ЗНАЧЕНИЕ ЖЕЛУДОЧНОГО ПРОТЕОЛИЗА ДЛЯ ДАЛЬНЕЙШЕГО ГИДРОЛИЗА ПИЩЕВЫХ БЕЛКОВ В ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОМ ТРАКТЕ

Л.М.Саидбаева, Э.Х.Халилов

Мақолада хазм тизимида оқсилларнинг парчаланишида ошқозондаги протеолизнинг аҳамияти кўрсатилган.

Importance gastric proteolis is shown in this article for further hydrolysis food sguirrel in gastrointestinal tract.

В литературе имеется большое количество работ, посвященных изучению пищеварения в желудке, однако, мнения авторов о размерах, характере и глубине гидролиза белка в желудке расходятся. Важным фактором в изучении этого вопроса является и свойство самого пепсина – способность гидролизовать только определенные пептидные связи, в результате чего образуются осколки белковой молекулы, устойчивые к действию пепсина [2].

Необходимо отметить также, что происходящий в желудке протеолиз несовершенно моделируется в пытах in vitro. Усложняется это и тем, что в желудке на белок действует комплекс протеаз, активных при различных pH. Благодаря предложенному нами методу определения протеолитической активности желудочного сока при различных pH стало возможным определять не только гидролиз белков пепсином при различных pH, но и выявлять атакуемость различных пищевых белков ферментами в широком диапазоне pH (а не при одном или двух фиксированных значениях pH).

Можно предположить несколько возможных причин повышения ферментной атакуемости белков в различных условиях, но экспериментальное исследование каждой из них в отдельности, как предполагает Дж. Уэстли [3], пока неосуществимо. Одна из возможностей состоит в том, что молекула фермента претерпевает какое–то конформационное изменение. Изменения конформации белковой молекулы, весьма часто незначительные, могут существенно отразиться на скорости её протеолиза.

В последние годы понятие конформационные изменения в белковой химии трактуется значительно шире. Оно включает как модификационные изменения, например, при индуцированном взаимодействии функциональных групп белков с метаболитами, так и глубокие денатурационные сдвиги, сопровождающиеся коренной перестройкой пространственной структуры полипептидных цепей в макромолекуле белка. На основании имеющихся в настоящее время данных литературы создается впечатление, что конформационная изменчивость биополимеров, и белковых молекул в частности, лежит в основе реализующих механизмов регуляции обменных процессов в живой системе.

Конформационные изменения могут возникать вследствие ряда причин. По гипотезе «принудительного контакта» Кошланда эти изменения могут возникать в молекуле фермента при образовании комплекса с субстратом при необходимом расположении каталитических групп. Другая возможность конформационных изменений — в возникновении напряжения связей в молекуле субстрата. Эта возможность легко осуществляется, если гибкостью обладает и субстрат, и фермент. Взаимодействие двух конформационно подвижных молекул в растворе должно приводить к обратимым конформационным изменениям в этих молекулах [1,3]. Поэтому в настоящее время

главным вопросом является не доказательство таких изменений, а выяснение их природы, скоростей, с которыми они происходят и выявление роли, которую они играют в ферментативном катализе.

Оценка количественной меры конформационной гибкости молекулы затруднена. Как правило, для этой цели пользуются комплексом физико-химических показателей. Простой и непосредственный метод выявления субстрат-зависимых конформационных изменений заключается в обнаружении увеличения скорости реакции белка с добавленным соединением, таким как сульфгидрильный реагент или протеолитический фермент, что мы наблюдали при определенных условиях протеолиза белков в присутствии пепсина или трипсина.

В наших опытах для изучения кинетики протеолиза был использован один из доступных физико-химических методов – фотоколориметрия, с помощью которой можно судить о скорости пептического и триптического гидролиза белков. Предположив, что с увеличенем скорости протеолиза и количества разрываемых пептидных связей изменяется и количество освободившихся аминокислот в гидролизате, был изучен аминокислотный состав пептических и триптических гидролизатов белков при различных pH среды; изучен аминокислотный состав гидролизатов после действия пепсина на белки при относительно высоких pH с последующим гидролизом белков пепсином же при оптимальном pH и, наконец, изучен аминокислотный состав гидролизатов при последовательном действии на белки пепсина и трипсина. В качестве белковых субстратов использованы 20 г/л растворы гемоглобина, казеина и белков плазмы крови.

Результаты 1 серии опытов показали, что количество аминокислот в гидролизатах зависит от pH среды. При pH 1,8 через 60 минут инкубации гемоглобина выявлены все аминокислоты, в то время как при pH 3 через 120 мин. инкубации отсутствовали треонин и тирозин, при pH 4 и 5 кроме этих аминокислот не определялся ряд незаменимых аминокислот: метионин, валин, триптофан, фенилаланин, лейцин и изолейцин. В такой же зависимости находились суммарное содержание аминокислот и сумма незаменимых аминокислот.

При изменении pH на 1,8 после предварительного действия пепсина при различных pH (3-5) во второй серии опытов наблюдалось увеличение количества аминокислот. Так, после инкубации при pH 3 кроме ранее выявленных аминокислот был определен треонин (5,3±1,3 г/л). Возросло количество аминокислот и после предварительной инкубации гемоглобина с пепсином при pH 4: были определены серин (6,7 ±0,7г/л), треонин (5,1 ±0,9 г/л), метионин (7,3±1,4г/л), триптофан (3,7±0,6г/л), фенилаланин (12,7 ±2,4 г/л), лейцин с изолейцином (21,1±3,1 г/л).

В этих же условиях после инкубации гемоглобина с пепсином при pH 5 через 30 мин. после изменения pH на 1,8 определены серин (9,8±1/5 г/л), глицин (5,4±1,2 г/л), глютаминовая кислота (3,5±0,8 г/л),триптофан (4,7±1,0 г/л), фенилаланин (10,1± 1,6 г/л), лейцин с изолейцином (22,4±3/2).

Во всех трех вариантах инкубации гемоглобина с пепсином при pH 1,8 после предварительного действия этого фермента на белок при различных pH наряду с увеличением скорости гидролиза белка, произошло увеличение количества освободившихся аминокислот и их концентрации, причем это увеличение для некоторых аминокислот было столь существенным, что превышало концентрацию их при гидролизе гемоглобина пепсином при оптимальном pH. Соответственно происходило увеличение суммарного содержания аминокислот и суммы незаменимых аминокислот.

Аналогичные результаты получены при действии пепсина на белки плазмы крови и казеина.

При гидролизе белков плазмы крови пепсином при оптимальном pH через 30 мин инкубации были выявлены гистидин (11,9± 2,4 г/л), аргинин (3,1 ±0,8 г/л), аспарагиновая кислота (3,1± 0,9 г/л), аланин (0,8 ±0,2 г/л), тирозин(2,4±0,5 г/л), метионин (3,2±0,7 г/л), фенилаланин, лейцин и изолейцин (4,2±0,8; 5,2 ±1,2 соответственно).

Гидролиз белков плазмы крови пепсином при pH 3 характеризовался почти таким же соотношением аминокислот в различных периодах инкубации, как и при pH 1,8, однако, отмечалось сравнительно меньшее содержание общего количества аминокислот, в том числе суммы незаменимых аминокислот по сравнению с их количеством при pH 1,8(12,6 ±3,1 и 29,6 ±5,7 г/л соответственно).

После 30 мин. инкубации белков плазмы крови при pH 4 определены гистидин (9,9±1,5 г/л), аргинин (1,9± 0.4 г/л), аспарагиновая кислота (1,0 ±0,3 г/л) и фенилаланин (2,5 ±0,5 г/л). Через 90 мин кроме этих аминокислот было определено небольшое количество триптофана и лейцина с изолейцином.

Для белков плазмы крови также было характерно увеличение суммарного содержания аминокислот и суммы незаменимых аминокислот в зависимости не только от pH среды, но и времени инкубации, как это наблюдалось при гидролизе гемоглобина в аналогичных условиях.

После 30 мин. инкубации белков плазмы с пепсином при pH 3-5 и последующего изменения его на 1,8 и для этого субстрата было характерно увеличение количества освободившихся аминокислот. Уже через 30 мин. после предварительной инкубации при pH 3 были определены все аминокислоты. Возросла сумма незаменимых аминокислот (21,2± 4,7) и их общая концентрация (4,4 ± 1,3 г/л).

Что касается казеина, то предварительное действие пепсина на этот субстрат при различных pH с последующим изменением его на 1,8 также вызвало увеличение количества аминокислот при всех исследованных pH.

Общим для всех субстратов было наиболее быстрое высвобождение после гидролиза белков пепсином гистидина, аргинина, аспарагиновой кислоты.

Из полученных данных этой серии опытов можно заключить, что после предварительного действия на белки пепсина даже при высоком pH (3-5) происходит увеличение скорости гидролиза при pH 1,8, что подчеркивает важную роль внутрижелудочного протеолитического конвейера в обеспечении эффективности гидролиза белков в желудке.

Таким образом, в результате действия пепсином желудочного сока на пищевой белок при различных pH происходят конформационные изменения белковой молекулы, благодаря чему повышается их триптическая атакуемость. Это можно наблюдать на примере увеличения количества выявленных аминокислот при pH 1,8 после предварительного действия на белки пепсина при различных pH.

Анализ аминокислотного состава пептических гидролизатов различных белков показал изменение количественного соотношения аминокислот в ходе гидролиза. В зависимости от степени расщепления белков в гидролизате выявлены глютаминовая кислота и основные аминокислоты (аргинин, лизин, гистидин), то есть предварительное действие пепсинов при различных pH увеличивает атакуемость белков пепсином при оптимальном pH, обеспечивая более глубокий их гидролиз.

Рост количества аминокислот, образующихся в результате гидролиза белков при последующем действии трипсина также свидетельствует о значении внутрижелудочного гидролиза белков в повышении триптической атакуемости их, в связи с чем наблюдалось увеличение удельного содержания аминокислот.

Полученные результаты позволяют заключить, что в желудке осуществляется последовательная деградация пищевых компонентов, в том числе начальный ограниченный протеолиз белков в кислой и слабокислой среде. Денатурация и начальные стадии переваривания белков в желудке осуществляется пепсинами в широком диапозоне pH. Благодаря этому в самом желудке повышается атакуемость пишевых белков для последующего пептического протеолиза при оптимальном pH. Следовательно, начальный гидролиз белка в желудке создает предпосылки для последующего разворачивания пищеварительного процесса в тонкой кишке.

Литература:

1. Антонов В.К. Химия протеолиза.- М.: Наука, 1983.- 367 с.
2. Мосолов В.В. Протеолитические ферменты.- М.: Наука, 1971.- 412 с.
3. Уэстли Дж. Ферментные методы катализа.- М.: Наука, 1972.- 213 с.

Андижон давлат университети,
2009 йил 25 июнда қабул қилинган