В результате проведенных исследований диссертации доктора философии (PhD) на тему «Желудочный гидролиз белков как фактор снижения ингибирования панкреатической липазы и улучшения переваривания жиров» представлены следующие выводы:

1. Установлено *in vitro*, что все исследованные белки, кроме желатины обладают ингибирующим действием на липазу в составе панкреатического сока, степень ингибирующего действия у каждого белка выражена неодинаково. При этом липолитическая активность панкреатического сока, по сравнению с показателями без преинкубации, достоверно повышалась, что вело к улучшению перевариваемости жиров.

2. Показано на модели *in vitro*, что при использовании их в качестве эмульгатора, белков совместно с желчью, эти белки ингибировали липазу при значительно более высоких концентрациях. При увеличении концентрации белков сначала отмечалось повышение активности панкреатической липазы, что способствовало улучшению перевариваемости жиров. Затем, при достижении концентрации белков до определенного уровня, отмечалось значительное снижение активности липазы, которое доходило до нуля. Что указывает на адсорбцию белками желчных кислот и увеличение ингибирующей способности ими липазы.

3. Выявлено *in vitro*, что ОПА поджелудочного сока не одинаково снижается при использовании различных белков совместно с жирными кислотами. Эти эффекты с применением жирных кислот в меньшей степени выявлялись при использовании масляной кислоты - C₄ и в большей - при использовании олеиновой кислоты - C₁₈.

4. Установлено в хронических экспериментах на собаках, что предварительный гидролиз белков желудочными протеазами способствует улучшению всасывания жиров, проявляющемуся в увеличении показателей холестерина и триглицеридов в крови. В тоже время предварительный гидролиз белков панкреатическими протеазами способствует снижению всасывания жиров, проявляющемуся в уменьшении показателей холестерина и триглицеридов в крови.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

В теоретическом плане полученные в работе результаты исследования дополняют и расширяют физиологическое представление об участии желудочного гидролиза пепсинами белков в улучшении перевариваемости жиров.

В практическом плане полученные в работе результаты исследования доказывают новые патогенетические механизмы участия нарушения желудочного пищеварения связанного со снижением секреторной и ферментовыделительной деятельностью желудка и желчевыделения на уменьшение перевариваемости и всасывания жиров.

Результаты исследования могут стать дополнительным обоснованием для разработки и применения лечебных диет с использованием пепсиновых гидролизатов белков с целью улучшения перевариваемости и усвояемости жиров и белков.

Доказана физиологическая необходимость последовательности переваривания белков первоначально желудочными протеазами, и в дальнейшем - панкреатическими протеазами.

В качестве коррекции нарушения переваривания жиров часто применяются препарат панкреатин, содержащий ферменты поджелудочной железы, что патогенетически не соответствует полученным нами данным, более эффективным будет применение препаратов, стимулирующих секреторную и ферментовыделительную деятельность желудка.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Губергриц Н.Б. Возможности лабораторной диагностики заболеваний поджелудочной железы // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2008. - № 7. - С. 93-101.
2. Захарова И. Н., Коровина Н. А., Малова Н. Е. Экзокринная недостаточность поджелудочной железы // Вопросы современной педиатрии. – 2003. – Т. 2. – №. 5. – С. 2-8.
3. Ильченко А. А. Желчные кислоты в норме и при патологии // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2010. – №. 4. – С. 3-13.
4. Кононов А.В. Цитопротекция слизистой оболочки желудка: молекулярно-клеточные механизмы // Рос.журн. гастро-энтерол., гепатол., колопроктол. 2006, № 3. С. 12-16.
5. Коротько Г.Ф. Желудочное пищеварение в технологическом ракурсе // Кубанский научный медицинский вестник. – 2006. – № 7-8 (88-89). – с. 17–22.
6. Коротько Г.Ф. Секреция поджелудочной железы. 2-е доп. изд. Краснодар: изд. КГМУ. 2005. 312 с.
7. Коротько Г.Ф., Плешкова М.А. Адекватность характеристики ферментовыделительной деятельности желудочных желез // Вестник интенсивной терапии, 2005, № 5. С. 249-253.
8. Курзанов А.Н. Метод определения липолитической активности биологических жидкостей // Лаб. дело.- 1975.-№12.- С.746-747.

9. Нагорная Н. В., Лимаренко М. П. Внешне секреторная функция поджелудочной железы и методы ее оценки //Здоровье ребенка. – 2012. – №. 8 (43). – С. 118-122.
10. Передерий В.Г., Ткач С.М. Практическая гастроэнтерология. – Винница, 2011. – С. 47-54.
11. Смелышева, Л. Н. Секреторная функция желудка и поджелудочной железы при действии эмоционального стресса/Дисс....канд.мед.наук., Тюмень, 2007, 278 с.
12. Adler-Nissen J. et al. Enzymic hydrolysis of food proteins. – Elsevier applied science publishers, 1986. . – 427 pp.
13. Agrawal S., Aoun E. The Physiology of the Pancreas //Practical Gastroenterology. – 2014. – Т. 38. – №. 12. – С. 48-56.
14. Al-Shamsi, K. A., Mudgil, P., Hassan, H. M., &Maqsood, S. Camel milk protein hydrolysates with improved technofunctional properties and enhanced antioxidant potential in in vitro and in food model systems //Journal of dairy science. – 2018. – Т. 101. – №. 1. – С. 47-60.
15. Al-Shamsi, K. A., Mudgil, P., Hassan, H. M., &Maqsood, S. Camel milk protein hydrolysates with improved technofunctional properties and enhanced antioxidant potential in in vitro and in food model systems //Journal of dairy science. – 2018. – Т. 101. – №. 1. – С. 47-60.
16. Arihara K. Strategies for designing novel functional meat products //Meat science. – 2006. – Т. 74. – №. 1. – С. 219-229.
17. Barbana C., Boucher A. C., Boye J. I. In vitro binding of bile salts by lentil flours, lentil protein concentrates and lentil protein hydrolysates //Food Research International. – 2011. – Т. 44. – №. 1. – С. 174-180.

18. Barrett A. J. (ed.). Proteolytic enzymes: serine and cysteine peptidases. — San Diego : Academic Press, 1994. — T. 244. — C. 1-765.
19. Bellesi F. A., Ruiz-Henestrosa V. M. P., Pilosof A. M. R. Behavior of protein interfacial films upon bile salts addition //Food Hydrocolloids. — 2014. — T. 36. — C. 115-122.
20. Bhattacharjee C., Das K. P. Thermal unfolding and refolding of β -lactoglobulin: An intrinsic and extrinsic fluorescence study //European Journal of Biochemistry. — 2000. — T. 267. — №. 13. — C. 3957-3964.
21. Birru, W. A., Warren, D. B., Ibrahim, A., Williams, H. D., Benameur, H., Porter, C. J., ... & Pouton, C. W. Digestion of phospholipids after secretion of bile into the duodenum changes the phase behavior of bile components //Molecular pharmaceutics. — 2014. — T. 11. — №. 8. — C. 2825-2834.
22. Blanco G., Blanco A. Medical biochemistry. — Academic Press, 2017. — C. 251-273.
23. Butré C. I., Wierenga P. A., Gruppen H. Influence of water availability on the enzymatic hydrolysis of proteins //Process Biochemistry. — 2014. — T. 49. — №. 11. — C. 1903-1912.
24. Cheison, S. C., Lai, M. Y., Leeb, E., & Kulozik, U. Hydrolysis of β -lactoglobulin by trypsin under acidic pH and analysis of the hydrolysates with MALDI-TOF-MS/MS //Food Chemistry. — 2011. — T. 125. — №. 4. — C. 1241-1248.
25. Cheison, S. C., Leeb, E., Letzel, T., & Kulozik, U. Influence of buffer type and concentration on the peptide composition of trypsin hydrolysates of β -lactoglobulin //Food chemistry. — 2011. — T. 125. — №. 1. — C. 121-127.

26. Cheison, S. C., Schmitt, M., Leeb, E., Letzel, T., & Kulozik, U. Influence of temperature and degree of hydrolysis on the peptide composition of trypsin hydrolysates of β -lactoglobulin: Analysis by LC-ESI-TOF/MS //Food chemistry. – 2010. – T. 121. – №. 2. – C. 457-467.
27. Cheung, I. W., Nakayama, S., Hsu, M. N., Samaranayaka, A. G., & Li-Chan, E. C. Angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity of hydrolysates from oat (*Avena sativa*) proteins by in silico and in vitro analyses //Journal of agricultural and food chemistry. – 2009. – T. 57. – №. 19. – C. 9234-9242.
28. Chiang J. Y. L. Bile acid metabolism and signaling //Comprehensive Physiology. – 2013. – T. 3. – №. 3. – C. 1191-1212.
29. Chu, B. S., Rich, G. T., Ridout, M. J., Faulks, R. M., Wickham, M. S., & Wilde, P. J. Modulating pancreatic lipase activity with galactolipids: effects of emulsion interfacial composition //Langmuir. – 2009. – T. 25. – №. 16. – C. 9352-9360.
30. de Kruif, C. K., Anema, S. G., Zhu, C., Havea, P., & Coker, C. Water holding capacity and swelling of casein hydrogels //Food Hydrocolloids. – 2015. – T. 44. – C. 372-379.
31. De S., Das S., Girigoswami A. Spectroscopic probing of bile salt-albumin interaction //Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. – 2007. – T. 54. – №. 1. – C. 74-81.
32. Dekkers B. L., Boom R. M., van der Goot A. J. Structuring processes for meat analogues //Trends in Food Science & Technology. – 2018. – T. 81. – C. 25-36.
33. 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. – T. 28. – №. 8. – C. 1831-1842.

34. Deming T. J. Polypeptide hydrogels via a unique assembly mechanism //Soft Matter. – 2005. – T. 1. – №. 1. – C. 28-35.

35. Deng, Y., van der Veer, F., Sforza, S., Gruppen, H., & Wierenga, P. A. Towards predicting protein hydrolysis by bovine trypsin //Process Biochemistry. – 2018. – T. 65. – C. 81-92.

36. Dickinson E. Emulsion gels: The structuring of soft solids with protein-stabilized oil droplets //Food hydrocolloids. – 2012. – T. 28. – №. 1. – C. 224-241.

37. Dickinson E. Flocculation of protein-stabilized oil-in-water emulsions //Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. – 2010. – T. 81. – №. 1. – C. 130-140.

38. Dickinson E. Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers //Food hydrocolloids. – 2009. – T. 23. – №. 6. – C. 1473-1482.

39. Dickinson E., Rolfe S. E., Dalgleish D. G. Competitive adsorption of α 1-casein and β -casein in oil-in-water emulsions //Food Hydrocolloids. – 1988. – T. 2. – №. 5. – C. 397-405.

40. Doll, T. A., Raman, S., Dey, R., &Burkhard, P. Nanoscale assemblies and their biomedical applications //Journal of The Royal Society Interface. – 2013. – T. 10. – №. 80. – C. 20120740-20120747.

41. Donovan J. M., Jackson A. A., Carey M. C. Molecular species composition of inter-mixed micellar/vesicular bile salt concentrations in model bile: dependence upon hydrophilic-hydrophobic balance //Journal of lipid research. – 1993. – T. 34. – №. 7. – C. 1131-1140.

42. Dopierala K., Krajewska M., Prochaska K. Binding of α -lactalbumin to oleic acid monolayer and its relevance to formation of HAMLET-like complexes //International Dairy Journal. – 2019. – T. 89. – C. 96-104.
43. Erdmann K., Cheung B. W. Y., Schröder H. The possible roles of food-derived bioactive peptides in reducing the risk of cardiovascular disease //The Journal of nutritional biochemistry. – 2008. – T. 19. – №. 10. – C. 643-654.
44. Ericsson, P., Håkanson, R., Rehfeld, J. F., & Norlén, P. Gastrin release: Antrum microdialysis reveals a complex neural control //Regulatory peptides. – 2010. – T. 161. – №. 1-3. – C. 22-32.
45. Euston, S. R., Baird, W. G., Campbell, L., & Kuhns, M. Competitive adsorption of dihydroxy and trihydroxy bile salts with whey protein and casein in oil-in-water emulsions //Biomacromolecules. – 2013. – T. 14. – №. 6. – C. 1850-1858.
46. Euston, S. R., Bellstedt, U., Schillbach, K., & Hughes, P. S. The adsorption and competitive adsorption of bile salts and whey protein at the oil–water interface //Soft Matter. – 2011. – T. 7. – №. 19. – C. 8942-8951.
47. Fang, B., Zhang, M., Tian, M., Jiang, L., Guo, H. Y., & Ren, F. Z. Bovine lactoferrin binds oleic acid to form an anti-tumor complex similar to HAMLET //Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids. – 2014. – T. 1841. – №. 4. – C. 535-543.
48. Fennema O. R., Tannenbaum S. R. Introduction to food chemistry //Food science and technology-New york-marcel dekker. – 1996. – C. 1-16.
49. Fernández A., Riera F. β -Lactoglobulin tryptic digestion: a model approach for peptide release //Biochemical engineering journal. – 2013. – T. 70. – C. 88-96.

50. Floury, J., Bianchi, T., Thévenot, J., Dupont, D., Jamme, F., Lutton, E., ... & Le Feunteun, S. Exploring the breakdown of dairy protein gels during in vitro gastric digestion using time-lapse synchrotron deep-UV fluorescence microscopy // *Food Chemistry*. — 2018. — T. 239. — C. 898-910.
51. Fontana A., Spolaore B., de Laureto P. P. The biological activities of protein/oleic acid complexes reside in the fatty acid // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*. — 2013. — T. 1834. — №. 6. — C. 1125-1143.
52. Fu Z. D., Klaassen C. D. Increased bile acids in enterohepatic circulation by short-term calorie restriction in male mice // *Toxicology and applied pharmacology*. — 2013. — T. 273. — №. 3. — C. 680-690.
53. Fujiwara S., Amisaki T. Fatty acid binding to serum albumin: molecular simulation approaches // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*. — 2013. — T. 1830. — №. 12. — C. 5427-5434.
54. Galantini, L., di Gregorio, M. C., Gubitosi, M., Travaglini, L., Tato, J. V., Jover, A., & Pavel, N. V. Bile salts and derivatives: Rigid unconventional amphiphiles as dispersants, carriers and superstructure building blocks // *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. — 2015. — T. 20. — №. 3. — C. 170-182.
55. Gargouri Y, Julien R, Pieroni G, Verger R, Sarda L. Studies on the inhibition of pancreatic and microbial lipases by soybean proteins // *Journal of lipid research*. — 1984. — T. 25. — №. 11. — C. 1214-1221.
56. Gargouri Y, Julien R, Sugihara A, Verger R, Sarda L. Inhibition of pancreatic and microbial lipases by proteins

//Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism.
– 1984. – T. 795. – №. 2. – C. 326-331.

57. Gérard P. Metabolism of cholesterol and bile acids by the gut microbiota //Pathogens. – 2014. – T. 3. – №. 1. – C. 14-24.

58. Golding M., Wooster T. J. The influence of emulsion structure and stability on lipid digestion //Current Opinion in Colloid & Interface Science. – 2010. – T. 15. – №. 1-2. – C. 90-101.

59. Güler, G., Džafić, E., Vorobev, M. M., Vogel, V., & Mäntele, W. Real time observation of proteolysis with Fourier transform infrared (FT-IR) and UV-circular dichroism spectroscopy: Watching a protease eat a protein //Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. – 2011. – T. 79. – №. 1. – C. 104-111.

60. Güler, G., Vorob'ev, M. M., Vogel, V., & Mäntele, W. Proteolytically-induced changes of secondary structural protein conformation of bovine serum albumin monitored by Fourier transform infrared (FT-IR) and UV-circular dichroism spectroscopy //Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. – 2016. – T. 161. – C. 8-18.

61. Hall, F. G., Jones, O. G., O'Haire, M. E., & Liceaga, A. M. Functional properties of tropical banded cricket (*Grylloblatta campodeiformis*) protein hydrolysates //Food Chemistry. – 2017. – T. 224. – C. 414-422.

62. Hambling S. G., McAlpine A. S., Sawyer L. β -Lactoglobulin //Advanced dairy chemistry. – 1992. – T. 1. – C. 141-190.

63. Hamilton J. A. Fatty acid interactions with proteins: what X-ray crystal and NMR solution structures tell us //Progress in lipid research. – 2004. – T. 43. – №. 3. – C. 177-199.

64. Hamilton, J., Knox, B., Hill, D., & Parr, H. Reduced fat products. Consumer perceptions and preferences //British Food Journal. – 2000. – T. 102. – №. 7. – C. 494-506.
65. Heuman D. M. Quantitative estimation of the hydrophilic-hydrophobic balance of mixed bile salt solutions //Journal of lipid research. – 1989. – T. 30. – №. 5. – C. 719-730.
66. Hofmann A. F. Bile acids: the good, the bad, and the ugly //Physiology. – 1999. – T. 14. – №. 1. – C. 24-29.
67. Hofmann A. F. The enterohepatic circulation of bile acids in mammals: form and functions //Front Biosci. – 2009. – T. 14. – №. 1. – C. 2584-2598.
68. Hofmann A. F., Hagey L. R. Bile acids: chemistry, pathochemistry, biology, pathobiology, and therapeutics //Cellular and Molecular Life Sciences. – 2008. – T. 65. – №. 16. – C. 2461-2483.
69. Hofmann, A. F., Sjövall, J., Kurz, G., Radomska, A., Schteingart, C. D., Tint, G. S., ...& Setchell, K. D. A proposed nomenclature for bile acids //Journal of lipid research. – 1992. – T. 33. – №. 4. – C. 599-604.
70. Holm R., Müllertz A., Mu H. Bile salts and their importance for drug absorption //International Journal of Pharmaceutics. – 2013. – T. 453. – №. 1. – C. 44-55.
71. Hong W., Zhao X., Suo Z. Large deformation and electrochemistry of polyelectrolyte gels //Journal of the Mechanics and Physics of Solids. – 2010. – T. 58. – №. 4. – C. 558-577.
72. Horkay, F., Han, M. H., Han, I. S., Bang, I. S., & Magda, J. Separation of the effects of pH and polymer concentration on the swelling pressure and elastic modulus of a pH-responsive hydrogel //Polymer. – 2006. – T. 47. – №. 21. – C. 7335-7338.

73. Howard A., Udenigwe C. C. Mechanisms and prospects of food protein hydrolysates and peptide-induced hypolipidaemia //Food & Function. – 2013. – T. 4. – №. 1. – C. 40-51.
74. 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. – T. 114. – №. 1. – C. 253-262.
75. Ikpa P. Cystic fibrosis defects in intestinal bile acid and guanylin signaling. – 2017, - 163 pp.
76. Jafari, N., Ahmed, R., Gloyd, M., Bloomfield, J., Britz-McKibbin, P., & Melacini, G. Allosteric sensing of fatty acid binding by NMR: Application to human serum albumin //Journal of medicinal chemistry. – 2016. – T. 59. – №. 16. – C. 7457-7465.
77. Jones O. G. Recent advances in the functionality of non-animal-sourced proteins contributing to their use in meat analogs //Current Opinion in Food Science. – 2016. – T. 7. – C. 7-13.
78. Juhel, C., Armand, M., Pafumi, Y., Rosier, C., Vandermander, J., & Lairon, D. Green tea extract (AR25®) inhibits lipolysis of triglycerides in gastric and duodenal medium in vitro //The Journal of nutritional biochemistry. – 2000. – T. 11. – №. 1. – C. 45-51.
79. Ju-Hwan O., Lee Y. S. Hypolipidemic effects of peptide fractions of casein on serum lipids in rats fed normal or high fat diet //Journal-korean society of food science and nutrition. – 2002. – T. 31. – №. 2. – C. 263-270.
80. Keitel V., Kubitz R., Häussinger D. Endocrine and paracrine role of bile acids //World journal of gastroenterology: WJG. – 2008. – T. 14. – №. 37. – C. 5620-5629.

81. Kellerby S. S., McClements D. J., Decker E. A. Role of proteins in oil-in-water emulsions on the stability of lipid hydroperoxides // *Journal of Agricultural and Food chemistry*. – 2006. – T. 54. – №. 20. – C. 7879-7884.
82. Kim, E.K.; Lee, S.J.; Jeon, B.T.; Moon, S.H.; Kim, B.; Park, T.K.; Han, J.S.; Park, P.J. Purification and characterisation of antioxidative peptides from enzymatic hydrolysates of venison protein // *Food Chemistry*. – 2009. – T. 114. – №. 4. – C. 1365-1370.
83. Kongo-Dia-Moukala J. U., Zhang H., Claver Irakoze P. In vitro binding capacity of bile acids by defatted corn protein hydrolysate // *International journal of molecular sciences*. – 2011. – T. 12. – №. 2. – C. 1066-1080.
84. Lam R. S. H., Nickerson M. T. Food proteins: a review on their emulsifying properties using a structure–function approach // *Food chemistry*. – 2013. – T. 141. – №. 2. – C. 975-984.
85. Lanzini, A., Fitzpatrick, W. J. F., Pigozzi, M. G., & Northfield, T. C. Bile acid binding to dietary casein: a study in vitro and in vivo // *Clinical Science*. – 1987. – T. 73. – №. 4. – C. 343-350.
86. Lentle R. G., Janssen P. W. M. Colloidal dynamics and lipid digestive efficiency // *The Physical Processes of Digestion*. – Springer, New York, NY, 2011. – C. 63-90.
87. 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. – T. 58. – №. 13. – C. 7962-7969.
88. Li, X., Murray, B. S., Yang, Y., & Sarkar, A. Egg white protein microgels as aqueous Pickering foam stabilizers: Bubble stability and

interfacial properties //Food Hydrocolloids. – 2020. – T. 98. – C. 105292-99.

89. Liaset B., Espe M. Nutritional composition of soluble and insoluble fractions obtained by enzymatic hydrolysis of fish-raw materials //Process Biochemistry. – 2008. – T. 43. – №. 1. – C. 42-48.

90. Liaset, B., Madsen, L., Hao, Q., Ciales, G., Mellgren, G., Marschall, H. U., ... & Kristiansen, K. Fish protein hydrolysate elevates plasma bile acids and reduces visceral adipose tissue mass in rats //Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids. – 2009. – T. 1791. – №. 4. – C. 254-262.

91. Liu C. L., Lim Y. P., Hu M. L. Fucoxanthin attenuates rifampin-induced cytochrome P450 3A4 (CYP3A4) and multiple drug resistance 1 (MDR1) gene expression through pregnane X receptor (PXR)-mediated pathways in human hepatoma HepG2 and colon adenocarcinoma LS174T cells //Marine drugs. – 2012. – T. 10. – №. 1. – C. 242-257.

92. Liu Y. Y., Brent G. A. Thyroid hormone crosstalk with nuclear receptor signaling in metabolic regulation //Trends in Endocrinology & Metabolism. – 2010. – T. 21. – №. 3. – C. 166-173.

93. Liu, Y., Huang, L., Li, D., Wang, Y., Chen, Z., Zou, C., ...& Liu, G. M. Re-assembled oleic acid-protein complexes as nano-vehicles for astaxanthin: Multispectral analysis and molecular docking //Food Hydrocolloids. – 2020. – T. 103. – C. 105689-97.

94. Logsdon C. D., Ji B. The role of protein synthesis and digestive enzymes in acinar cell injury //Nature reviews Gastroenterology & hepatology. – 2013. – T. 10. – №. 6. – C. 362-371.

95. Lorbek G., Lewinska M., Rozman D. Cytochrome P450s in the synthesis of cholesterol and bile acids—from mouse models to human diseases //The FEBS journal. — 2012. — T. 279. — №. 9. — C. 1516-1533.
96. Lotte K., Plessow R., Brockhinke A. Static and time-resolved fluorescence investigations of tryptophan analogues—a solvent study //Photochemical & Photobiological Sciences. — 2004. — T. 3. — №. 4. — C. 348-359.
97. Lowe J. S., Anderson P. G. Chapter 13-Musculoskeletal System //Stevens & Lowe's Human Histology (Fourth Edition). Philadelphia: Mosby. — 2015. — P. 204-210
98. Ma Y., Xiong Y. L. Antioxidant and bile acid binding activity of buckwheat protein in vitro digests //Journal of agricultural and food chemistry. — 2009. — T. 57. — №. 10. — C. 4372-4380.
99. Macierzanka, A., Sancho, A. I., Mills, E. C., Rigby, N. M., & Mackie, A. R. Emulsification alters simulated gastrointestinal proteolysis of β -casein and β -lactoglobulin //Soft Matter. — 2009. — T. 5. — №. 3. — C. 538-550.
100. Madenci D., Egelhaaf S. U. Self-assembly in aqueous bile salt solutions //Current Opinion in Colloid & Interface Science. — 2010. — T. 15. — №. 1-2. — C. 109-115.
101. Majumder K., Wu J. Angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides from simulated in vitro gastrointestinal digestion of cooked eggs //Journal of agricultural and food chemistry. — 2009. — T. 57. — №. 2. — C. 471-477.
102. Maldonado-Valderrama, J., Gunning, A. P., Wilde, P. J., & Morris, V. J. In vitro gastric digestion of interfacial protein structures: visualisation by AFM //Soft Matter. — 2010. — T. 6. — №. 19. — C. 4908-4915.

103. Maldonado-Valderrama, J., Muros-Cobos, J. L., Holgado-Terriza, J. A., & Cabrerizo-Vílchez, M. A. Bile salts at the air–water interface: adsorption and desorption //Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. – 2014. – T. 120. – C. 176-183.
104. Maldonado-Valderrama, J., Woodward, N. C., Gunning, A. P., Ridout, M. J., Husband, F. A., Mackie, A. R., ... & Wilde, P. J. Interfacial characterization of β -lactoglobulin networks: Displacement by bile salts //Langmuir. – 2008. – T. 24. – №. 13. – C. 6759-6767.
105. Mandal D., Shirazi A. N., Parang K. Self-assembly of peptides to nanostructures //Organic & biomolecular chemistry. – 2014. – T. 12. – №. 22. – C. 3544-3561.
106. Mandalari, G., Adel-Patient, K., Barkholt, V., Baro, C., Bennett, L., Bublin, M., ...& Vassilopoulou, E. In vitro digestibility of β -casein and β -lactoglobulin under simulated human gastric and duodenal conditions: A multi-laboratory evaluation //Regulatory Toxicology and Pharmacology. – 2009. – T. 55. – №. 3. – C. 372-381.
107. Marambe P., Shand P. J., Wanasundara J. P. D. An in-vitro investigation of selected biological activities of hydrolysed flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) proteins //Journal of the American Oil Chemists' Society. – 2008. – T. 85. – №. 12. – C. 1155-1164.
108. Marin, J., Macias, R., Briz, O., Banales, J., & Monte, M. Bile acids in physiology, pathology and pharmacology //Current drug metabolism. – 2016. – T. 17. – №. 1. – C. 4-29.
109. McClements D. J., Decker E. A., Park Y. Controlling lipid bioavailability through physicochemical and structural approaches //Critical reviews in food science and nutrition. – 2008. – T. 49. – №. 1. – C. 48-67.

110. McEwan J. A., Sharp T. M. Technical, economic and consumer barriers to the consumption of reduced fat bakery products //Nutrition & Food Science. – 2000. – T. 30. – №. 1. – C. 16-18.
111. Monte, M. J., Marin, J. J., Antelo, A., & Vazquez-Tato, J. Bile acids: chemistry, physiology, and pathophysiology //World journal of gastroenterology: WJG. – 2009. – T. 15. – №. 7. – C. 804-811.
112. Muttakin S., Moxon T. E., Gouseti O. In vivo, in vitro, and in silico studies of the GI tract //Interdisciplinary Approaches to Food Digestion. – Springer, Cham, 2019. – C. 29-67.
113. Nelson D. L., Lehninger A. L., Cox M. M. Lehninger principles of biochemistry. – Macmillan, 2008. – T. 4. – C. 1-17.
114. Nik A. M., Wright A. J., Corredig M. Impact of interfacial composition on emulsion digestion and rate of lipid hydrolysis using different in vitro digestion models //Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. – 2011. – T. 83. – №. 2. – C. 321-330.
115. Nik A. M., Wright A. J., Corredig M. Impact of interfacial composition on emulsion digestion and rate of lipid hydrolysis using different in vitro digestion models //Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. – 2011. – T. 83. – №. 2. – C. 321-330.
116. Norton, J. E., Espinosa, Y. G., Watson, R. L., Spyropoulos, F., & Norton, I. T. Functional food microstructures for macronutrient release and delivery //Food & function. – 2015. – T. 6. – №. 3. – C. 663-678.
117. Nylander, T., Arnebrant, T., Cárdenas, M., Bos, M., & Wilde, P. Protein/emulsifier interactions //Food emulsifiers and their applications. – Springer, Cham, 2019. – C. 101-192.

118. Olsen J. V., Ong S. E., Mann M. Trypsin cleaves exclusively C-terminal to arginine and lysine residues //Molecular & Cellular Proteomics. – 2004. – T. 3. – №. 6. – C. 608-614.
119. Opazo-Navarrete, M., Altenburg, M. D., Boom, R. M., & Janssen, A. E. The effect of gel microstructure on simulated gastric digestion of protein gels //Food biophysics. – 2018. – T. 13. – №. 2. – C. 124-138.
120. Pandol S. J. Normal pancreatic function //Pancreapedia: The Exocrine Pancreas Knowledge Base. – 2015. –P. 1-13.
121. Pandol S. J. The exocrine pancreas //Colloquium series on integrated systems physiology: from molecule to function. – Morgan & Claypool Life Sciences, 2011. – T. 3. – №. 1. – C. 1-64.
122. Parker, R., Rigby, N. M., Ridout, M. J., Gunning, A. P., & Wilde, P. J. The adsorption–desorption behaviour and structure function relationships of bile salts //Soft matter. – 2014. – T. 10. – №. 34. – C. 6457-6466.
123. Pasquier, B.; Armand, M.; Castelain, C.; Guillon, F.; Borel, P.; Lafont, H.; Lairon, D. Emulsification and lipolysis of triacylglycerols are altered by viscous soluble dietary fibres in acidic gastric medium in vitro //Biochemical Journal. – 1996. – T. 314. – №. 1. – C. 269-275.
124. Polgár L. The catalytic triad of serine peptidases //Cellular and molecular life sciences CMLS. – 2005. – T. 62. – №. 19-20. – C. 2161-2172.
125. Pols, T. W., Noriega, L. G., Nomura, M., Auwerx, J., & Schoonjans, K. The bile acid membrane receptor TGR5 as an emerging target in metabolism and inflammation //Journal of hepatology. – 2011. – T. 54. – №. 6. – C. 1263-1272.

126. Poša M., Sebenji A. Determination of number-average aggregation numbers of bile salts micelles with a special emphasis on their oxo derivatives—The effect of the steroid skeleton //Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects. — 2014. — T. 1840. — №. 3. — C. 1072-1082.
127. Poulsen, N. A., Eskildsen, C. E., Akkerman, M., Johansen, L. B., Hansen, M. S., Hansen, P. W., ...& Larsen, L. B. Predicting hydrolysis of whey protein by mid-infrared spectroscopy //International Dairy Journal. — 2016. — T. 61. — C. 44-50.
128. Poupon R. Ursodeoxycholic acid and bile-acid mimetics as therapeutic agents for cholestatic liver diseases: an overview of their mechanisms of action //Clinics and research in hepatology and gastroenterology. — 2012. — T. 36. — C. S3-S12.].
129. Prawitt J., Caron S., Staels B. Bile acid metabolism and the pathogenesis of type 2 diabetes //Current diabetes reports. — 2011. — T. 11. — №. 3. — C. 160-168.
130. Qi M., Hettiarachchy N. S., Kalapathy U. Solubility and emulsifying properties of soy protein isolates modified by pancreatin //Journal of Food Science. — 1997. — T. 62. — №. 6. — C. 1110-1115.
131. Quesada-Pérez, M., Maroto-Centeno, J. A., Forcada, J., & Hidalgo-Alvarez, R. Gel swelling theories: the classical formalism and recent approaches //Soft Matter. — 2011. — T. 7. — №. 22. — C. 10536-10547.
132. Reis, P.; Holmberg, K.; Miller, R.; Krägel, J.; Grigoriev, D. O.; Leser, M. E.; Watzke, H. J. Competition between lipases and monoglycerides at interfaces //Langmuir. — 2008. — T. 24. — №. 14. — C. 7400-7407.
133. Ridout M. J., Mackie A. R., Wilde P. J. Rheology of mixed β -casein/ β -lactoglobulin films at the air-water interface //Journal of

Agricultural and Food Chemistry. – 2004. – T. 52. – №. 12. – C. 3930-3937.

134. Ryan, J. T., Ross, R. P., Bolton, D., Fitzgerald, G. F., & Stanton, C. Bioactive peptides from muscle sources: meat and fish //Nutrients. – 2011. – T. 3. – №. 9. – C. 765-791.

135. Sarkar A., Horne D. S., Singh H. Interactions of milk protein-stabilized oil-in-water emulsions with bile salts in a simulated upper intestinal model //Food Hydrocolloids. – 2010. – T. 24. – №. 2-3. – C. 142-151.

136. Sarkar A., Ye A., Singh H. On the role of bile salts in the digestion of emulsified lipids //Food Hydrocolloids. – 2016. – T. 60. – C. 77-84.

137. Sarkar, A., Goh, K. K., Singh, R. P., & Singh, H. Behaviour of an oil-in-water emulsion stabilized by β -lactoglobulin in an in vitro gastric model //Food Hydrocolloids. – 2009. – T. 23. – №. 6. – C. 1563-1569.

138. Sarkar, A., Juan, J. M., Kolodziejczyk, E., Acquistapace, S., Donato-Capel, L., & Wooster, T. J. Impact of protein gel porosity on the digestion of lipid emulsions //Journal of agricultural and food chemistry. – 2015. – T. 63. – №. 40. – C. 8829-8837.

139. Schaap F. G., Trauner M., Jansen P. L. M. Bile acid receptors as targets for drug development //Nature reviews Gastroenterology & hepatology. – 2014. – T. 11. – №. 1. – C. 55-61.

140. Schubert M. L. Gastric physiology //Gastrointestinal Anatomy and Physiology. – 2014. – T. 56. – C. 58-77.

141. Schubert M. L. Gastric secretion //Current opinion in gastroenterology. – 2011. – T. 27. – №. 6. – C. 536-542.

142. Shin, J. M., Vagin, O., Munson, K., Kidd, M., Modlin, I. M., & Sachs, G. Molecular mechanisms in therapy of acid-related diseases

//Cellular and molecular life sciences. – 2008. – T. 65. – №. 2. – C. 264-281.

143. Simard, J. R., Zunszain, P. A., Hamilton, J. A., & Curry, S. Location of high and low affinity fatty acid binding sites on human serum albumin revealed by NMR drug-competition analysis //Journal of molecular biology. – 2006. – T. 361. – №. 2. – C. 336-351.

144. Singh H., Sarkar A. Behaviour of protein-stabilised emulsions under various physiological conditions //Advances in colloid and interface science. – 2011. – T. 165. – №. 1. – C. 47-57.

145. Singh H., Ye A., Ferrua M. J. Aspects of food structures in the digestive tract //Current opinion in food science. – 2015. – T. 3. – C. 85-93.

146. Sklan D., Budowski P., Hurwitz S. Absorption of oleic and taurocholic acids from the intestine of the chick. Interactions and interference by proteins //Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism. – 1979. – T. 573. – №. 1. – C. 31-39.

147. Small, D. M., Cabral, D. J., Cistola, D. P., Parks, J. S., & Hamilton, J. A. The ionization behavior of fatty acids and bile acids in micelles and membranes //Hepatology. – 1984. – T. 4. – №. S2. – C. 77S-79S.

148. Smith M. E., Morton D. G. The Digestive System: Systems of the Body Series. – Elsevier Health Sciences, 2011. – C. 39-65.

149. Smith, F., Pan, X., Bellido, V., Toole, G. A., Gates, F. K., Wickham, M. S., ...& Mills, E. C. Digestibility of gluten proteins is reduced by baking and enhanced by starch digestion //Molecular nutrition & food research. – 2015. – T. 59. – №. 10. – C. 2034-2043.

150. Song, K. H., Li, T., Owsley, E., & Chiang, J. Y. A putative role of micro RNA in regulation of cholesterol 7 α -hydroxylase expression

in human hepatocytes //Journal of lipid research. – 2010. – T. 51. – №. 8. – C. 2223-2233.

151. Šošić-Jurjević, B., Lütjohann, D., Renko, K., Filipović, B., Radulović, N., Ajdžanović, V., ...& Köhrle, J. The isoflavones genistein and daidzein increase hepatic concentration of thyroid hormones and affect cholesterol metabolism in middle-aged male rats //The Journal of steroid biochemistry and molecular biology. – 2019. – T. 190. – C. 1-10.

152. 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 //Journal of agricultural and food chemistry. – 2013. – T. 61. – №. 26. – C. 6505-6515.

153. Spolaore, B., Pinato, O., Canton, M., Zambonin, M., Polverino de Laureto, P., & Fontana, A. α -Lactalbumin forms with oleic acid a high molecular weight complex displaying cytotoxic activity //Biochemistry. – 2010. – T. 49. – №. 39. – C. 8658-8667.

154. Subramaniam, P., Clayton, P. T., Portmann, B. C., Mieli-Vergani, G., & Hadžić, N. Variable clinical spectrum of the most common inborn error of bile acid metabolism— 3β -hydroxy- Δ^5 -C27-steroid dehydrogenase deficiency //Journal of pediatric gastroenterology and nutrition. – 2010. – T. 50. – №. 1. – C. 61-66.

155. Tadros T. F. Emulsion formation, stability, and rheology //Emulsion formation and stability. – 2013. – T. 1. – C. 1-75.

156. Tiengo A., Motta E. M. P., Netto F. M. Chemical composition and bile acid binding activity of products obtained from amaranth (*Amaranthus cruentus*) seeds //Plant foods for human nutrition. – 2011. – T. 66. – №. 4. – C. 370-375.

157. Trauner, M., Claudel, T., Fickert, P., Moustafa, T., & Wagner, M. Bile acids as regulators of hepatic lipid and glucose metabolism //Digestive diseases. – 2010. – T. 28. – №. 1. – C. 220-224.
158. Tsumura K. Improvement of the physicochemical properties of soybean proteins by enzymatic hydrolysis //Food Science and Technology Research. – 2009. – T. 15. – №. 4. – C. 381-388.
159. Ushikubo F. Y., Cunha R. L. Stability mechanisms of liquid water-in-oil emulsions //Food Hydrocolloids. – 2014. – T. 34. – C. 145-153.
160. van der VUSSE G. J. Albumin as fatty acid transporter //Drug metabolism and pharmacokinetics. – 2009. – T. 24. – №. 4. – C. 300-307.
161. Veldhorst, M., Smeets, A. J. P. G., Soenen, S., Hochstenbach-Waelen, A., Hursel, R., Diepvens, K., ...& Westerterp-Plantenga, M. Protein-induced satiety: effects and mechanisms of different proteins //Physiology & behavior. – 2008. – T. 94. – №. 2. – C. 300-307.
162. 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. – T. 28. – №. 21. – C. 8127-8139.
163. Vivian J. T., Callis P. R. Mechanisms of tryptophan fluorescence shifts in proteins //Biophysical journal. – 2001. – T. 80. – №. 5. – C. 2093-2109.
164. Vorobev M. M. Kinetics of peptide bond demasking in enzymatic hydrolysis of casein substrates //Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic. – 2009. – T. 58. – №. 1-4. – C. 146-152.

165. Vorobev M. M. Proteolysis of β -lactoglobulin by Trypsin: Simulation by Two-Step Model and Experimental Verification by Intrinsic Tryptophan Fluorescence //Symmetry. – 2019. – T. 11. – №. 2. – C. 153-167
166. Vorobev M. M. Quantification of two-step proteolysis model with consecutive demasking and hydrolysis of peptide bonds using casein hydrolysis by chymotrypsin //Biochemical engineering journal. – 2013. – T. 74. – C. 60-68.
167. Vorobev, M. M., Strauss, K., Vogel, V., & Mäntele, W. Demasking of peptide bonds during tryptic hydrolysis of β -casein in the presence of ethanol //Food Biophysics. – 2015. – T. 10. – №. 3. – C. 309-315.
168. Vorobev, M. M., Vogel, V., Güler, G., & Mäntele, W. Monitoring of demasking of peptide bonds during proteolysis by analysis of the apparent spectral shift of intrinsic protein fluorescence //Food Biophysics. – 2011. – T. 6. – №. 4. – C. 519-526.
169. Vorob'ev M. M., Vogel V., Mäntele W. Demasking rate constants for tryptic hydrolysis of β -casein //International Dairy Journal. – 2013. – T. 30. – №. 1. – C. 33-38.
170. Vorob'ev, M. M., Dalgalarrrondo, M., Chobert, J. M., & Haertlé, T. Kinetics of β -casein hydrolysis by wild-type and engineered trypsin //Biopolymers: Original Research on Biomolecules. – 2000. – T. 54. – №. 5. – C. 355-364.
171. Wahlström, A., Sayin, S. I., Marschall, H. U., & Bäckhed, F. Intestinal crosstalk between bile acids and microbiota and its impact on host metabolism //Cell metabolism. – 2016. – T. 24. – №. 1. – C. 41-50.

172. Warren, D. B., Chalmers, D. K., Hutchison, K., Dang, W., & Pouton, C. W. Molecular dynamics simulations of spontaneous bile salt aggregation //Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. – 2006. – T. 280. – №. 1-3. – C. 182-193.
173. Wickham, M., Garrod, M., Leney, J., Wilson, P. D., & Fillery-Travis, A. Modification of a phospholipid stabilized emulsion interface by bile salt: effect on pancreatic lipase activity //Journal of Lipid Research. – 1998. – T. 39. – №. 3. – C. 623-632.
174. Wilde P. J., Chu B. S. Interfacial & colloidal aspects of lipid digestion //Advances in Colloid and Interface Science. – 2011. – T. 165. – №. 1. – C. 14-22.
175. Wilding J., Frayling T. Are the causes of obesity primarily environmental? //BMJ: British Medical Journal. – 2012. – T. 345. – №. 7875. – C. 24-25.
176. Wooster, T. J., Day, L., Xu, M., Golding, M., Oiseth, S., Keogh, J., & Clifton, P Impact of different biopolymer networks on the digestion of gastric structured emulsions //Food Hydrocolloids. – 2014. – T. 36. – C. 102-114.
177. Wubshet, S. G., Måge, I., Böcker, U., Lindberg, D., Knutsen, S. H., Rieder, A., ... & Afseth, N. K. FTIR as a rapid tool for monitoring molecular weight distribution during enzymatic protein hydrolysis of food processing by-products //Analytical Methods. – 2017. – T. 9. – №. 29. – C. 4247-4254.
178. Yang, Y., Zhang, N., Sun, Y., Li, J., Zhao, R., Zheng, Z., ...& Sun, Y. Multispectroscopic and molecular modeling studies on the interaction of bile acids with bovine serum albumin (BSA) //Journal of Molecular Structure. – 2019. – T. 1180. – C. 89-99.
179. Yasujima, T., Saito, K., Moore, R., & Negishi, M. Phenobarbital and insulin reciprocate activation of the nuclear

receptor constitutive androstane receptor through the insulin receptor //Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. – 2016. – T. 357. – №. 2. – C. 367-374.

180. Yoshie-Stark Y., Wada Y., Wäsche A. Chemical composition, functional properties, and bioactivities of rapeseed protein isolates //Food Chemistry. – 2008. – T. 107. – №. 1. – C. 32-39.

181. Zhang S., Vardhanabhuti B. Effect of initial protein concentration and pH on in vitro gastric digestion of heated whey proteins //Food Chemistry. – 2014. – T. 145. – C. 473-480.