

Г. В. АНДРЕЕНКО

**О НЕКОТОРЫХ СВОЙСТВАХ ТРОМБОТРОПИНА**

(Представлено академиком А. И. Опариным 31 XII 1953)

В предшествующих сообщениях (1, 2) было показано, что в осуществлении процесса свертывания крови принимает участие тромботропин — вновь изученный компонент плазмы, который является активатором протромбокиназы. Первые попытки выделения и изучения физико-химических свойств тромботропина показали, что это вещество не подвергается диализу, термолabile, выпадает в осадок при действии специфических реактивов, осаждающих белки (3).

В настоящей работе мы сообщаем некоторые новые данные о свойствах тромботропина.

**Материал и методика.** В исследованиях применялась в качестве источника тромботропина свежая сыворотка крови лошади и крысы, а также препараты тромботропина, полученные из сыворотки крови.

Активность тромботропина определялась методом, описанным Б. А. Кудряшовым (1) и состоящим в том, что сыворотка или плазма разбавляется физиологическим раствором в отношении 1:3, затем этой разбавленной сывороткой активируется раствор стандартного тромбопластина (4) в отношении 1:3. После 10-минутной инкубации в водяной бане при 37° к 0,1 мл этого активированного тромбопластина добавляется 0,1 мл 0,025 М CaCl<sub>2</sub> и 0,1 мл свежей плазмы человека. Время свертывания этой смеси, выраженное в секундах, и показывает активность тромботропина. Чем меньше это время, тем больше активность тромботропина.

Таблица 1  
Зависимость активности тромботропина от pH среды  
(активность в сек.)

pH	№№ опытов						
	11	14	19	24	26	27	28
4,6	15	—	—	—	—	—	—
4,9	13	—	—	18	—	—	—
5,0	12	12	14	17	15	—	—
5,1	—	—	—	15	13	—	—
5,2	11	12	16	14	14	—	—
5,3	—	—	—	13	—	—	—
5,4	10	12	14	10	14	—	16
5,5	—	—	—	10	—	—	15
5,6	—	12	13	9	—	10—11	14
5,7	—	—	—	10	—	11	14
5,8	9	10	12	9	8	9	10
5,9	—	—	—	9	—	9	9
6,0	7—8	9	12	9	8	9	8
6,1	—	—	—	11	—	11	8
6,2	—	9	14	12	10	11	—
6,4	—	11	16	—	—	11	12

1. Зависимость активности тромботропина от реакции среды. В опытах применялся тромботропин сыворотки лошадиной крови. Результаты опытов представлены в табл. 1. Из данных табл. 1 видно, что наибольшая активность тромботропина проявлялась в слабо кислой среде, а именно, в достаточно узких пределах при рН, равном 5,8—6,0. Опыты, проведенные с более очищенными препаратами тромботропина, представленные в табл. 2, подтверждают эти результаты.

Таблица 2

рН	Активность тромботропина в сек.
5,62	16
6,05	12
7,00	15
7,75	15

2. Влияние адсорбентов на активность тромботропина. В качестве адсорбента применялся  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  в различных концентрациях: 0,008; 0,004 и 0,002 М. Взвесь адсорбента центрифугировалась в течение 5 мин. при 2000 оборотах, жидкость сверху сливалась, стенки пробирки высушивались фильтровальной бумагой, а к осадку приливался раствор тромботропина в объеме, равном первоначальному объему адсорбента. Смесь выдерживалась 5 мин. при

комнатной температуре, а затем центрифугировалась 5 мин. при 2000 оборотах. Полученный раствор испытывался на содержание тромботропина. Результаты этих опытов представлены в табл. 3.

Таблица 3

Зависимость активности тромботропина от концентрации адсорбента

№№ опытов	Концентрация адсорбента в мол.	Активность тромботропина в сек.	
		до адсорбции	после адсорбции
1	0,008	8	10—11
2	0,008	8	10—12
3	0,004	8	9—10
4	0,004	8	8
5	0,004	13	13
6	0,002	13	13
7	0,002	8	8
8	0,002	9	9
9	0,001	8	8

Таблица 4

Зависимость активности тромботропина в сыворотке плазмы крысы от температуры (активность в сек.)

Т-ра инкубации в °	Продолжит. инкубации в мин.	Опыт № 1		Опыт № 4	
		до инкуб.	после инкуб.	до инкуб.	после инкуб.
30	30	12	12	13	13
30	45	12	12	13	13
30	60	12	12	13	13
37	30	12	12	13	13
37	45	12	12	13	13
37	60	12	12	13	13
37	120	12	12	—	—
40	10	12	12	13	13
40	25	12	13	13	13—14
40	60			13	17

При оценке результатов этих опытов следует учесть, что изменение времени свертывания в данных условиях даже на 1—2 сек. означает значительное изменение концентрации тромботропина; так например, при 100% содержании тромботропина время свертывания 12 сек., а при 50% время свертывания 13 сек., т. е. разница всего на 1 сек. (1). Учитывая это, видим, что данные табл. 3 показывают, что при высокой концентрации адсорбента, равной 0,008 М, происходит адсорбция тромботропина; при концентрациях, равных 0,004; 0,002 и 0,001 М, тромботропин заметно не адсорбируется.

3. Влияние температуры на активность тромботропина в сыворотке крови животных. Сыворотка плазмы крысы нагревалась при различных температурах в течение 30, 45 и 60 мин. Эта нагретая сыворотка, как обычно, употреблялась для активации тромбокиназы. Результаты опытов помещены в табл. 4 (рН 7). В табл. 5 представлены результаты опытов по нагреванию растворов очищенного тромботропина (рН 7).

## Зависимость активности тромботропина в растворе очищенного препарата от температуры

Т-ра инкубации в °	Продолжит. инкубации в мин.	Опыт № 2		Опыт № 3		Опыт № 5	
		до инкуб.	после инкуб.	до инкуб.	после инкуб.	до инкуб.	осле инкуб.
30	30	13	16	14	14	17	23
30	45	13	17	14	17	17	25
30	60	13	16	14	18	17	25
37	30	13	19	14	20	17	27
37	45	13	22	14	22	17	28
37	60	13	21	14	25	17	28

Результаты опытов, приведенные в табл. 4 и 5, показывают, что в сыворотке тромботропин устойчив и даже длительная инкубация при температуре 37° не изменяет его активности. Инкубация в течение 1 часа при температуре 40° несколько снижает активность. Другие результаты получаются при нагревании препарата тромботропина. Даже 30-минутное нагревание при 30° вызывает снижение активности тромботропина. Увеличение продолжительности инкубации, а также повышение температуры вызывают резкое снижение активности тромботропина. Следовательно, в сыворотке крови имеются какие-то вещества, в некоторой степени повышающие термостабильность тромботропина. При выделении препаратов последнего эти вещества устраняются, и тромботропин теряет устойчивость.

Биолого-почвенный научно-исследовательский институт  
Московского государственного университета  
им. М. В. Ломоносова

Поступило  
6 VII 1953

## ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> Б. А. Кудряшов, ДАН, 60, 1469 (1948). <sup>2</sup> Б. А. Кудряшов, П. Д. Улитина, ДАН, 8<sup>1</sup>, 563 (1952). <sup>3</sup> Г. В. Андрееenko, ДАН, 61, 1117 (1948). <sup>4</sup> Б. А. Кудряшов, П. Д. Улитина, А. А. Пугачева, Бюлл. эксп. биол. и мед., 9, 99 (1941).