

Б. А. КУДРЯШОВ

## О НОВОМ КОМПОНЕНТЕ В ПРОЦЕССЕ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ

*(Представлено академиком И. И. Шмальгаузенем 12 IV 1948)*

В 1946 г. мы проводили эксперименты с изолированной печенью с целью решения вопроса о влиянии витамина К на изолированный орган. В перфузионной жидкости, получаемой после промывки сосудов печени, нами было найдено вещество, которое чрезвычайно стимулировало процесс свертывания крови. Изучение этого вещества убедило нас в том, что мы имеем дело с еще не изученным агентом, принимающим непосредственное участие в физиологическом процессе свертывания крови.

В связи с установлением этого факта нами были проведены эксперименты, направленные к разностороннему изучению нового компонента крови, названного нами тромботропином. В результате проведенной работы было установлено, что тромботропин в значительном количестве содержится в плазме и сыворотке крови животных (крысы), что его биосинтез в организме происходит под контролем витамина К и что его действие, ускоряющее свертывание крови, осуществляется через посредство активации тромбокиназы.

**Методика.** Определение концентрации протромбина в крови крысы и человека, приготовление стандартных растворов  $\text{CaCl}_2$  и тромбопластина, а также вызывание у животных авитаминоза К производилось методами, опубликованными в (1, 2). В экспериментах с изолированной печенью крысы была использована общепринятая методика. Через канюлю, вставленную в *v. porta*, пропускался раствор Рингера с глюкозой, нагретый до  $37^\circ\text{C}$ . Печень находилась во влажной камере при той же температуре. Перфузионная жидкость в количестве 5 мл, полученная непосредственно после предварительной промывки сосудов печени 10—12 мл раствора Рингера, бралась в эксперимент.

**Результаты эксперимента.** При смешивании равных объемов оксалатной плазмы крысы, стандартного препарата тромбопластина и стандартного раствора  $\text{CaCl}_2$  при  $37^\circ$  сгусток образуется точно через 13—14 сек. Та же реакция со свежей оксалатной плазмой крови человека осуществляется в 32 сек.

В тех же условиях при замене тромбопластина на раствор Рингера, пропущенный через печень, крысиная плазма свертывается через 20 и более секунд, а плазма человека — через 35 сек. (опыт 20). Следовательно, перфузионная жидкость, используемая вместо тромбопластина, не дает ускорения свертывания плазмы. Однако после предварительного смешивания стандартного препарата тромбопластина с перфузионной жидкостью в отношении 1:1 и при включении смеси в обычной пропорции в реакцию свертывание крысиной плазмы осуществляется в 8—9 сек., а плазмы человека — в 11—12 сек. Это значительное ускорение свертывания плазмы не могло быть объяснено

присутствием тромбина в тромбопластине, смешанном с перфузионной жидкостью, так как хранение смеси в термостате при 37° в течение 20 и более минут ведет к полной инаktivации следов тромбина, ускоряющее же действие на свертываемость плазмы сохраняется неизменным.

Установление наличия в растворе Рингера, прошедшем через сосуды печени, активатора тромбопластина привело нас к предположению, что это вещество должно присутствовать и в плазме крови. Это предположение полностью оправдалось. Оксалатная плазма крысы была разбавлена физиологическим раствором (NaCl 0,85%) в отношении 1:3. Разбавленная плазма смешивалась со стандартным препаратом тромбопластина в том же отношении, т. е. на 1 часть разбавленной плазмы бралось 3 части тромбопластина. Смесь выдерживалась в термостате при 37° в течение 10—15 мин., до полного распада следов образовавшегося тромбина, и после проверки, подтверждающей, что тромбин отсутствует, препарат использовался в эксперименте.

Оказалось, что активность такого тромбопластина повышается в несколько раз по сравнению со стандартным препаратом. Так, крысиная оксалатная плазма в присутствии оптимального количества Ca и тромбопластина, смешанного с разбавленной плазмой, превращалась в сгусток, как правило, в 8—9 сек. вместо обычных 13—14 сек. В тех же условиях плазма человека свертывалась в среднем в 12 сек., а в некоторых случаях в 9—10 сек. вместо обычных 32 сек.

Образцы оксалатной плазмы человека, хранившиеся в течение продолжительного срока и в связи с этим обладавшие ненормально долгим временем свертывания, под влиянием тромбопластина, смешанного с разбавленной крысиной плазмой или сывороткой, превращались в сгусток очень быстро. Например:

Таблица 1

Концентрация тромботропина в %	Скорость свертывания оксалатной плазмы человека в сек.
100	12
50	13
25	15
10	19
0	28—32

Опыт 48. Долго хранившаяся оксалатная плазма человека при смешивании с равными объемами стандартного раствора CaCl<sub>2</sub> и стандартного препарата тромбопластина при 37° превращалась в сгусток в течение 60 сек. При замене в этой реакции стандартного раствора тромбопластина на тот же тромбопластин, но смешанный с разбавленной крысиной плазмой, сгусток получался через 17 сек.

Желая изучить относительную активность вещества, находящегося в плазме крысы, в зависимости от изменения его концентрации, мы провели следующие опыты. За 100% была условно принята активность плазмы крысы, разбавленной физиологическим раствором в отношении 1:3 и смешанной с 3 частями стандартного препарата тромбопластина. Для приготовления 50% препарата активатора плазма разбавлялась в 2 раза большим объемом физиологического раствора, т. е. в отношении 1:6, после чего смешивалась с 3 объемами тромбопластина. Тем же путем готовились 25 и 10% препараты активатора. Для получения средних чисел эксперимент был проведен с различными образцами плазмы крови, полученной более чем от 140 крыс. Человеческая же плазма получалась от разных, совершенно здоровых доноров. Результаты эксперимента сведены в табл. 1. Получение этих данных позволило провести достаточно точные наблюдения за изменением концентрации тромботропина в плазме крыс в зависимости от присутствия или недостатка в организме животных витамина К.

После перевязки желчного протока с целью получения авитаминоза К, у крыс систематически бралась кровь для определения в ней концентрации тромботропина и протромбина. Спустя известный срок

после операции у животных проявлялась гипопротромбинемия, приводившая к снижению концентрации протромбина до 15—10%. Того же характера явление наблюдалось и с изменением концентрации

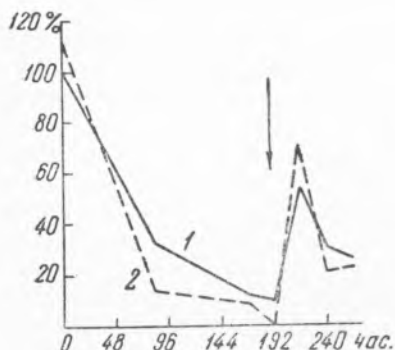


Рис. 1. Кривые изменения концентрации (в %) протромбина (1) и тромботропина (2) у крысы № 130 при авитаминозе К. Стрелка обозначает момент внутримышечного введения 5 γ (0,5 крыс. ед.) препарата витамина К (бисульфитный комплекс метиона)

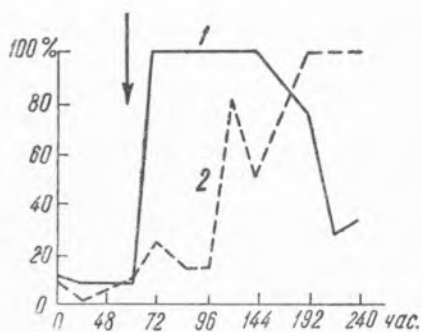


Рис. 2. Кривые изменения концентрации (в %) протромбина (1) и тромботропина (2) в плазме К-авитаминозной крысы № 110. Стрелка обозначает момент внутримышечного введения 100 γ (10 крыс. ед.) препарата витамина К

тромботропина: в ряде случаев понижение было крайне велико (до 5 и менее процентов) (рис. 1). Однако это изменение уровня содержания тромботропина в плазме К-авитаминозных животных часто происходило не параллельно изменению концентрации протромбина, а с некоторым запозданием (рис. 2) или, наоборот, с некоторым опережением. Выдача подопытным животным достаточных доз препарата витамина К восстанавливала концентрацию как протромбина, так и тромботропина. В некоторых случаях после введения препарата витамина К концентрация тромботропина достигала уровня, значительно превышающего физиологическую границу, в то время как содержание протромбина не достигало 100% (рис. 3). Ход кривых, характеризующих изменение концентрации протромбина и тромботропина в опытах с витамином К, свидетельствует о том, что хотя биосинтез протромбина и тромботропина и находится под общим контролем витамина К, однако оба эти агента образуются в организме независимо друг от друга.

Выдача нормальным крысам ингибиторов витамина К (салициловая кислота или дикумарин) катастрофически снижает концентрацию тромботропина в крови, которая вновь восстанавливается от достаточных доз витамина К (данные Г. Андреенко).

Перечисленные факты свидетельствуют, что тромботропин является нормальной составной частью крови, необходимой для осуществления процесса свертывания. Его действие проявляется только при контакте с тромбокиназой, по отношению к которой тромботропин является активатором. Недостаток этого активатора замедляет, а избыток ускоряет процесс свертывания крови.

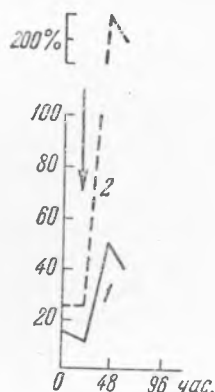


Рис. 3. Кривые изменения концентрации (в %) протромбина (1) и тромботропина (2) в плазме К-авитаминозной крысы № 113 после инъекции 2 мг (200 крыс. ед.) препарата витамина К

Известная схема свертывания крови, данная А. Шмидтом, в свете перечисленных данных должна быть в своей первой части дополнена новым звеном:

1. Протромбин + Са + тромботропин + тромбокиназа → тромбин.

Возможно, что различная скорость свертывания крови разных видов животных объясняется неодинаковой концентрацией тромботропина.

Предварительное изучение свойств нового активатора свертывания крови (данные Г. Андрееенко) приводит нас к выводу, что тромботропин имеет белковую природу. Он частично осаждается ацетоном и спиртом. Многократное разбавление плазмы водой, подкисленной до рН=5,3 уксусной кислотой, ведет к выпадению протромбина и к сохранению тромботропина в растворе. Активатор не диализирует через коллоидную перепонку и выпадает в осадке из сыворотки крови при диализе против чистой воды. Этот осадок хорошо растворим в солевом растворе (NaCl 1,275%). Нагревание такого раствора до 45° при рН=5,8 в течение 30 мин. не влияет на активность препарата. Нагревание до 50—55° в течение 10 мин. разрушает препарат, снижая его активность приблизительно на 75%. При 60° в течение 10 мин. активность снижается на 90%, а при 70° активность теряется полностью.

Институт зоологии  
Московского государственного университета  
им. М. В. Ломоносова

Поступило  
11 IV 1948

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

<sup>1</sup> Б. А. Кудряшов, П. Д. Улитина и А. А. Пугачева, Бюлл. эксп. биол. и мед., 9, 99 (1941); 9, 510 (1941). <sup>2</sup> Б. А. Кудряшов, Усп. совр. биол., 14, 466 (1941); Сов. здравоохран. Туркмении, 1, 31 (1942).