Доклады Академии наук СССР
1955. Том 104, № 1

БИОХИМИЯ

Е. Л. РОЗЕНФЕЛЬД, А. И. ШУБИНА и А. А. КУЗНЕЦОВ

РАСЩЕПЛЕНИЕ ДЕКСТРАНА ЭКСТРАКТАМИ СЕЛЕЗЕНКИ

(Представлено академиком В. А. Энгельгардтом 8 VI 1955)

В связи со все увеличивающимся значением декстрана как заменителя плазмы крови представляет большой интерес вопрос о судьбе введенного в организм декстрана. Однако до настоящего времени сведения по этому вопросу чрезвычайно скудны. Известно, что через 2—3 суток после внутривенного введения человеку и животным деполимеризованного («клинического») раствора декстрана наблюдается его полное исчезновение из кровяного русла ([1]). Однако в моче удается обнаружить лишь 30—40% и не более 50% всего введенного декстрана ([2]). Судьба же остального декстрана не выяснена.

В различных органах животных он не накапливается, хотя некоторое количество его находят в лимфатических узлах, костном мозгу, селезенке в течение длительного периода после его введения ([3]). Энзиматический механизм, при помощи которого процесс распада декстрана мог бы осуществляться в животном организме, до сих пор не выяснен.

Энзимы, расщепляющие декстран, известны лишь у различного вида бактерий ([4]), между тем экстракты и кашицы из различных тканей животного организма не расщепляют декстран ([5]). Изолированные энзимы, расщепляющие полисахариды типа крахмала и гликогена, а именно, α- и β-амилазы и фосфоролазы различного происхождения ([6]), и изомераза амилозы ([7]) не оказывают на декстран никакого действия.

Таблица 1

Расщепляемость декстрана экстрактами из различных тканей кролика. (Время инкубации 24 часа. Инкубационная смесь: опыт: 18 мг декстрана + 1 мл воды + 1,5 мл экстракта; контроль: 1 мл воды + 1,5 мл экстракта)

	Редуцир. вещества *	
	в мг/мл	в %
Экстракт		
Печень	0	—
Мышцы	0	—
Кровь цельная	0	—
Плазма	0	—
Почки	0	—
Селезенка	0,180	2,5
Кашица		
Печень	0	—
Селезенка	0,170	2,4

* Во всех опытах величина редукции определялась по разнице между редукцией опытных и контрольных проб. Редукция контрольных проб нарастала только в начале инкубации, а потом оставалась неизменной. При работе с автолизированными экстрактами редукция контроля совершенно не изменялась.

Повидимому, стойкость декстрана к полиазам, катализирующим распад других полиглюкозидов, связана со своеобразием структуры его молекул *.

* Молекулы декстрана, как известно имеют ветвистую структуру. От длинных цепей, состоящих из глюкопиранозных единиц связанных между собой в 1,6 положениях, ответвляются короткие боковые цепи. Связи ветвлений осуществляются в 1,4 и 1,3 положениях.

В то же время при введении человеку и животным декстрана, меченного при помощи C^{14}, удается обнаружить C^{14} в выдыхаемой углекислоте ([8]). Эти опыты свидетельствуют о том, что декстран подвергается в организме обменным реакциям.

Исследуя вопрос о расщепляемости декстрана, мы также убедились в том, что экстракты и кашицы из различных органов животных (печени, почек, мышц), а также кровь не обладают способностью расщеплять декстран.

Однако способностью расщеплять декстран обладают, как нам удалось выяснить, экстракты и кашицы из селезенки. При инкубации раствора декстрана с экстрактами или кашицами из селезенки всегда наблюдается небольшое, но совершенно отчетливо выраженное нарастание редуцирующих веществ (табл. 1).

Таблица 2

Влияние pH на расщепляемость декстрана экстрактами из бычьей селезенки. (Время инкубации 24 часа. Инкубационная смесь: опыт: декстран 18 мг, буфер 1,0 мл, экстракт 1,5 мл; контроль: без декстрана, буфер 1,0 мл, экстракт 1,5 мл)

	pH	Редуцир. вещества	
		в мг/мл	в %
Ацетатный буфер	3,8	0,270	3,8
	4,8	0,680	9,2
	6,2	0,050	0,7
Фосфатный „	7,0	0,0	0,0
Вероналовый „	7,8	0,0	0,0

Таблица 3

Влияние времени инкубации на расщепляемость декстрана экстрактами из бычьей селезенки (pH 4,8; ацетатн. буфер)

Время инкубации в час	Редуцир. вещества	
	в мг/мл	в %
3	0,028	0,4
6	0,032	0,4
24	0,492	7,0
48	1,244	18,0

В отличие от крови (цельной крови и плазмы), а также экстрактов из печени, почек и мышц кролика, экстракты из кроличьей селезенки после 24-часовой инкубации с декстраном всегда вызывают небольшое накопление редуцирующих веществ — около 3% по отношению к исходному количеству декстрана. Подобный распад декстрана, сопровождающийся незначительным накоплением редуцирующих веществ, наблюдался рядом авторов при исследовании расщепления декстрана бактериями ([9]).

Дальнейшие наши исследования, проведенные с экстрактами из бычьей селезенки, показали, что в оптимальных условиях можно наблюдать значительно большее накопление редуцирующих веществ и, следовательно, более глубокий распад декстрана. Оптимум расщепляющего действия экстракта селезенки: pH 4,8 (в 0,2 *M* ацетатном буфере) и концентрация декстрана 4—7 мг/мм.

При pH 7 и выше (в фосфатном и вероналовом буфере) распад декстрана вовсе не наблюдается (табл. 2).

Величина редукции в первые часы инкубации незначительна (0,4—0,5%). При 48-часовой инкубации в оптимальных условиях опыта накопление редуцирующих веществ равняется обычно 1,2—1,3 мг/мл, что составлет 17—18% по отношению к весу исходного декстрана (табл. 3).

Скорость распада декстрана при этом напоминает скорость распада его при действии бактериальных энзимов. Характерной особенностью его является медленное и незначительное нарастание редукции.

Для того чтобы исключить в наших опытах возможность распада декстрана под влиянием бактерий, мы провели инкубацию декстрана с экстрактом селезенки в стерильных условиях. Для этого инкубационная смесь пропускалась через фильтр Зейтца и производился бактериальный контроль в начале и через 3 суток после начала инкубации. Одновременно производился тот же опыт, но не в стерильных условиях. Оказалось, что накопление редуцирующих веществ происходит совершенно одинаково

как в стерильных условиях (при полном отсутствии роста бактерий на различных средах), так и в нестерильных условиях.

О распаде декстрана мы судили не только по накоплению редуцирующих веществ, но также по его убыли в инкубационной смеси. С этой целью в пробах до и после инкубации декстран осаждался спиртом и после 3-кратного переосаждения высушивался и взвешивался. При 48-часовой инкубации 90 мг декстрана с экстрактом селезенки мы обнаружили убыль его в весе, равную 6,6 мг. В прокипяченном экстракте убыль в весе декстрана нами не была обнаружена. Если декстран подвергать многократному действию селезеночных экстрактов, а затем оставшийся нерасщепленным полисахарид выделить при помощи спирта из инкубационной смеси, то полученный препарат оказывается резистентным к действию экстрактов. Повидимому, не все глюкозидные связи в молекулах декстрана могут расщепляться при помощи имеющегося в селезеночном экстракте энзима. Полученные данные дают основание предполагать, что в молекулах декстрана резистентными к энзиматическому действию экстракта селезенки являются связи ветвлений.

Результаты нашего исследования позволяют нам придти к выводу, что в селезенке животных имеется энзиматический аппарат, вызывающий расщепление декстрана. Вопрос о механизме этого распада будет предметом дальнейших исследований.

Выражаем благодарность М. А. Воробьевой за проведение бактериального контроля в наших опытах.

Лаборатория физиологической химии
Академии наук СССР

Поступило
14 I 1955

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

[1] H. Bowman, P. Betlehem, J. Am. Med. Ass., **153**, 24 (1953). [2] R. Bourillon, M. Stoliaroff, C. R. Soc. Biol., **147**, 241 (1953). [3] B. Person, Nature, **170**, 716 (1952). [4] F. Hehre, Adv. in Enzymology, **11**, 297 (1951); X. Whiteside-Carlson, V. Carlson, Science, **115**, 43 (1952). [5] I. Bull, C. Rickett et al., Lancet, **256**, 134 (1949). [6] M. Swanson, J. Biol. Chem., **172**, 812 (1948). [7] Е. Л. Розенфельд, Е. Г. Плышевская, ДАН, **95**, 333 (1954). [8] N. Scully, H. Stavely, J. Skok, Science, **116**, 3004 (1952). [9] B. Ingelamn, Acta Chem. Scand., **2**, 803 (1948).