

УДК 612.115

ОБЗОР СОВРЕМЕННЫХ ПРЕДСТАВЛЕНИЙ О ВЛИЯНИИ СКОРОСТИ ТЕЧЕНИЯ НА ПРОЦЕСС ПЛАЗМЕННОГО СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ

© 2009 г. А. М. Шибeko¹, С. С. Карамзин¹, А. А. Бутылин^{1,3},
М. А. Пантелеев², Ф. И. Атауллаханов^{1,2,3*}

¹Учреждение Российской академии медицинских наук Гематологический научный центр РАМН, 125167 Москва, Новый Зыковский проезд, 4а; тел.: 8(495)-612-55-31; *электронная почта: fazly@hc.comcor.ru

²Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва

³Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва

Поступила в редакцию 09.04.2009 г.

После доработки 09.06.2009 г.

Нормальное протекание процессов свертывания крови жизненно необходимо для млекопитающих. В образовании сгустка крови важную роль играет диффузионный-конвекционный перенос факторов свертывания. Поскольку сдвиговые скорости течения крови очень велики (до 7000 с^{-1}), формирование сгустка критическим образом зависит от скорости течения. Методы исследования влияния потока на свертывание косвенны, а сами процессы довольно сложны, поэтому существенную роль в интерпретации результатов и понимании механизмов играют математические модели процесса. В обзоре рассмотрены основные экспериментальные данные о влиянии потока на плазменное звено свертывания крови, а также некоторые гипотезы и математические модели, объясняющие различные режимы функционирования данной системы. Обзор фокусируется на специфических проблемах, стоящих перед исследователями в этой области. Так, в ряде экспериментальных работ показано, что поток приводит к уменьшению размера формируемого фибринового сгустка, а зависимость времени образования сгустка от сдвиговой скорости потока является пороговой функцией. Но есть и экспериментальные свидетельства, что поток может увеличивать производство факторов свертывания (фактор Ха), что должно выражаться в прокоагулянтном действии потока. Математические модели разных аспектов свертывания также не дают единых предсказаний. Тем не менее, именно совместный анализ результатов детального моделирования и экспериментов, по нашему мнению, может привести к пониманию механизмов, определяющих поведение свертывания в потоке.

Ключевые слова: свертывание крови, математическое моделирование, тромбообразование в потоке, фактор Ха, фибрин.

В системе гемостаза человека и млекопитающих выделяют два звена: сосудисто-тромбоцитарное и плазменное [1, 2]. При повреждении стенки сосуда из клеток разрушенного эндотелия высвобождаются в кровь вещества, вызывающие в первую очередь сужение сосудов (вазоконстрикцию) и образование тромбоцитарного агрегата [3]. После активации тромбоциты приобретают способность адгезии к месту повреждения и взаимной агрегации. В результате на месте повреждения образуется сравнительно рыхлая тромбоцитарная пробка, предотвращающая потерю клеток крови, но не плазмы. Характерное время срабатывания этих систем составляет несколько минут. На фоне этих событий развивается плазменное свертывание, активирующееся при контакте крови с клетками, лежащими под эндотелием (его время срабатывания имеет порядок десятков минут [4, 5]), что приводит к образова-

нию плотного фибринового сгустка, полностью предотвращающего потерю крови.

Так как процесс свертывания активируется только в поврежденном участке стенки сосуда, т.е. пространственно локализован, то влияние потока принято сводить к следующим аспектам: поток приносит неактивные факторы свертывания к активатору и уносит активные формы вниз по течению; поток крови обеспечивает приток тромбоцитов к активатору; поток может влиять на кинетику протекания мембрано-зависимых реакций, увеличивая скорость поступления субстрата и удаления продукта.

Кровь – вязкая жидкость, и профиль скорости потока поперек сосуда величина не постоянная: скорость близка к нулю у стенки сосуда и максимальна в центре. Поток в пристеночной области принято описывать при помощи сдвиговой скорости потока [6]. Этот параметр показывает, как быстро изменяется скорость потока по мере уда-

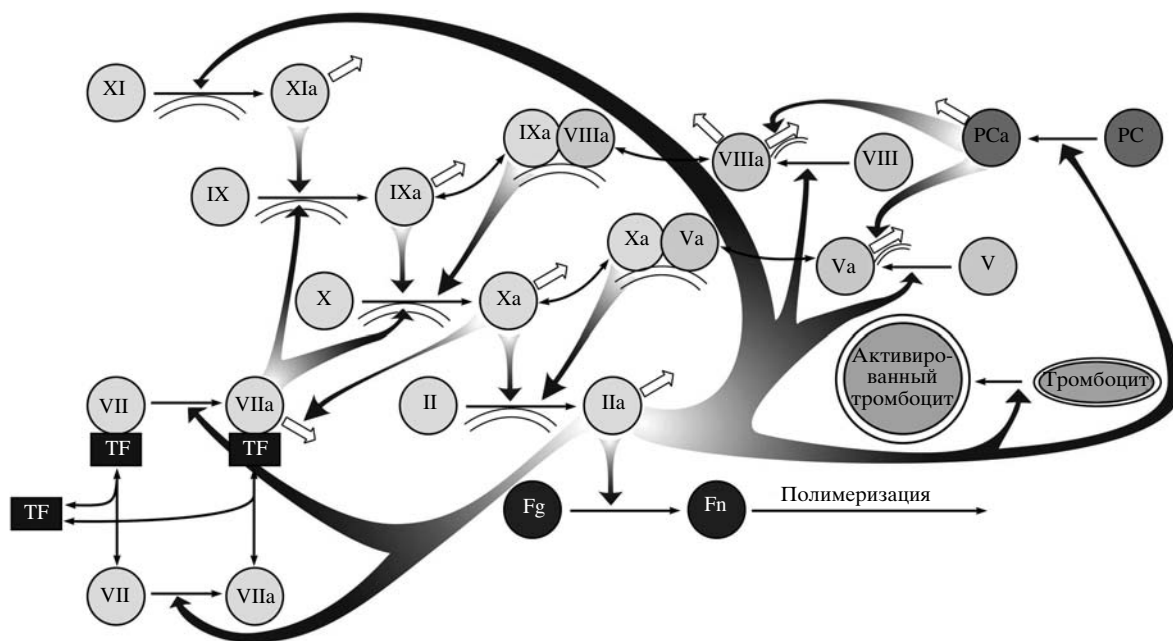


Рис. 1. Основные реакции плазменной системы свертывания крови. Ферментативный катализ и превращения под его действием показаны серыми и черными стрелками соответственно. Ингибирование показано короткими пустыми стрелками. Условные обозначения: TF – тканевой фактор, римскими цифрами обозначены соответствующие факторы свертывания, PC – белок C, Fg – фибриноген, Fn – фибрин. Два находящихся рядом обозначения факторов свертывания – комплекс, образованный этими факторами (например, XaVa). Двойная дуга под стрелкой реакции (обозначением комплекса) показывает, что данная реакция (сборка комплекса) проходит только на фосфолипидной поверхности.

ления от стенки к его центру. У человека эта величина варьирует от 20 с^{-1} в полых венах и легочном стволе до 7000 с^{-1} в артериолах [7].

Данный обзор посвящен исследованиям влияния потока на плазменное свертывание, анализ воздействия потока на тромбоцитарное свертывание останется за рамками рассмотрения.

ОПИСАНИЕ ПЛАЗМЕННОГО ЗВЕНА

Свертывание представляет собой сложную сеть ферментативных реакций в плазме крови, которая запускается при повреждении сосуда [2, 5]. На рис. 1 представлены наиболее существенные реакции этой системы. Клетки практически всех тканей организма, за исключением эндотелия и клеток крови, экспрессируют трансмембранный гликопротеин – тканевой фактор (TF). В норме TF не контактирует с кровью, однако любое повреждение эндотелия приводит к тому, что плазма вступает в контакт с клетками, несущими TF. В плазме постоянно присутствует фактор VIIa, сериновая протеаза, которая сама по себе почти не обладает ферментативной активностью. Однако, когда фактор VIIa связывается с TF, образуется комплекс внешней теназы (VIIa-TF), который обладает мощной ферментативной активностью

и способен активировать факторы IX и X. Эти события и запускают процесс свертывания.

Каскад реакций свертывания катализируется сериновыми протеазами [2, 5, 8]. Сериновые протеазы находятся в плазме крови в виде неактивных предшественников, называемых факторами свертывания, и обозначаются римскими цифрами. Эти белки способны активировать друг друга путем специфического расщепления в определенных местах. Активированная форма фактора свертывания обозначается той же римской цифрой с индексом а. Последний и главный фермент в каскаде – фактор IIa, который имеет и другое название – тромбин. Тромбин образуется из протромбина (фактор II). На него замкнута основная регуляция системы [9, 10]. Тромбин осуществляет превращение белка фибриногена в фибрин, который полимеризуется, формируя фибриновую сеть и переводя кровь из жидкого в желеобразное состояние. Волокна фибрина укрепляют и фиксируют в месте повреждения сосуда первичный тромбоцитарный тромб, препятствуя его размыванию кровотоком. Сами по себе реакции активации фактора X фактором IXa и протромбина фактором Xa протекают очень медленно. Однако небольшие количества тромбина, образующиеся в этих реакциях, запускают петли положительных обратных связей, приводящие к взрывному

образованию тромбина [9]. В первую очередь, тромбин увеличивает количество внешней теназы путем активации фактора VII в фактор VIIa [10]. Во-вторых, тромбин активирует факторы VIII и V [11, 12]. Их активные формы являются кофакторами для факторов IXa и Xa соответственно. Тромбин также активирует тромбоциты, что приводит к формированию комплексов IXa-VIIIa (внутренняя теназа) и Xa-Va (протромбиназа) на их мембранах. Эти комплексы, собирающиеся в присутствии кальция, способны работать на 3–5 порядков быстрее, чем ферменты в отсутствие кофакторов и обеспечивать дальнейшее распространение сгустка в зонах, удаленных от активатора.

Все активные ферменты системы ингибируются присутствующими в плазме ингибиторами протеаз, основные из которых – антитромбин III (АТ-III) и ингибитор пути тканевого фактора (ТФPI). АТ-III – главный ингибитор тромбина, тогда как ТФPI ингибирует внешнюю теназу по сложному Xa-зависимому механизму [13, 14].

ВЛИЯНИЕ ПОТОКА НА СВЕРТЫВАНИЕ КРОВИ

Экспериментальные исследования. Поток приносит неактивные факторы к месту активации и уносит активированные. Способствует он улучшению протекания свертывания или наоборот, угнетает его? Один из основных результатов о влиянии потока на свертывание получен еще в 1986 году [15]. В этой работе использовали кольцевую перфузионную камеру, в которой через вывернутые сегменты аорты кролика, с которых эндотелий был удален при помощи баллонного катетера, прокачивали человеческую кровь со скоростями сдвига 50–2600 с⁻¹. При этом измеряли отложение тромбоцитов и фибрина на субэндотелии. Кровь прокачивалась напрямую из локтевой вены в перфузионную камеру и не рециркулировалась. Скорость потока задавали перистальтическим насосом. Время перфузии – 5 мин. Присутствие фибрина на субэндотелии оценивали систематически на 10 мкм интервалах (около 1000 срезов). Тот факт, что это именно фибрин, подтверждено при помощи электронной микроскопии, показавшей присутствие линейных структур размером 23 нм, что соответствует половине линейного размера молекулы фибрина. В итоге было установлено, что при увеличении скорости сдвига уменьшается процент покрытия поверхности фибрином в конце эксперимента (рис. 2), т.е. поток ухудшает плазменное свертывание. И чем быстрее поток, тем сильнее он ухудшает плазменное свертывание.

Один из распространенных типов исследования свертывания крови в потоке основан на системе с замкнутым циклом: один объем крови

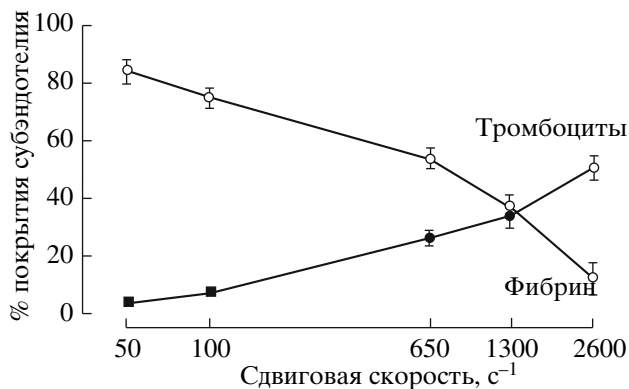


Рис. 2. Отложение фибрина и тромбоцитов на субэндотелии через 5 мин прокачивания венозной крови при разных сдвиговых скоростях. Воспроизведено из [15]. Перфузионная камера представляла собой кольцевое устройство: в центре цилиндрической камеры находился вывернутый участок аорты кролика, с которой удален эндотелий. В пространстве между стенками цилиндрической камеры и аорты прокачивалась кровь, взятая из локтевой вены. Скорость потока контролировали при помощи перистальтического насоса.

много раз прокачивается через камеру с активатором свертывания [16]. Нам кажется, что такой тип экспериментов, несмотря на свою простоту, не дает достоверной информации о процессе свертывания. Это связано с тем, что при многократной рециркуляции одного объема крови происходит гиперактивация, так как, во-первых, активированные факторы свертывания не удаляются из кровотока (как это происходит в организме) и, во-вторых, с течением времени возрастает влияние контактной активации системы свертывания от стенок проточной камеры. В связи с тем, что свертывание – это процесс пространственно неоднородный, в котором одни реакции происходят на активаторе, а другие вдали от него, свертывание, начавшись на активаторе, распространяется в глубь области, поток сносит активные факторы вниз по течению, и они, пройдя полный круг, снова появляются около активатора, усиливая свертывание. Таким образом, практически невозможно отделить вклад в образование сгустка непосредственного влияния активатора свертывания на текущую кровь от влияния активных факторов свертывания, принесенных потоком.

Кинетика образования сгустка при разных сдвиговых скоростях потока исследована в работе [17]. Авторы работы прокачивали цельную кровь или богатую тромбоцитами плазму через стеклянные капилляры с модифицированной внутренней поверхностью и регистрировали время свертывания (момент появления сгустка) в зависимости от разных величин: скорости сдвига потока, внутреннего диаметра капилляра, размера активирующего участка. Модификация внут-

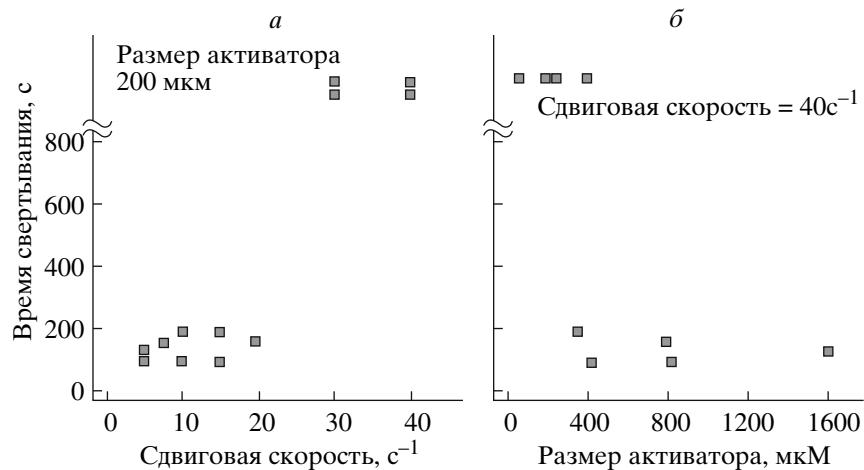


Рис. 3. Зависимость времени появления сгустка от скорости сдвига при постоянном размере активатора (*а*) и от размера активатора при постоянной скорости сдвига (*б*). Воспроизведено из [17]. Цельную кровь или богатую тромбоцитами плазму прокачивали через стеклянный капилляр, внутренние стенки которого были покрыты фосфолипидами. Часть внутренней поверхности – кольцевой участок – покрыт фосфолипидами, содержащими тканевой фактор. Этот участок выступал активатором свертывания. Время свертывания определялось моментом, когда происходил выброс тромбина и начальное формирование фибринового сгустка. Регистрацию проводили при помощи флуорогенного субстрата, который при расщеплении тромбином приводил к увеличению флуоресценции в синем канале.

ренней поверхности капилляров заключалась в следующем. Сначала капилляры покрывали изнутри бутилтрихлорсиланом, а затем через них прокачивали 1,2-дилауроил-*sn*-глицеро-3-фосфохолин для формирования монослоя нейтральных фосфолипидов. После этого при помощи фотографии с использованием глубокого ультрафиолета удаляли часть липидов и силицированной поверхности. Затем для формирования бислоя на освобожденной поверхности прокачивали везикулы фосфотидилхолина, содержащие ТФ. В результате на внутренней поверхности капилляра образуется участок заданной формы с экспонированным в поток ТФ, имитирующим место повреждения сосудистой стенки. Сгусток регистрировали при помощи оптической микроскопии. Авторы получили пороговое поведение: в некотором диапазоне скоростей потока сгусток образуется примерно за одно и то же время, а как только скорость становится выше порога – сгусток не появляется вообще (за время эксперимента) (рис. 3*а*). При этом порог определяется размером активатора: чем больше активатор, тем при больших сдвиговых скоростях потока появляется порог и наоборот (рис. 3*б*).

После того как стало известно, что поток ухудшает свертывание, логично посмотреть, перенос каких факторов свертывания приводит к этому. Нужно отметить, что полноценного исследования, в котором изучали перенос потоком всех факторов свертывания, активных и неактивных, пока нет. Есть работы, посвященные только активации фактора Ха при различных сдвиговых скоростях потока. Поскольку фактор Ха входит в

состав протромбиназы – основного активатора тромбина, то кинетика активации фактора Ха может предоставить важные данные для понимания влияния потока на свертывание крови.

В работе Като и др. [18] показано, что при образовании фактора Ха в результате активации по внутреннему пути свертывания при помощи цефалопластина скорость его наработки уменьшается по мере увеличения сдвиговой скорости потока. Если же активация этого фактора проводится напрямую, с помощью рептилазы – фермента из яда гадюки Рассела, то скорость активации фактора Ха не зависит от сдвиговой скорости потока.

Однако согласно [19], скорость активации фактора X внешней теназой растет при увеличении сдвиговой скорости потока. Авторы использовали проточный реактор, представляющий собой микрокапилляр, изнутри покрытый единичным бислоем фосфолипидов, содержащих известное количество тканевого фактора. Через него прокачивали раствор фактора VIIa в концентрации, достаточной для насыщения, и фактор X в различных концентрациях. Варьируя скорость потока, можно было изменять скорость поступления фактора X на поверхность.

Помимо поступления фактора X в зону активации было исследовано влияние удаления активного фактора Ха из реакционной зоны. Показано [20, 21], что это может приводить к увеличению активности комплекса внешней теназы. Это связано с тем, что удаление продукта из реакционной зоны освобождает активный сайт для присоединения следующей молекулы субстрата.

Так как для запуска свертывания важна активация фактора Ха внешней теназой, а для роста сгустка важно функционирование комплексов внутренней теназы и протромбиназы, результаты работы [18] могут означать, что ухудшение производства фактора Ха внутренней теназой при усилении потока приводит к уменьшению скорости роста сгустка.

Результаты работы [19] говорят о том, что в сильном потоке скорость активации фактора Ха увеличивается. Но в данном исследовании весь фактор VII был в активном состоянии, в то время как в организме он активируется во время свертывания. Одновременно с активацией фактора VII и образованием внешней теназы (VIIa-TF) происходит и ее ингибирование. Таким образом, описанная ситуация, когда имеется очень много активной внешней теназы, в организме практически не реализуется. Это делает полученные результаты не слишком пригодными для понимания протекания процессов свертывания крови в потоке.

Из работ [20, 21] можно заключить, что поток улучшает активацию фактора Ха и тем самым ускоряет запуск свертывания. Это не согласуется с поведением системы, описанным выше [15, 17]. Правда, образование сгустка не сводится к активации фактора Ха, это гораздо более сложный процесс. Ведь сгусток – это полимерная сеть из фибрина, который активируется тромбином, и пока он не полимеризовался может сноситься потоком. Сложность системы свертывания не позволила разобраться в причинах сильных противоречий между разными экспериментальными постановками. Понять эти результаты невозможно без привлечения математического моделирования.

Математическое моделирование свертывания крови в потоке. Численный эксперимент, воспроизводящий систему *in vitro*, можно провести при помощи полных моделей, учитывающих большинство известных реакций свертывания. К сожалению, большая часть работ, в которых рассматриваются такие полные модели (например, [22, 23]), сводится к построению самой модели и демонстрации того, что она хоть что-то описывает. Нет ни экспериментальной верификации моделей, ни поиска особых режимов функционирования свертывания, ни детального изучения различных его этапов. Остается надеяться, что все это дело недалекого будущего. Но не нужно, однако, считать, что никакого анализа свертывания на полномасштабных моделях свертывания не проводилось. Построена полная модель свертывания [24], и на ее основе показано [25], что в условиях потока генерация тромбина зависит от конкуренции между активацией факторов X и IX комплексом внешней теназы и их сносом пото-

ком. В то же время ингибиторы свертывания и АТIII, и TFPI не оказывают существенного влияния на генерацию тромбина. Это интересное, хотя и не совсем ясное предсказание, побудило предложить альтернативный механизм выключения TF на стенке приклеивающимися тромбоцитами, которые просто закрывают доступ к нему. Возможно, что подобное предсказание не верно, так как учет функционирования TFPI в данной работе [24] был выполнен не совсем корректно.

Исследование свертывания крови в потоке при помощи полных моделей безусловно способно снять противоречия, возникающие при анализе экспериментальных данных, полученных в различных постановках. Так, в предыдущем разделе рассмотрены работы [20, 21], свидетельствующие о том, что поток улучшает активацию фактора Ха, что должно вести к улучшению свертывания. Показано также [15, 17], что поток ухудшает образование сгустка. Компьютерное моделирование позволило бы определить пространственно-временное распределение фактора Ха в зависимости от сдвиговой скорости потока и то, как это влияет на формирование сгустка. Кроме того, можно было бы показать, снос потоком каких факторов критичен для свертывания, и предложить новые эксперименты, способные пролить свет на работу механизмов, отвечающих за запуск свертывания, рост сгустка и его остановку в условиях потока. Насколько нам известно, подобные исследования пока еще не проводились. Это может быть связано с рядом сложностей, возникающих при использовании полных моделей свертывания.

К сожалению, все полные модели чрезвычайно трудны для внешнего анализа: нужно проверить 50–60 уравнений, граничные и начальные условия, диапазон допустимости применения допущений, использованных при расчетах. Также и создателям модели бывает сложно сделать правильные выводы не только о некоем режиме поведения системы свертывания, но и об общей пригодности самой модели. Поэтому часто используются редуцированные модели, описывающие лишь часть системы свертывания или же всю систему, но при ряде допущений, например, в предположении, что между некоторыми переменными имеются быстрые равновесные отношения. Таким редуцированным моделям присущи свои серьезные недостатки, но иногда они помогают лучше понять, что происходит в системе свертывания.

Продемонстрируем эффективность такого подхода на примере работы [26]. При построении использованной в работе модели сделаны следующие допущения. Система состояла из одного профермента и одного фермента, катализирующего свое образование из профермента. Профер-

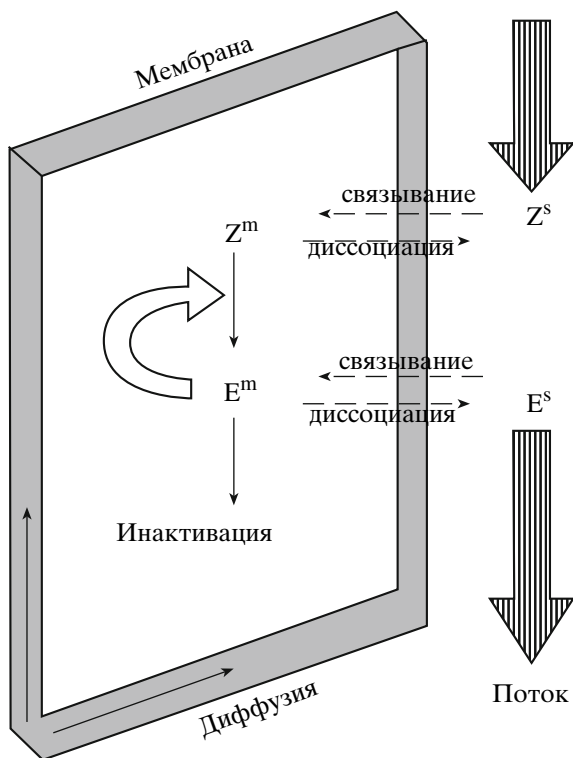


Рис. 4. Схематическое представление системы реакций, использованной в работе [26]. Z – профермент. E – фермент. Воспроизведено из [26]. Верхний индекс m – означает, что вещество находится на мембране, s – в растворе. Фермент катализирует свое образование из профермента на поверхности мембраны. Фермент и профермент могут диффундировать в плоскости мембраны, могут приходить на мембрану из раствора и уходить в раствор. Плотность сайтов связывания E и Z одинакова на всей поверхности мембраны. Скорость диффузии в среде достаточно велика, так что поток реагентов в среде не зависит от расстояния от мембраны.

мент и фермент могли диффундировать в плоскости мембраны (активатора), могли выходить в жидкую фазу и приходить из нее. Также полагалось, что пограничный слой между мембраной и текущей средой бесконечно мал и может быть проигнорирован. Диффузия в среде происходила достаточно быстро, так, что поток реагентов не зависел от расстояния до мембраны. Схематическое изображение данной системы представлено на рис. 4. В этой работе [26] показано, что порог активации системы регулируется кинетикой активации и ингибирования субстрата и концентрацией сайтов связывания на мембране, а также скоростью потока и размером активатора. Так, при прочих равных условиях более слабый поток или активатор большего размера могут привести к тому, что порог активации будет превышен и наработка фермента запустится, в то время как более сильный поток или активатор меньшего размера могут предотвратить запуск системы.

Этот результат, полностью подтвержденный работой [17], свидетельствует о том, что даже такая простая и, казалось бы, несопоставимая с системой свертывания модель, как в работе [26], может правильно предсказывать режимы поведения системы свертывания.

Другая работа [27] основана на редуцированной модели [28]. Эта модель содержит восемь дифференциальных уравнений, описывающих пространственно-временную динамику активации факторов свертывания. В модели активация свертывания начинается с наработки фактора XIa , а образование внешней теназы не рассматривается. Образование комплексов внутренней теназы и протромбиназы является функцией концентрации кальция. Показано [27], что ингибирующая стенка может остановить свертывание (распространение тромбина) в узких каналах, а в широких оно может быть остановлено быстрым потоком. Поскольку в организме неповрежденные сосуды покрыты тромбомодулином и гепарансульфатом, т.е. являются антикоагулянтными поверхностями, то первый результат этой работы может означать, что остановка роста сгустка в организме связана с неповрежденной стенкой вне места повреждения. В то же время остановка распространения свертывания быстрым потоком может означать, что в организме поток вызывает локализацию сгустка в зоне около активатора.

Кровь не является идеальной жидкостью, поэтому возникает вопрос, как описывать ее движение при моделировании. Однако отличие крови от идеальной жидкости проявляется лишь в достаточно малых сосудах (чьи размеры будут сопоставимы с размерами клеток крови). Размер эритроцита – 6–8 мкм, что почти на 1.5–2 порядка меньше размеров канала, в котором проводят эксперимент. Это позволяет с хорошим приближением считать кровь идеальной жидкостью. Поэтому в большинстве работ для оценки скорости потока используют величину скорости сдвига крови на границе канала, рассчитанную для идеальной жидкости исходя из объемной скорости. Именно такое приближение использовано во всех работах, рассмотренных в нашем обзоре, за исключением работы [23], в которой использована вязкоэластичная модель с временем релаксации, зависящим от деформации. Подробно эта модель описана в [29].

Отдельной и важной проблемой является численное моделирование собственно процесса полимеризации фибрина в присутствии потока. Его особенности таковы, что необходимо с определенной степенью детальности моделировать процесс формирования полимерной фибриновой сети, в общем случае состоящий из бесконечного числа реакций обратимого встраивания в нее молекул фибрина. Одной из работ по данной теме

было математическое исследование [30], в котором рассмотрены условия формирования фибринового сгустка как перехода среды из жидкого состояния в гелеобразное. В основе анализа лежала одномерная модель с линейным профилем градиента скорости потока, обеспечивающим конвекцию реагентов, которые также могли диффундировать. Тромбин образуется из протромбина только у активатора (на границе зоны моделирования), расходуется со скоростью, пропорциональной величине своей концентрации, диффундирует от активатора и уносится потоком. Он делает из фибриногена фибрин, который при определенных условиях способен полимеризоваться и образовывать сгусток. Показано [30], что высота образовавшегося сгустка зависит от скорости ингибирования тромбина, проницаемости самого сгустка для потока и сдвиговой скорости потока. При низких скоростях потока размер сгустка ограничивается доступностью тромбина, а при высоких скоростях поток уносит мономеры фибрина до того, как они успевают полимеризоваться. Переход от одного типа поведения системы к другому обеспечивается проницаемостью сгустка для потока. Данная работа показывает, что одним из путей ингибирования потоком свертывания может быть удаление неполимеризовавшегося фибрина, что вызывает замедление роста сгустка вплоть до полной его остановки.

ВЫВОДЫ

Подведем итог известным на сегодняшний момент данным о свертывании крови в потоке: вполне достоверно то, что поток ухудшает свертывание крови, а достаточно сильный поток может привести к тому, что сгусток не образуется совсем. Имеется ряд гипотез, объясняющих подобное поведение системы свертывания. Это может быть вымывание фибрина из образующегося сгустка, антикоагулянтные свойства поверхности сосудов, уменьшение активации фактора Ха внутренней теназой. Большая часть таких гипотез (и некоторые подтвержденные экспериментально данные) основана на результатах моделирования с использованием простых, редуцированных моделей. В то же время сложные модели, претендующие на полноту представления системы свертывания, пока только разрабатываются, и ясных и осмысленных предположений, полученных с их помощью (а тем более верифицированных экспериментально) пока нет. Но мы надеемся, что их время придет, причем очень скоро. Тогда с помощью полных моделей свертывания мы сможем получать теоретические предсказания и возможные способы их экспериментальной верификации, что позволит в деталях исследовать все аспекты свертывания крови в потоке.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Шмидт Р., Тевс Г.* Физиология человека. М.: Мир, 1996. Т. 2.
2. *Colman R.W., Hirsh J., Marde V.J., Saltzman E.W.* Hemostasis and thrombosis: Basic principles and clinical practice. Philadelphia: Lippincott Company, 1994.
3. *Butenas S., Branda R.F., van't Veer C., Cawthorn K.M., Mann K.G.* Platelets and phospholipids in tissue factor-initiated thrombin generation // *Thromb. Haemost.* 2001. V. 86. № 2. P. 660–667.
4. *Mann K.G., Brumme K., Butenas S.* What is all that thrombin for? // *J. Thromb. Haemost.* 2003. V. 1. № 7. P. 1504–1514.
5. *Butenas S., Mann K.G.* Blood coagulation // *Biochemistry (Mosc.)*. 2002. V. 67. № 1. P. 3–12.
6. *Turitto V.T., Hall C.L.* Mechanical factors affecting hemostasis and thrombosis // *Thromb. Res.* 1998. V. 92. № 6 Suppl 2. P. 25–31.
7. *Caro C.G., Pedley I.J., Seed W.A.* Cardiovascular physiology // *Mechanics of Circulation*/Ed. Guyton A.C. London: Medical and Technical Publ., 1974.
8. *Балуда В.П., Балуда М.В., Деянов И.И., Тленушников И.Л.* Физиология системы гемостаза. М.: Медицина, 1995.
9. *Brumme K., Paradis S.G., Butenas S., Mann K.G.* Thrombin functions during tissue factor-induced blood coagulation // *Blood*. 2002. V. 100. № 1. P. 148–152.
10. *Butenas S., Mann K.G.* Kinetics of human factor VII activation // *Biochemistry*. 1996. V. 35. № 6. P. 1904–1910.
11. *Hill-Eubanks D.C., Lollar P.* von Willebrand factor is a cofactor for thrombin-catalyzed cleavage of the factor VIII light chain // *J. Biol. Chem.* 1990. V. 265. № 29. P. 17854–17858.
12. *Monkovic D.D., Tracy P.B.* Activation of human factor V by factor Xa and thrombin // *Biochemistry*. 1990. V. 29. № 5. P. 1118–1128.
13. *Baugh R.J., Broze G.J. Jr., Krishnaswamy S.* Regulation of extrinsic pathway factor Xa formation by tissue factor pathway inhibitor // *J. Biol. Chem.* 1998. V. 273. № 8. P. 4378–4386.
14. *Bajaj M.S., Birktoft J.J., Steer S.A., Bajaj S.P.* Structure and biology of tissue factor pathway inhibitor // *Thromb. Haemost.* 2001. V. 86. P. 959–972.
15. *Weiss H.J., Turitto V.T., Baumgartner H.R.* Role of shear rate and platelets in promoting fibrin formation on rabbit subendothelium. Studies utilizing patients with quantitative and qualitative platelet defects // *J. Clin. Invest.* 1986. V. 78. № 4. P. 1072–1082.
16. *Tonda R., Galan A.M., Mazzara R., White J.G., Ordinas A., Escolar G.* Platelet membrane fragments enhance the procoagulant effect of recombinant factor VIIa in studies with circulating human blood under conditions of experimental thrombocytopenia // *Semin. Hematol.* 2004. V. 41. № 1 Suppl 1. P. 157–162.
17. *Shen F., Kastrup C.J., Liu Y., Ismagilov R.F.* Threshold response of initiation of blood coagulation by tissue factor in patterned microfluidic capillaries is controlled by shear rate // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2008. V. 28. № 11. P. 2035–2041.

18. *Katoh S., Matsubara I., Sada E.* Effect of shear rate on activation rate of factor X // *Ann. Biomed. Eng.* 1978. V. 6. № 1. P. 60–67.
19. *Andree H.A., Contino P.B., Repke D., Gentry R., Nemerson Y.* Transport rate limited catalysis on macroscopic surfaces: the activation of factor X in a continuous flow enzyme reactor // *Biochemistry.* 1994. V. 33. № 14. P. 4368–4374.
20. *Hathcock J.J., Rusinova E., Gentry R.D., Andree H., Nemerson Y.* Phospholipid regulates the activation of factor X by tissue factor/factor VIIa (TF/VIIa) via substrate and product interactions // *Biochemistry.* 2005. V. 44. № 22. P. 8187–8197.
21. *Hathcock J., Rusinova E., Vaananen H., Nemerson Y.* Lipid-bound factor Xa regulates tissue factor activity // *Biochemistry.* 2007. V. 46. № 20. P. 6134–6140.
22. *Xu Z., Chen N., Kamocka M.M., Rosen E.D., Alber M.* A multiscale model of thrombus development // *J. R. Soc. Interface.* 2008. V. 5. № 24. P. 705–722.
23. *Anand M., Rajagopal K., Rajagopal K.R.* A model incorporating some of the mechanical and biochemical factors underlying clot formation and dissolution in flowing blood // *Comp. Math. Meth. Med.* 2003. V. 5. № 3–4. P. 183–218.
24. *Kuharsky A.L., Fogelson A.L.* Surface-mediated control of blood coagulation: the role of binding site densities and platelet deposition // *Biophys. J.* 2001. V. 80. № 3. P. 1050–1074.
25. *Fogelson A.L., Tania N.* Coagulation under flow: the influence of flow-mediated transport on the initiation and inhibition of coagulation // *Pathophysiol. Haemost. Thromb.* 2005. V. 34. № 2–3. P. 91–108.
26. *Beltrami E., Jesty J.* The role of membrane patch size and flow in regulating a proteolytic feedback threshold on a membrane: possible application in blood coagulation // *Math. Biosci.* 2001. V. 172. № 1. P. 1–13.
27. *Ermakova E.A., Panteleev M.A., Shno E.E.* Blood coagulation and propagation of autowaves in flow // *Pathophysiol. Haemost. Thromb.* 2005. V. 34. № 2–3. P. 135–142.
28. *Zarnitsina V.I., Pokhilko A.V., Ataulakhanov F.I.* A mathematical model for the spatio-temporal dynamics of intrinsic pathway of blood coagulation. I. The model description // *Thromb. Res.* 1996. V. 84. № 4. P. 225–236.
29. *Anand M., Rajagopal K.R.* A shear-thinning viscoelastic model for describing the flow of blood // *Int. J. Cardiovasc. Med. Sci.* 2004. V. 4. № 2. P. 59–68.
30. *Guy R.D., Fogelson A.L., Keener J.P.* Fibrin gel formation in a shear flow // *Math. Med. Biol.* 2007. V. 24. № 1. P. 111–130.

A Review of Contemporary Ideas about the Influence of the Flow Rate on the Process of Blood Clotting

**A. M. Shibeko¹, S. S. Karamzin¹, A. A. Butylin^{1,3},
M. A. Panteleev², F. I. Ataulakhanov^{1,2,3*}**

¹*National Research Center for Hematology, Russian Academy of Medical Sciences,
Novyi Zykovskii pr., 4a, Moscow, 125167 Russia; Fax: 7-(495)-612-8870, e-mail: fazly@hc.comcor.ru*

²*Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

³*Department of Physics, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

In this review we expound the main known facts of the flow-induced alterations in the blood coagulation system. Also, we discuss the hypotheses explaining different regimes of the coagulation system functioning and typical problems emerging in this kind of research. As was shown experimentally, the flow decreases the size of the forming clot and the dependence of the clot appearing time on the flow shear rate has a threshold. This kind of the coagulation system behavior was predicted in a simple model of zymogene and enzyme catalyzing its activation on the surface of a membrane. However, it remains unknown, convection of which factors causes a particular regime of the coagulation system functioning. There is experimental evidence that the flow can enhance the production of factor Xa by extrinsic tenase owing to the additional supply of inactive factor X and removal of active factor Xa, thus releasing the active sites of tenase. This should result in procoagulant activity of the flow, which is contrary to the other experimental data. Mathematical modeling of fibrin polymerization process in the presence of flow showed that rapid flow can stop clot growth due to the removal of fibrin monomers unincorporated in the fibrin network. However, there is a general problem: all the data obtained with the help of mathematical models, especially with the models with detailed description of coagulation system, are difficult to analyze, as the assumptions of such models are complicated and the experimental confirmation often lacks. Nevertheless, cooperation of detailed, mechanism-driven models of coagulation with the experimental verification is able to elucidate the mechanisms determining the behavior of the blood coagulation system in the presence of the flow.

*Correspondence should be addressed to F.I.A. at the National Research Center for Hematology .