

ОБЗОРЫ АКТУАЛЬНЫХ ПРОБЛЕМ

Особый класс автоволн — автоволны с остановкой — определяет пространственную динамику свертывания крови

Ф.И. Атауллаханов, В.И. Зарницына, А.Ю. Кондратович,

Е.С. Лобанова, В.И. Сарбаш

Рассмотрены два новых автоволновых режима, обнаруженных в моделях свертывания крови: автоволны с периодически изменяющейся амплитудой; волны, распространяющиеся сначала как классические автоволны, с постоянной скоростью и амплитудой, а затем на достаточно большом расстоянии от места активации резко останавливающиеся. При этом в зависимости от параметров волна может затухнуть или превратиться в стационарный локализованный в пространстве пик. Анализ моделей свертывания позволяет предположить, что кровь является активной средой с очень необычными свойствами.

PACS numbers: 05.45. –а, 87.10 + е, 87.19.Uv

Содержание

1. Введение (671).
 - 1.1. Простой пример. 1.2. Автоволны. 1.3. Диссипативные структуры. 1.4. Бистабильность. 1.5. Итоги рассмотрения простейшего примера.
 2. Молекулярные основы свертывания (676).
 - 2.1. Образование сгустка — образование полимеров фибрина.
 - 2.2. Активация свертывания может происходить двумя путями. Внешний и внутренний пути свертывания и их роль. 2.3. Кинетические особенности молекулярных процессов свертывания.
 - 2.4. Гомогенная кинетика свертывания крови.
 3. Феноменологическая модель (681).
 4. Динамика роста тромба *in vitro* (683).
 5. Гипотеза о переключении активности тромбина. Новая модель (684).
 - 5.1. Биохимические предпосылки, положенные в основу гипотезы. 5.2. Анализ механизменной модели свертывания.
 6. Заключение (688).
- Список литературы (689).

Ф.И. Атауллаханов, В.И. Зарницына, А.Ю. Кондратович, В.И. Сарбаш. Гематологический научный центр РАМН 125167 Москва, Новозыковский пр. 4а, Российская Федерация
Тел. (095) 212-55-31
Факс (095) 212-88-70
E-mail: fazli@bioscience.msk.su

Е.С. Лобанова. Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, физический факультет 119899 Москва, Воробьевы горы, Российская Федерация
Тел. (095) 212-35-22
Факс (095) 212-88-70
E-mail: katja@blood.ru

Статья поступила 15 августа 2001 г.,
после доработки 12 ноября 2001 г.

1. Введение

Нелинейные реакционно-диффузионные системы демонстрируют огромное богатство динамического поведения и различных видов самоорганизации. Возможность протекания химических реакций в среде с диффузией означает наличие источника энергии в каждой точке пространства. Такие системы принято называть *активными средами*. Их поведение может фантастически отличаться от поведения обычных физических сред. При этом протекающие в системе процессы могут иметь различную природу, не обязательно химическую. Наиболее известный физический пример — лазер. Помимо химических реакций для создания активной среды здесь может использоваться электрический разряд в газах, облучение газа или кристалла светом, бомбардировка электронным пучком и другие способы "накачки" энергии извне. Однако рассмотрение процессов в таких системах приводит к тому же классу уравнений, которые используются для описания нелинейных реакционно-диффузионных систем. За последние 40 лет было предложено множество математических моделей, описывающих различные физические [1–6], химические [7–10], биологические [11–16] и даже социальные системы [17], которые позволили выявить ряд общих закономерностей, характерных для активных сред. Эти исследования привели по сути к созданию новой области науки — нелинейной динамики, охватывающей практически все современное естествознание.

Системы типа "реакция–диффузия" описываются параболическими уравнениями

$$U_t = DU_{xx} + F(U). \quad (1)$$

Здесь U — вектор, D — диагональная матрица коэффициентов диффузии, $F(U)$ — функция, описывающая химические или физические процессы. В дальнейшем

нам часто будет удобно говорить о функции $F(U)$ как о "химической", хотя на самом деле это не предполагает каких-то реальных химических требований к этой функции и не снижает общности рассмотрения.

Представление о поведении "химической" части системы дает рассмотрение частного случая, когда нет диффузионных членов. Тогда система уравнений (1) превращается в систему обыкновенных дифференциальных уравнений (2), которая описывает поведение системы в "точке", т.е. в такой маленькой области пространства, где диффузия успевает усреднить все концентрации:

$$\dot{U} = F(U). \quad (2)$$

Это легко экспериментально реализуемая ситуация: достаточно реакционную среду подвергнуть интенсивному перемешиванию, и "точка" увеличивается до размеров обычной "лабораторной посуды". Поэтому для системы (2) существует два разных названия: *система в точке* (точечная система) или *система полного перемешивания*.

1.1. Простой пример

Анализ моделей разнообразных реакционно-диффузионных систем показал, что многие типы поведения таких систем можно описать довольно простой моделью. Мы этим воспользуемся, чтобы описать основные явления, имеющие место в активных средах, абстрагировавшись от деталей и особенностей какой-нибудь одной реальной физической или химической активной среды. Такая модельная среда состоит из двух химических компонент, часто называемых *активатор* и *ингибитор*, свободно диффундирующих в одно-, двух- или трехмерном пространстве. Как правило, активатор способен ускорять свое собственное производство; такие реакции называют *автокаталитическими*. Наличие автокатализа приводит в систему сильную нелинейность.

Рассмотрим ряд основных свойств систем "реакция – диффузия" на примере одной из простейших — модели типа ФитцХью – Нагумо (ФХН) [18–20]. Похожих моделей описано множество. Все они обладают большим сходством в поведении. Большая часть излагаемых в этом разделе сведений известна из учебников и может быть пропущена подготовленным читателем. Мы включили в нашу работу краткое изложение общих сведений, поскольку считаем полезным сопоставление поведения системы свертывания крови с простейшей моделью активной среды.

Характерной особенностью модели ФХН и ей подобных является кубическая нелинейность при задании реакционной функции для первой переменной и линейная зависимость во втором уравнении:

$$\frac{\partial u}{\partial t} = D_u \frac{\partial^2 u}{\partial x^2} + f(u) - v, \quad (3)$$

$$\frac{\partial v}{\partial t} = \varepsilon \cdot (u - av + b),$$

где $f(u) = -u(u-1)(u-n)$, $0 < n < 1/2$ (см. [20]), а ε — малый параметр.

Эта модель является, с одной стороны, развитием известной модели Колмогорова – Петровского – Писку-

нова [21], а с другой стороны — упрощением модели Ходжкина – Хаксли, описывающей распространение импульсов в нервном волокне [22]. Считается, что уравнения типа ФитцХью – Нагумо могут описывать распространение импульсов в нервном волокне и по волокнам сердечной мышцы, а также в электронных нейристорных схемах [1]. Рассматриваемая система не вполне соответствует понятию реакционно-диффузионных систем, поскольку переменные модели могут принимать отрицательные значения, тогда как отрицательных концентраций не бывает. Отметим, что отрицательность "концентраций" не влияет на качественное поведение системы. Выбрав другие корни функции $f(u)$, мы можем сдвинуть диапазон изменения значений переменных модели в положительную область.

Фазовая плоскость рассматриваемой точечной системы ФХН (3) показана на рис. 1. Одна из изоклин имеет И-образный вид. Системы с такой изоклиной или с ее аналогами, получающимися при ее повороте на 90° , или зеркальных отражениях, по-видимому, есть простейшие системы, динамика которых не сводится к локальному поведению вблизи особых точек. Изоклины в таких системах могут пересекаться в одной, двух или трех особых точках. Если точка пересечения одна, как показано на рис. 1, и она находится на одной из нисходящих ветвей изоклины, в системе есть единственное устойчивое стационарное состояние типа узла или фокуса. Это простейший случай, но даже в этом случае наблюдаются сильные нелокальные эффекты. В системе с И-образной изоклиной наблюдается пороговое поведение, может генерироваться импульс, амплитуда и форма которого практически не зависят от начального возмущения.

1.2. Автоволны

В пространственном случае (см. систему (3)) так же, как в "точечном", существует единственное стационарное состояние, которое изотропно и совпадает со стационарным состоянием "точечной" системы.

Если возмутить некоторую небольшую область такой среды, мы получим ответы, похожие на ответы точечной системы (см. рис. 1). В системе есть порог — величина возмущения, при превышении которого система качественно меняет свой ответ. В допороговой области возмущение ведет себя традиционно: отклонение пропорционально возмущению и быстро диссипирует после снятия возмущения. При превышении порога поведение резко меняется: рождается "автоволна" — один из наиболее хорошо изученных динамических объектов в активных средах [1, 13]. В ответ на запороговое увеличение переменной v на левой границе отрезка ее концентрация проваливается вниз и в системе формируется импульс, очень похожий на импульс в "точечной" системе (см. рис. 1 и рис. 2). Благодаря диффузии этот импульс начинает распространяться в пространстве. На рисунке 2 показан одномерный случай. Но точно такой же вид имеет одномерное сечение в случае любой размерности пространства. Решение в виде движущегося импульса является в некотором смысле стационарным. При данных значениях параметров и при надпороговом возмущении в системе возникает волна, которая распространяется в пространстве с постоянной амплитудой и скоростью.

Она отличается от волн в более привычных для классической физики пассивных или консервативных

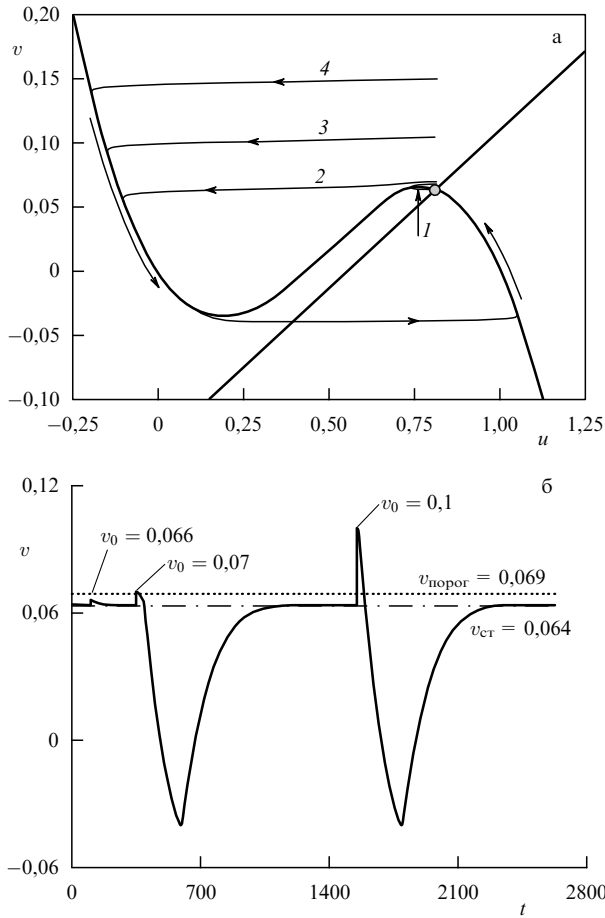


Рис. 1. Фазовый портрет системы ФХН (а) в случае единственного устойчивого стационарного состояния и кинетика ответов системы на возмущения (б). В системе (3) имеется единственная стационарная точка — устойчивый узел ($\varepsilon = 0,001$, $a = 4$, $b = -0,55$, $n = 0,4$). Рассмотрим возмущение, состоящее в увеличении скачком стационарного значения по переменной v . Если это возмущение не превышает некую пороговую величину, которая в данном случае равна 0,069, то начальное возмущение быстро затухает. Ответ системы на увеличение v до 0,066 показывает кривая 1 на (а). Его трудно рассмотреть на этом рисунке. Он лучше виден на зависимости этой переменной от времени (б). Если же возмущение превышает величину порога и, например, равно 0,07, то возвращение в стационарную точку происходит по траектории, изображенной кривой 2 (а). Эта траектория мало зависит от величины возмущения, а определяется в основном формой И-образной изоклины. Сравните кривые 2, 3 и 4, для которых начальное возмущенное значение v равно 0,07, 0,10 и 0,15 соответственно. На (б) показана зависимость переменной v от времени для трех начальных возмущений, два из которых превышают пороговое значение. Они соответствуют начальным возмущениям, показанными на (а) кривыми 1, 2 и 3 соответственно. Видно, как сильно изменяется кинетика системы при превышении порога и как слабо зависит по форме и амплитуде ответ системы от величины возмущения при дальнейшем увеличении амплитуды надпорогового возмущения.

средах тем, что распространяется без затухания до границ среды, практически не зависит от начальных условий и вообще ведет себя необычно [13, 23–25]. Столкновение двух таких автоволн, как правило, приводит к аннигиляции: обе волны гибнут [23–25]. Для автоволн никогда не наблюдается интерференция — аддитивные взаимодействия. Иногда автоволны при столкновении не аннигилируют, а отражаются друг от друга или ведут себя еще более сложно [26–32]. В двух-

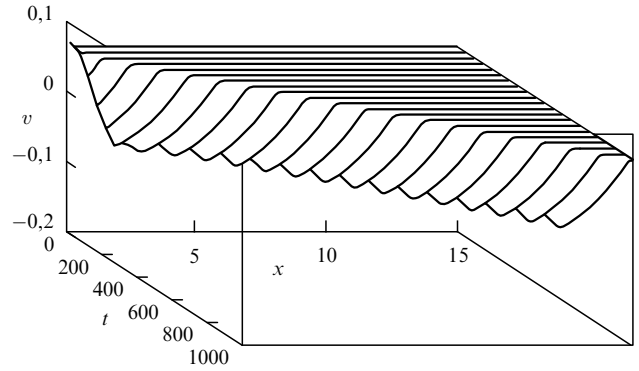


Рис. 2. Распространение автоволны. Локальное запороговое повышение концентрации второй переменной до значения 0,07 вблизи левой границы отрезка (см. рис. 1а, б) приводит к формированию бегущего импульса. В ответ на увеличение концентрации переменной v ее концентрация сначала резко уменьшается, а затем возвращается к стационарному состоянию. Форма ответа по обоим переменным в каждой точке пространства похожа на ответ гомогенной системы при тех же параметрах. Это изменение концентраций распространяется в пространстве в виде волны. Все параметры волны — амплитуда и форма импульса, а также скорость движения в пространстве — постоянны в течение всего процесса распространения. Параметры модели те же, что и на рис. 1, $D_u = 0,001$. Интервал по времени между профилями равен 50.

трехмерных пространствах автоволны, закручиваясь в спираль, способны создавать устойчивые "вечные" источники автоволн. Об автоволнах в активных средах написано много хороших книг и обзоров [1, 13, 23, 24, 33], поэтому мы не будем дальше задерживаться на них.

Добавим в ранее рассмотренную модель ФХН диффузию ингибитора:

$$\frac{\partial u}{\partial t} = D_u \frac{\partial^2 u}{\partial x^2} + f(u) - v, \tag{4}$$

$$\frac{\partial v}{\partial t} = D_v \frac{\partial^2 v}{\partial x^2} + \varepsilon \cdot (u - av + b),$$

где $f(u) = -u(u - 1)(u - n)$.

Решение в виде бегущего импульса, или автоволны, существует и в случае, если ингибитор диффундирует, но коэффициент его диффузии не больше коэффициента диффузии активатора. Это условие не строгое, однако по сути автоволновое решение всегда требует, чтобы ингибитор распространялся медленнее, чем активатор. Если же мы предположим, что ингибитор диффундирует много быстрее активатора, то мы можем наблюдать еще один нетривиальный феномен — самоорганизацию пространственных структур.

1.3. Диссипативные структуры

Эти структуры были открыты Тьюрингом в 1952 г. [11], а образующиеся структуры были названы *тьюринговскими диссипативными структурами* или просто *тьюринговскими структурами*. Было показано, что при выполнении ряда условий на правые части модели (1) стационарное пространственно-однородное распределение переменных, определяемое положением устойчивого стационара точечной модели, при добавлении диффузионных членов теряет свою устойчивость. В линейном приближении возникает неустойчивость седлового типа и нарастание возмущений определенного вида.

Изменим параметры модели так, чтобы единственная особая точка стала устойчивым фокусом и принадлежала ветви изоклины первого уравнения с положительной производной по активатору ($\varepsilon = 0,01$, $b = -0,48$). Такие параметры позволяют удовлетворить необходимым условиям бифуркации Тьюринга. Соответствующая точечная модель при данных значениях параметров имеет единственную особую точку — устойчивый фокус. Слабое возмущение начального пространственно-однородного распределения, соответствующего значениям особой точки, приводит к нарастанию возмущений по механизму Тьюринга и формированию диссипативных структур (рис. 3а). На рисунке 3б приведены установившиеся пространственные распределения активатора и ингибитора.

В исходно изотропной системе, при небольшом изменении параметра, возникают пространственные структуры — происходит самоорганизация. Почему области повышенной концентрации вещества (см. рис. 3) могут устойчиво существовать в среде со свободной диффузией? Это возможно благодаря тому, что "активатор" ускоряет собственное производство, компенсируя потери за счет диффузионного оттока вещества, а ингибитор, благодаря значительно большему коэффициенту диффузии, способен "локализовать" область пространства, в которой существует высокая концентрация активатора. Значительно большая скорость диффузии ингибитора — принципиальное условие самоорга-

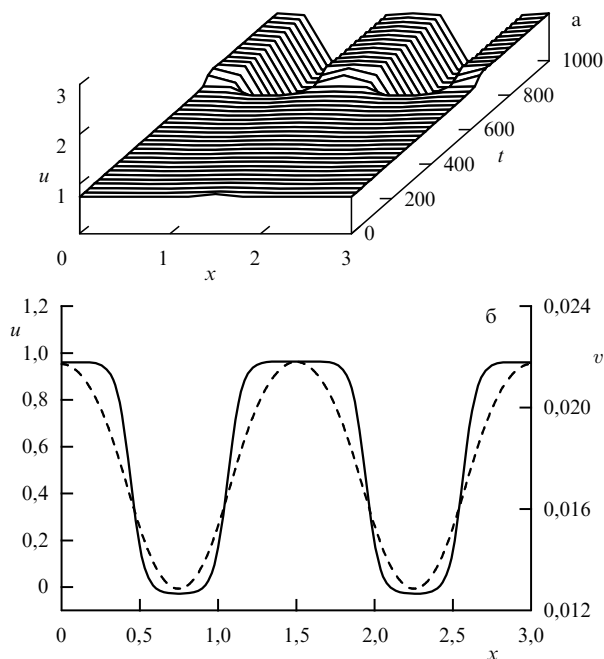


Рис. 3. Диссипативные структуры в модели ФХН (система (4)). (а) Процесс образования тьюринговской структуры по первой переменной модели; (б) установившиеся к $t = 1000$ пространственно-неоднородные распределения концентраций обеих переменных для модели (4) (сплошная линия — активатор u , штриховая — ингибитор v). Используемые значения параметров для модели (4): $\varepsilon = 0,01$, $a = 4$, $b = -0,48$, $n = 0,4$, $D_u = 0,001$, $D_v = 0,07$. Задача рассматривалась на отрезке $L = 3$. Начальные условия были заданы небольшим локальным возмущением в центре отрезка по первой переменной. Все остальные точки пространства находились в стационарном состоянии, соответствующем особой точке системы $u = 0,742$, $v = 0,065$.

низации в таких средах. Работа Тьюринга послужила основой большого спектра разнообразных исследований механизмов самоорганизации в природе [1, 8, 34].

В системе (3) без диффузии может наблюдаться режим незатухающих колебаний (автоколебания). Они возникают, когда единственная особая точка лежит на восходящей ветви кубической И-образной изоклины. При наличии диффузии автоколебательному режиму соответствуют сложные осцилляции в пространстве и разнообразные феномены синхронизации. В данной работе мы их касаться не будем.

1.4. Бистабильность

В системах (3), (4) без диффузии может существовать до трех особых точек. Случай двух особых точек соответствует случаю касания изоклин и является негрубым. Если же особых точек три, то, как правило, две из них устойчивы. Третья особая точка — седло — находится между ними (рис. 4а). Такую среду называют *бистабильной* — в ней сосуществуют два устойчивых стационарных состояния. Каждое из этих состояний имеет свою область притяжения. Границей между двумя этими обла-

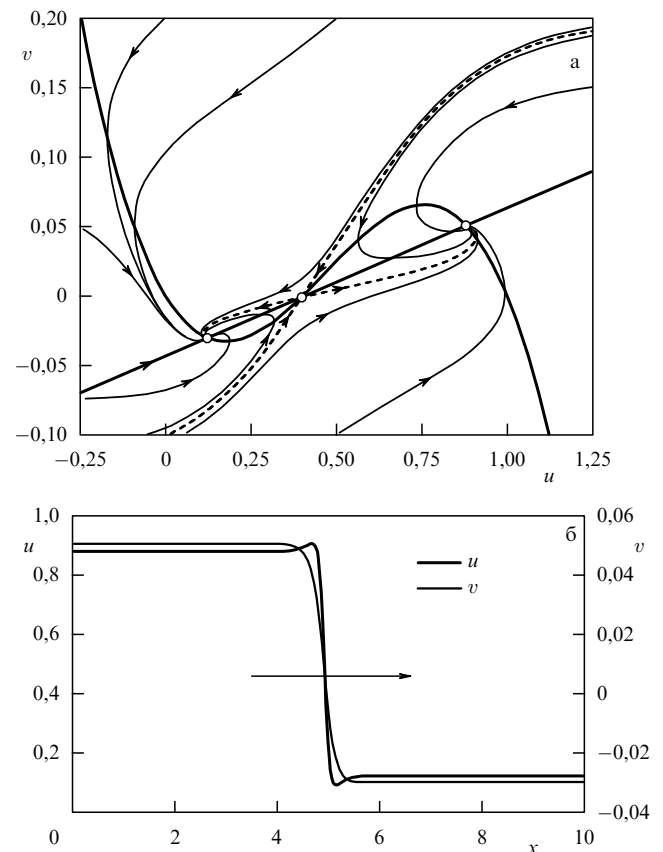


Рис. 4. Случай бистабильности: фазовый портрет (а), волна переключения (б). На (а) приведен фазовый портрет системы (3) без диффузии в случае трех особых точек ($\varepsilon = 0,02$, $a = 9,3995$, $b = -0,405$, $n = 0,4$); здесь изображены изоклины первого и второго уравнения (3) и фазовые траектории. Штриховыми линиями показаны сепаратрисы седла. Координаты особых точек: верхней точки — $(0,88; 0,051)$; нижней точки — $(0,12; -0,0299)$; промежуточной точки — $(0,395; -0,001)$. На (б) показано, что при добавлении диффузии мы можем получить волну переключения нижнего устойчивого состояния в верхнее ($\varepsilon = 0,02$, $a = 9,3995$, $b = -0,405$, $n = 0,4$, $D_u = 0,001$, $D_v = 0,005$).

стями притяжения являются входящие сепаратрисы седла (рис. 4а — штриховые линии). Осуществляя старт с разных начальных условий, т.е. из разных областей фазовой плоскости, можно попасть либо в верхнее, либо в нижнее состояние (рис. 4а).

При "включении" диффузии активатора и ингибитора, при соответствующих значениях параметров и соотношении коэффициентов диффузии в системе могут сосуществовать два устойчивых пространственно-однородных состояния. Каждое состояние характеризуется своим порогом. Это величина возмущения, выше которого система уже не возвращается в исходное состояние, а переходит в другое: происходит "переключение". Глядя на рис. 4а, легко понять, что порог — понятие нечеткое. Величина возмущения, которое нужно приложить к системе, чтобы она не вернулась в исходное состояние, зависит от того, в каком направлении на фазовой плоскости мы будем возмущать систему, т.е. порог зависит от того, какой комбинацией возмущений обеих переменных мы воздействуем на систему. Граница области притяжения того или иного состояния в фазовом пространстве точно определяет величину возмущения. Тем не менее понятие порога удобно в силу простоты и наглядности.

В такой среде можно возбуждать волны переключения из одного стационарного состояния в другое. Хорошим физическим аналогом таких волн являются волны фазового перехода. При этом для бистабильных систем с кубической нелинейностью работает следующее правило: система стремится оказаться в пространственно-однородном состоянии с большим порогом. В некотором смысле больший порог эквивалентен более глубокой потенциальной яме. Хотя эти системы не консервативны и потенциал для них особого смысла не имеет, наблюдается явная аналогия [35–37].

При взаимном положении изоклин, изображенном на рис. 4а, порог верхнего (дальнего от нуля) стабильного состояния больше порога нижнего состояния (ближнего к нулю), и в системе можно возбудить волну (рис. 4б) переключения нижнего состояния в верхнее. Для этого нужно часть пространства возмутить выше порога. Распространяющаяся волна переводит весь пространственный отрезок из нижнего состояния в верхнее. Сдвинув координаты седловой точки вправо, мы получим ситуацию, когда порог нижнего состояния оказывается больше порога верхнего состояния и может быть возбуждена волна, переключающая верхнее состояние в нижнее.

Это правило работает не всегда. При уменьшении параметра ε , т.е. при большем замедлении ингибитора в бистабильных средах с диффузией, можно наблюдать интересное явление [24], известное сейчас в западной литературе под названием *неравновесной бифуркации Блоха–Изинга* [37]. При одних и тех же значениях параметров ниже этой бифуркации специальным подбором начальных условий можно возбудить как волну, переключающую верхнее состояние в нижнее, так и волну, переключающую нижнее состояние в верхнее. Исследование этой бифуркации [37] и поведения системы типа ФХН ниже этой бифуркации в двумерном случае можно найти в работах [38–41].

Особенности распространения волн переключения похожи на закономерности распространения автоволны — фронт движется с постоянной скоростью.

Взаимодействующие фронты переключения, сталкиваясь, как правило, аннигилируют. В некоторых ситуациях они могут отталкиваться [37], образовывать в результате взаимодействия автоволну [37, 41] или стационарный пик [37].

Особый интерес представляет возникновение стационарного пика. Он может образовываться, если скорости сталкивающихся волн малы. Например, на рис. 5 показан профиль стационарного пика, полученного в результате взаимодействия двух волн выключения. Такое неизотропное распределение вещества кажется удивительным. В чем-то оно похоже на структуры Тьюринга. Но в тьюринговском случае все пространство заполнено структурами, и создается впечатление стоячей волны. В данном же случае это — одиночный пик. Конечно, и в случае тьюринговских структур можно получить один пик, если взять достаточно короткий отрезок. Но стационарный пик, показанный на рис. 5, от длины отрезка не зависит. Такой одиночный пик может возвышаться на "равнине", превышающей его размеры в десятки и более раз. Его параметры — амплитуда и ширина распределения переменных в пространстве — при достаточно больших по сравнению с размером пика величинах отрезка не зависят от размеров среды. Создается впечатление, что пик стабилизирован тем, что ингибитор распределен в пространстве шире и не дает распространяться активатору. Заметим, что пики могут быть получены и в моностабильной среде [1].

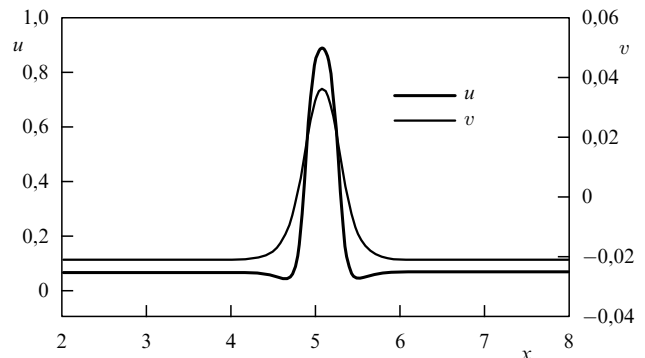


Рис. 5. Профиль активатора и ингибитора установившегося стационарного пика, полученного в результате взаимодействия двух волн, переключающих верхнее состояние в нижнее. Параметры: $\varepsilon = 0,02$, $a = 9,3995$, $b = -0,2637$, $n = 0,4$, $D_u = 0,001$, $D_v = 0,005$.

1.5. Итоги рассмотрения простейшего примера

Все три рассмотренных класса динамического поведения — автоволны, диссипативные структуры и бистабильность — невозможны в линейных системах. Они возникают в результате того, что нелинейность создает в фазовом пространстве области неустойчивости, в которых система стремится уйти от равновесия. В простейшем рассмотренном нами случае эта область формируется возрастающим участком И-образной изоклины. Такое поведение связано с самоускоряющимися процессами, с тем, что система "усиливает" возмущение. Ограничимся приведенными выше основными сведениями о классических активных средах и перейдем к новому примеру — основной теме нашей работы.

Цель нашей работы — анализ механизмов, лежащих в основе экспериментально наблюдаемого характера

роста фибринового сгустка, а именно движения автоволны с последующей резкой остановкой. Выше мы рассмотрели простейший пример из теории активных сред. Из дальнейшего сопоставления будет видно, что общего имеет процесс свертывания с процессами, возможными в ранее описанных активных средах, а в чем он выходит за рамки классических представлений и требует развития новых концепций в теории нелинейных динамических систем.

Гипотеза об автоволновой природе свертывания. Исследование свертывания крови показало, что этот процесс обладает многими свойствами, характерными для активных сред [34, 35]. Генерация активных факторов, ведущих к образованию тромба, может происходить во всех точках пространства. Каскад химических реакций в системе свертывания охвачен положительными обратными связями, что ведет к сильной самоактивации процесса. Налицо все компоненты, необходимые для автоволнового роста тромба. Однако есть и явное различие: образующийся тромб никогда не растет до бесконечности. В норме процесс всегда локализован в пространстве.

Наши исследования свертывания крови привели нас к гипотезе, согласно которой кровь является *активной средой нового типа* [42–47]. В этой среде могут генерироваться классические автоволны, но могут существовать и волны, которые хоть и похожи на классические автоволны, но, в отличие от последних, не распространяются до границ, а останавливаются на некотором расстоянии от места возмущения [44, 57]. Математические модели, формализующие наши представления о свертывании, описывают активную среду, в которой наряду с известными объектами активных сред могут существовать новые динамические и стационарные объекты. Так, было обнаружено существование и распространение автоволн с меняющейся амплитудой [44, 57], возникновение кольцевых структур и "пятен" — стационарных неизотропных распределений концентраций веществ в пространстве [48–51]. Аналогичная работа по расширению наших представлений об активных средах идет и на примере других модельных [52–63] и экспериментальных систем [64–72]. Оказалось, что мы только теперь начинаем понимать, как мало мы знаем о возможных типах динамического поведения систем с наличием источников энергии в каждой точке пространства.

Мы полагаем, что система свертывания не уникальна. Похожие механизмы могут оказаться ответственны за необычные феномены как в биологии [15, 16, 73–78], химии [79–86], так и в физике [66–70, 72]. Поэтому мы считаем, что результаты исследования пространственной динамики свертывания крови, излагаемые в данной работе, могут оказаться интересны широкому кругу представителей естественных наук.

2. Молекулярные основы свертывания

2.1. Образование сгустка — образование полимеров фибрина

Как происходит процесс образования тромба? При повреждении мелких кровеносных сосудов остановка кровотока в норме происходит через 1–3 мин. Этот первичный гемостаз определяется сужением сосудов и образованием на месте повреждения первичного

тромба — агрегата одного из видов клеток крови, тромбоцитов. Дальнейшее создание плотного сгустка (вторичный гемостаз), надежно закрывающего место повреждения, обусловлено появлением белка фибрина. Полимеризация фибрина быстро приводит к образованию плотного геля, составляющего основу тромба. В нормальной, "жидкой" крови фибрина нет. Зато много его предшественника — фибриногена, из которого образуется фибрин в результате отщепления от него небольших фрагментов. Этот процесс показан на рис. 6а. Фермент тромбин расщепляет четыре пептидные связи, отщепляя четыре небольших фрагмента: фибринопептиды А и В. Оставшиеся после такого отщепления мономеры фибрина быстро полимеризуются в длинные разветвленные цепочки (рис. 6б). Таким образом, в зоне повреждения возникает сеть фибриновых полимеров, и вся среда переходит в новое, "твердое" агрегатное состояние — гель. Хорошо знакомое нам в быту состояние, которое в кулинарии было переведено с французским "акцентом", — "желе". Клетки крови оказываются заключены в фибриновую сеть. Все вместе образует тромб, закрывающий поврежденную часть сосуда. После образования геля довольно быстро происходят биохимические реакции, создающие поперечные сшивки между нитями полимеров фибрина. Это превращает сгусток в настоящее твердое тело.

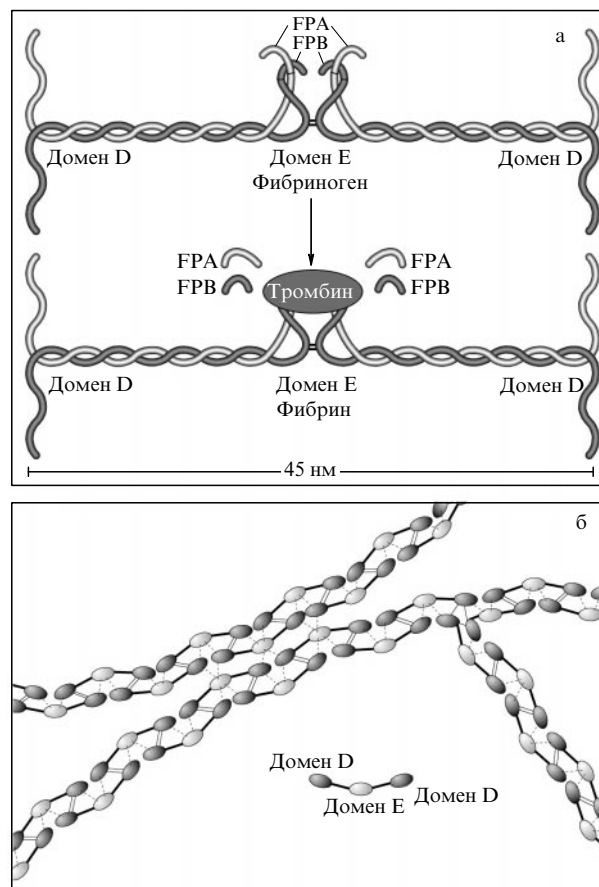


Рис. 6. Образование полимера фибрина. (а) Отщепление от фибриногена фибринопептидов А и В (FPA, FPB) под действием тромбина; (б) последующая полимеризация фибрин-мономеров в длинные разветвленные цепочки. [По: Mosesson M W J. *Lab. Clin. Med.*, 1990, с упрощениями.]

Фермент, вызывающий превращение фибриногена в фибрин, естественно, не существует в крови в активной форме. В крови циркулирует его предшественник — протромбин. Активация протромбина, как и фибриногена, происходит в результате химического отщепления небольшого фрагмента. Существует довольно сложная система биохимических реакций, которая обеспечивает "правильную" регуляцию работы системы: ее активацию при повреждении сосуда, правильную пространственно-временную динамику роста тромба и его остановки.

Основная задача, которую мы будем рассматривать, — это то, как и кем решается вопрос "быть или не быть" крови жидкой в той или иной области кровеносной системы. Почему кровь в нормально функционирующем организме жидкая, а если где-то произошло повреждение сосуда, то там "включаются" соответствующие реакции и образуется твердый сгусток? Что и как определяет размеры и локализацию этого сгустка?

2.2. Активация свертывания может происходить двумя путями. Внешний и внутренний пути свертывания и их роль

На рисунке 7 приведена схема реакций свертывания [86]. Основные факторы свертывания обозначены римскими цифрами. Все они являются белками, существующими в крови в виде неактивных предшественников. Практически все они активируются так же, как фибриноген или протромбин, — отщеплением небольшого фрагмента молекулы. На рисунке 7 активированные факторы обозначены индексом *a*. Согласно схеме, в ответ на повреждение факторы свертывания активируют друг друга в

каскадной последовательности реакций. Например, тромбин активируется вышестоящим фактором каскада, фактором X_a . Традиционно выделяют два пути активации свертывания, ведущие к образованию фактора X_a . Внутренний путь свертывания — это длинная цепочка реакций, которая начинается с фактора XII. Другой путь, внешний, начинается с тканевого фактора, или тромбопластина, — белка, находящегося на поверхности практически всех клеток нашего организма, за исключением клеток, образующих внутреннее покрытие нормальных сосудов, — клеток сосудистого эндотелия.

Активация свертывания начинается, если где-то повреждено внутреннее покрытие сосуда и кровь пришла в контакт с клетками, несущими на своей поверхности тромбопластин (см. рис. 7). Это — активация по главному, внешнему пути. Хорошо известно, что практически всегда в организме при повреждении сосудов свертывание происходит именно по этому пути. Этот путь дает быструю (1–2 мин) и сильную активацию свертывания. Как видно из рис. 7, свертывание может быть также запущено при активации фактора XII, по внутреннему пути свертывания. Фактор XII всегда присутствует в крови (поэтому этот путь и называется внутренним) и может быть активирован контактом со многими инородными для организма материалами, например стеклом. Внутренний путь принято считать "запасным". Активация свертывания по этому пути значительно слабее, и начинается она позже — через 7–10 мин после инициации. Однако уже давно известно, что при недостатке (дефиците) факторов "запасного", внутреннего пути у людей наблюдается кровоточивость —

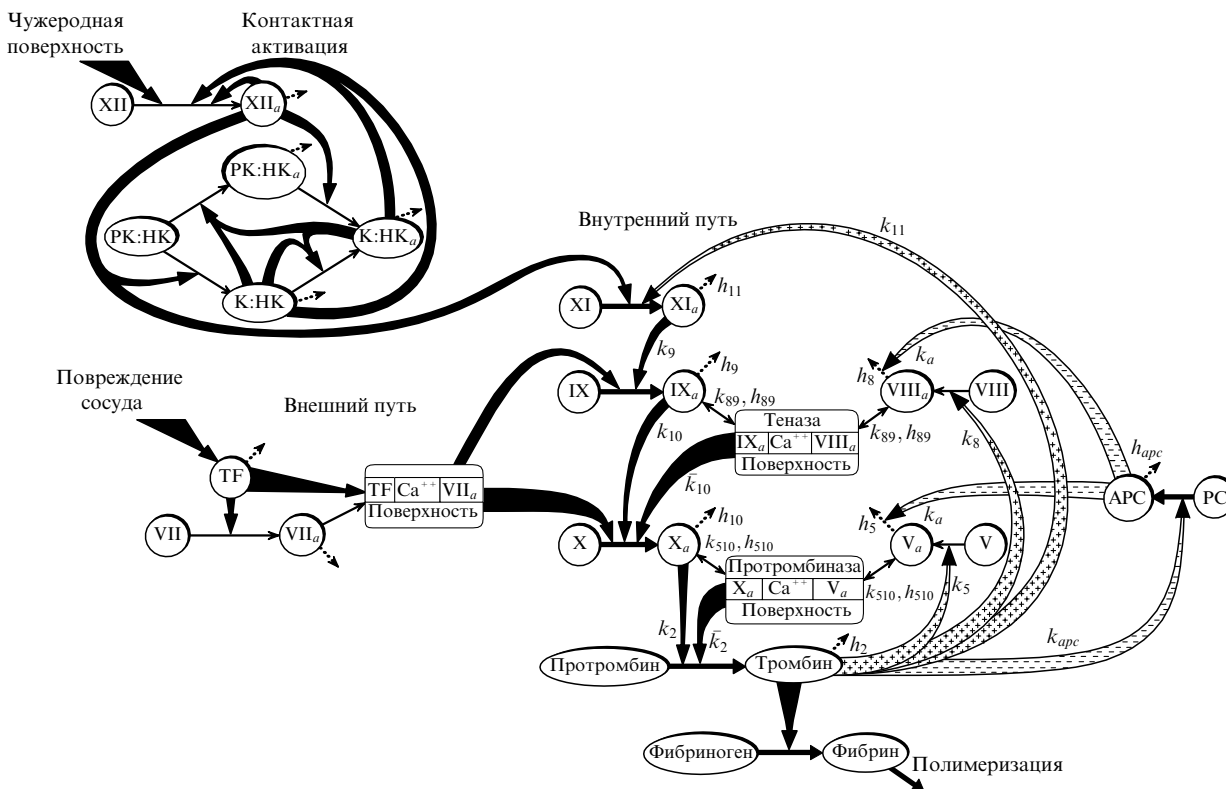


Рис. 7. Биохимическая схема реакций свертывания. Римскими цифрами обозначены предшественники факторов свертывания, индекс *a* обозначает активные формы факторов. APC — активированный протеин С и TF — тканевый фактор. Стрелки со знаками + и - показывают положительные и отрицательные обратные связи соответственно. Точечные стрелки соответствуют утечке активных факторов при ингибировании. *k* и *h* — константы скоростей реакций и инактивации факторов соответственно.

кровь свертывается плохо. И это несмотря на то, что "главный путь" выглядит совершенно нормальным.

Болезни, возникающие из-за нарушения свертывания, называются *гемофилиями*. Часто они являются наследственными. Одна из разновидностей гемофилии — широко распространенная гемофилия А, дефицит фактора VIII, довольно известна, о ней слышаны многие далекие от медицины люди, поскольку эта болезнь передавалась из поколения в поколение у королевских династий Европы. Именно ею страдал последний наследник царского престола России. Почти так же широко распространена гемофилия В, связанная с дефицитом фактора IX, тоже элемента "запасного" пути. Клинические проявления этих двух гемофилий очень похожи.

Один из вопросов, существующий в этой науке очень давно, состоит в следующем: почему дефициты факторов, которые стоят на "запасном" пути, вообще влияют на свертывание? Есть главный, внешний путь, по которому эффективно запускается свертывание в случае повреждений. Почему же кровь плохо свертывается у людей с дефицитами факторов внутреннего, "запасного" пути, ведь у них главный, внешний путь работает нормально? Ниже мы попробуем ответить на этот вопрос.

2.3. Кинетические особенности молекулярных процессов свертывания

Каскады ферментативных реакций очень широко распространены в биологии. Их можно встретить во многих системах — и в клетке, и вне ее. Химически эти каскады состоят либо из протеолитических ферментов типа каскада реакций свертывания, либо из ферментов, фосфорилирующих другие ферменты, называемых *протеинкиназами*.

Рассмотрим основные свойства каскада биохимических реакций свертывания. Схематически такой каскад изображен на рис. 8.

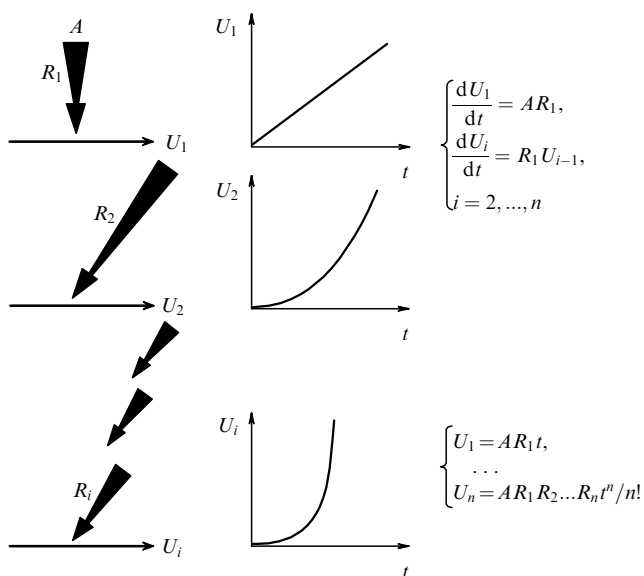


Рис. 8. Кинетика изменения концентраций активных факторов (U_i), образующихся на разных ступенях ферментативного каскада реакций.

Кинетика изменения концентраций активных факторов такого ферментативного каскада в ответ на любое возмущение, естественно, сильно нелинейна. Для каскадной цепочки реакций было показано, что на начальном этапе ($t \rightarrow 0$) рост концентрации продукта, стоящего в нижней части каскада, описывается степенной функцией вида t^p , где показатель p равен числу ступеней в каскаде [87]. Это связано с тем, что на каждой ступени каскада образуется фермент. Одна молекула фермента ежесекундно производит множество молекул своего продукта. Каждая молекула продукта в каскаде — это тоже фермент, который в свою очередь производит массу своего продукта, и т.д. Каскад является мощным усилителем с нелинейными свойствами. Энергия для такого усиления обеспечивается за счет протекающих химических реакций. Такой линейный каскад реакций будет иметь два стационарных состояния — нулевое и полностью активированное. Нулевое состояние неустойчиво: достаточно сколь угодно малой флуктуации входного сигнала, чтобы все покатило к полностью активированному состоянию. А это означает, что кровь свернулась полностью.

Эти свойства каскада (способность к самоускорению и возникновение неустойчивости) "роднят" свертывание и активные среды. Способность усиливать возмущение создает предпосылки для формирования важнейшего свойства свертывания — порогового характера ответа системы на активацию. При малой допороговой активации кровь остается жидкой, что обеспечивает защиту организма от образования спонтанных сгустков. Как и в простейшем примере, рассмотренном во введении, для того, чтобы свертывание вело себя "пороговым образом", чтобы возникла бистабильность и оба состояния крови, жидкое и твердое, были устойчивы, нужны ингибиторы, нужны процессы, прекращающие самоускоряющиеся процессы. И они, конечно, в системе есть. Мы поговорим о них ниже.

Сеть реакций свертывания крови охвачена сильными положительными обратными связями. В случае свертывания крови, чтобы сформировать бистабильность, природа не ограничилась только нелинейными свойствами ферментативного каскада. Эти свойства многократно усилены за счет мощных положительных обратных связей. На рисунке 7 можно видеть, что факторы VIII и V стоят несколько обособленно. Они не являются непосредственными элементами каскада и не обладают ферментативной активностью. Это кофакторы, эффекторы, которые резко, на несколько порядков, увеличивают активность факторов IX и X. Кофакторы VIII и V тоже исходно неактивны и активируются тромбином. Это приводит к возникновению петель положительной обратной связи в системе. На схеме они показаны стрелками с плюсиками внутри. Благодаря этому механизму тромбин в 10^5 раз ускоряет собственное производство.

Экспериментально было показано, что тромбин может также активировать еще и фактор XI [88, 89], находящийся в верхней части, в "голове" каскада. Это — еще одна петля положительной обратной связи в системе свертывания (см. рис. 7). Эта реакция делает систему автономной: тромбин сам способен обеспечить собственное производство, даже если нет активации ни по внешнему, ни по внутреннему пути. Нужна только некоторая начальная затравка — небольшая концентрация самого тромбина.

Устойчивость жидкого состояния крови обеспечивают ингибиторы. Рассмотренная выше сеть реакций (см. рис. 7) может устойчиво существовать в неактивированном жидком состоянии только в том случае, если активные формы факторов живут относительно недолго. Иначе кровь быстро свернется. Чтобы это предотвратить, все активные формы ферментов быстро инактивируются. Для этого в крови имеются специальные белки-ингибиторы, например антитромбин. Они связываются с активными факторами и инактивируют их. Инактивация показана на рис. 7 штриховыми стрелками, отходящими от активных факторов. В такой "проточной" системе, когда факторы после активации быстро и необратимо инактивируются, нужно постоянно возобновлять запасы предшественников — неактивных факторов. В организме это делает печень.

Блок реакций протеина С — отрицательные обратные связи в свертывании. Кроме ингибиторов, в системе имеется ряд реакций, формирующих серию отрицательных обратных связей. Эти реакции изображены на рисунке стрелками с минусиками внутри. Протеин С, еще один фактор свертывания, способен в своей активной форме расщеплять кофакторы VIII и V. Это прерывает положительные обратные связи, и скорость процесса активации падает на несколько порядков. Интересно то, что активация протеина С, т.е. включение отрицательных обратных связей, производится тромбином — тем же самым ключевым фактором свертывания, который производит фибрин для формирования сгустка и который активирует свое собственное производство, включая положительные обратные связи. Все пути ведут к тромбину!

2.4. Гомогенная кинетика свертывания крови

Обычно свертывание крови изучается в следующей постановке эксперимента: в пробирку наливается кровь, что-то туда добавляется (скажем, тот же активатор свертывания, что находится под эндотелием сосудов), все перемешивается, и в течение некоторого времени идет процесс. В результате содержимое пробирки превращается в сгусток, в гель (рис. 9а). Процесс идет гомогенно во всем объеме. Когда же мы имеем дело с

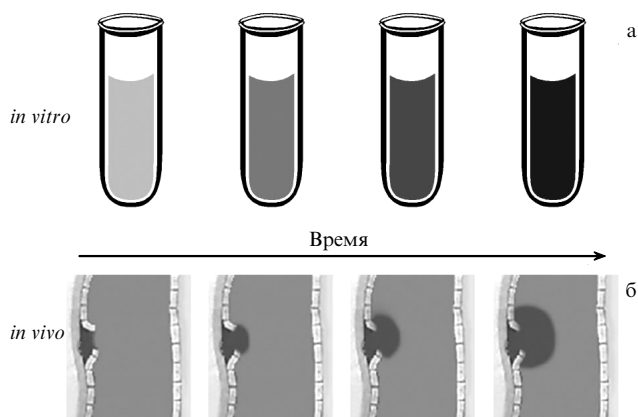


Рис. 9. Образование тромба *in vitro*, в пробирке (а) и *in vivo*, в сосуде (б). В пробирке образование тромба идет во всем объеме одновременно (потемнение соответствует затвердеванию тромба). В кровеносном сосуде затвердевает только часть крови в области повреждения стенки.

поврежденным сосудом, мы наблюдаем совсем другую картину (рис. 9б). При повреждении эндотелия сосуда кровь вступает в контакт с тканями, которые находятся под эндотелием, активируется, и в зоне повреждения начинает расти сгусток. Сгусток достигает какого-то размера, и его рост прекращается. При этом сгусток закрывает собой место повреждения, и кровь перестает вытекать из сосуда. Если сосуд был достаточно большой, то он продолжает нормально работать, а в зоне повреждения начинаются процессы репарации. Таким образом, в естественных условиях процесс свертывания происходит как рост некоторой пространственной структуры и задача всегда негомогенна. Мы начнем рассмотрение с гомогенного случая — он проще.

Схема, изображенная на рис. 7, для своего полного описания требует около 40 дифференциальных уравнений. Существует ряд математических моделей системы, отличающихся степенью детальности описания процесса. При достаточно разумных упрощениях, например, в предположении о постоянстве концентраций предшественников, мы можем перейти к системе из восьми уравнений, которая будет количественно описывать эксперименты *in vitro* [45, 46]. В то же время качественно все основные кинетические свойства этой системы в гомогенном случае могут быть описаны системой всего двух дифференциальных уравнений. Система, на примере которой мы рассмотрим характерные особенности процесса свертывания крови, является редукцией ранее описанной модели свертывания [45]. В редуцированной модели две переменные — тромбин (*u*) и активированный протеин С (*v*):

$$\frac{du}{dt} = K_1 \left(1 + K_2 \frac{u}{1 + K_3 v} \right) \left[K_4 u \left(1 + K_5 \frac{u}{1 + K_3 v} \right) + A \right] \times \left(1 - \frac{u}{u_0} \right) - K_6 u, \tag{5}$$

$$\frac{dv}{dt} = K_7 u - K_8 v,$$

$$K_1 = \frac{k_2}{h_{10}}, \quad K_2 = \frac{\bar{k}_2 k_{510} k_5}{k_2 h_{510} h_5}, \quad K_3 = \frac{k_a}{h_5} = \frac{k_a}{h_8},$$

$$K_4 = \frac{k_9 k_{10} k_{11}}{h_9 h_{11}}, \quad K_5 = \frac{\bar{k}_{10} k_{89} k_8}{k_{10} h_{89} h_8}, \quad K_6 = h_2,$$

$$K_7 = k_{apc}, \quad K_8 = h_{apc},$$

где *u*₀ — концентрация протромбина, предшественника тромбина; *A* — постоянный вток фактора *X*_a, иллюстрирующий в модели уровень активации системы по внешнему пути (см. рис. 7); *K*_{*i*} — комбинации элементарных констант, представленных на рис. 7.

Здесь выражение в первых скобках в уравнении для тромбина описывает петлю положительной обратной связи через кофактор V, выражение во вторых скобках —

Таблица 1. Используемые значения констант для модели (5)

<i>K</i> ₁	<i>K</i> ₂	<i>K</i> ₃	<i>K</i> ₄
2,45 мин ⁻¹	447,66 нМ ⁻¹	3,87 нМ ⁻¹	1,65 × 10 ⁻⁴ мин ⁻¹
<i>K</i> ₅	<i>K</i> ₆	<i>K</i> ₇	<i>K</i> ₈
4,89 нМ ⁻¹	2,3 мин ⁻¹	0,0014 мин ⁻¹	0,1 мин ⁻¹

петлю положительной обратной связи через кофактор VIII (см. рис. 7). В выражение в квадратных скобках вошли также реакции, связанные с петлей положительной обратной связи через активацию тромбином фактора XI (см. константу K_4), а также вток по фактору X_a . Выражение в третьих скобках описывает ограничение концентрации тромбина концентрацией его предшественника в плазме (u_0). Протеин С, согласно уравнению, активируется под действием тромбина и инактивируется пропорционально собственной концентрации. Все константы соответствуют ранее использованным при описании полной модели [45, 46]. Одно из главных свойств, которым обладает свертывание крови и которое хорошо демонстрирует полученная система уравнений, — пороговый характер ответа системы на активацию. Впервые существование порога в системе свертывания было предсказано теоретически в работах М.А. Ханина [90, 91]. На рисунке 10а показана характерная кинетика факторов свертывания в ответ на активирующие сигналы разной амплитуды. Каждому следующему номеру кривой соответствует увеличение втока по фактору X_a на $0,0005 \text{ нМ мин}^{-1}$. После достижения некоторого уровня активирующего сигнала кинетика резко меняется, и концентрация активного фактора начинает экспоненциально нарастать. При допороговых активирующих сигналах ответ системы примерно пропорционален уровню активации. Это очень низкие концентрации тромбина. Они не приводят к заметному образованию фибрина, и кровь остается "жидкой". Скачок концентраций при превышении порога составляет 4–5 порядков по сравнению с допороговым. На рисунке 10б показано изменение концентрации тромбина в ответ на надпороговые сигналы. Видно, что с ростом величины активирующего сигнала амплитуда ответа не меняется. Меняется, и значительно, только время достижения максимума.

Сопоставление модели с экспериментальными данными показывает качественное сходство. В эксперименте поведение сложнее: при запороговых активирующих сигналах концентрация тромбина, достигнув максимума, довольно быстро падает. Это связано, во-первых, с исчерпанием предшественников, из которых производятся активные факторы, во-вторых, с быстрой инактивацией образовавшегося тромбина под действием ингибиторов, которых в крови много. В модели нет исчерпания предшественников в явном виде, хотя концентрация тромбина ограничена концентрацией его предшественника в плазме (u_0). Количество тромбина, необходимого для образования твердого сгустка, в реальном процессе свертывания намного меньше максимума, достигаемого в модели. Поэтому все определяется начальной фазой роста тромбина. А в этой части поведение модели похоже на реальный процесс. Как и в модели, от величины активирующего сигнала зависит не столько амплитуда пика тромбина, сколько время его достижения. Анализ полных моделей процесса, учитывающих исчерпание предшественников, подтверждает справедливость этого вывода [46].

На рисунке 10в показан фазовый портрет системы (5) для случая допороговой активации (соответствует кривой 3 на рис. 10а). В данном случае в системе имеется три особых точки. На рисунке показаны только две из них, расположенные вблизи начала координат, третья — устойчивый узел — отстоит на 4 порядка по оси u от

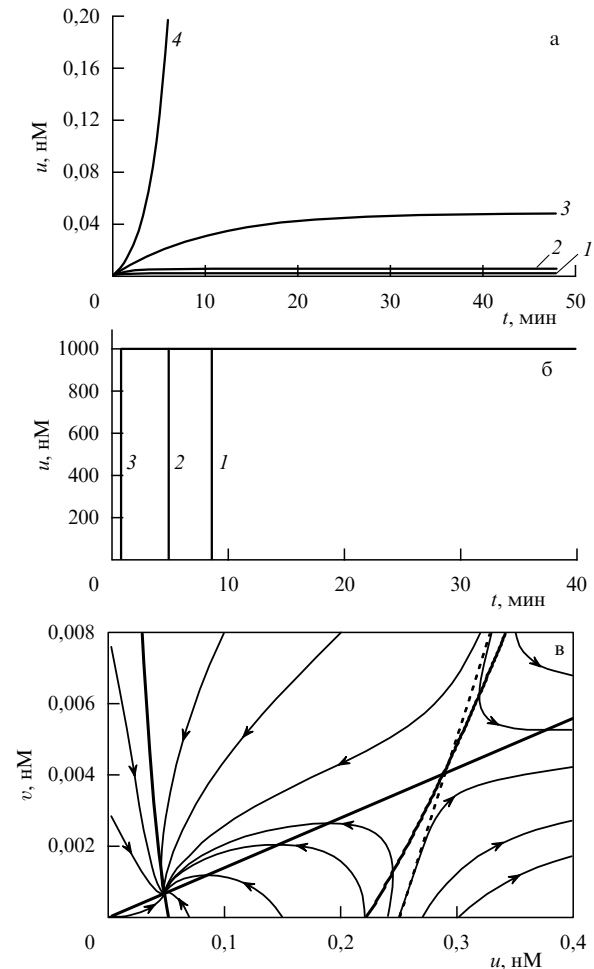


Рис. 10. (а) Кинетика образования тромбина при допороговом (кривые 1, 2, 3) и запороговом (кривая 4) уровне активации (соответствующие значения втока: 1 — $0,001 \text{ нМ мин}^{-1}$; 2 — $0,0015 \text{ нМ мин}^{-1}$; 3 — $0,002 \text{ нМ мин}^{-1}$; 4 — $0,0025 \text{ нМ мин}^{-1}$); (б) взрывная кинетика образования тромбина при надпороговой активации с последующим выходом на плато из-за отсутствия исчерпания предшественников в модели (кривая 1 — вток равен $0,0025 \text{ нМ мин}^{-1}$; 2 — $0,003 \text{ нМ мин}^{-1}$; 3 — $0,01 \text{ нМ мин}^{-1}$); (в) фазовый портрет модели (5) для случая допороговой активации ($A = 0,002 \text{ нМ мин}^{-1}$). Жирными линиями показаны изоклины, тонкими — фазовые траектории. Сепаратриса седла показана штриховой линией.

второй особой точки. Она находится за пределами выбранного масштаба и соответствует свернувшемуся состоянию плазмы. Полный фазовый портрет этой системы, когда видна третья особая точка, очень мало отличается от фазового портрета, показанного на рис. 11б, когда ближние особые точки исчезают. Большое различие в масштабах (несколько порядков) делает их неразличимыми. Устойчивая особая точка вблизи нуля соответствует выходу системы (при нулевых начальных значениях переменных) на низкие (допороговые) стационарные концентрации активных факторов свертывания. На рисунке 10в видно, что в данном случае концентрация тромбина начинает резко нарастать, если начальные концентрации тромбина превышают значение $0,25 \text{ нМ}$. Это значение определяет сепаратриса седла, разделяющего две устойчивые особые точки системы.

При увеличении уровня активации системы вид изоклины первого уравнения (системы (5)) меняется.

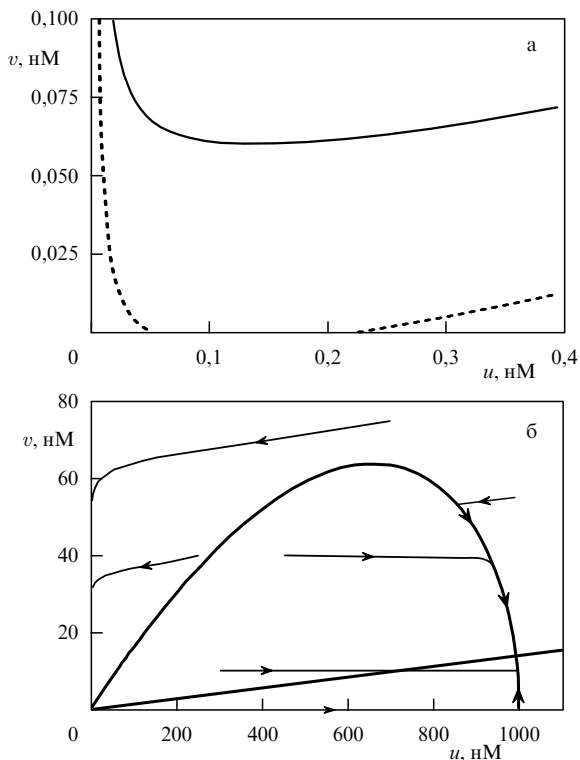


Рис. 11. (а) Изменение вида изоклины первого уравнения системы (5) при увеличении уровня активации системы (втока фактора X_a в систему). Сплошная линия соответствует запороговой активации, значению $A = 0,0025 \text{ нМ мин}^{-1}$, штриховая — соответственно случаю допороговой активации, $A = 0,002 \text{ нМ мин}^{-1}$. (б) Полный фазовый портрет системы (5) при запороговой активации, соответствующей сплошной линии на (а). (Обратите внимание на различие в масштабах по оси абсцисс между рисунками (а) и (б).)

Рисунок 11а иллюстрирует переход от допороговой к запороговой активации. Изменение главным образом происходит в зоне малых значений переменной u . С увеличением втока по фактору X_a левая часть изоклины поднимается вверх, и в момент ее касания с изоклиной второго уравнения две особые точки вблизи нуля исчезают. Полный вид изоклины для случая запороговой активации представлен на рис. 11б, где изображен фазовый портрет системы (5) для этого случая.

Системы типа (5) являются жесткими с вычислительной точки зрения. Наличие И-образных изоклин в таких системах приводит к тому, что они имеют склонность к колебаниям. Система (5) не является исключением. Если увеличить константу k_{apc} , то можно наблюдать автоколебательные режимы (рис. 12). Сравнение модели с экспериментами в пробирке (в ситуации полного перемешивания) показывает, что простейшая модель качественно хорошо описывает большинство наблюдаемых эффектов. В ответ на небольшие надпороговые возмущения в системе генерируется импульс тромбина [92, 93]. Амплитуда этого импульса, как и в модели, на много порядков превышает концентрации тромбина, которые можно зарегистрировать в жидкой крови. Она также слабо зависит от активирующего сигнала. Величина активирующего сигнала в основном влияет на время свертывания: чем меньше активация превышает пороговую, тем дольше приходится ждать, когда кровь свернется. Простейшая модель, как мы видели (рис. 10б), ведет себя аналогично.

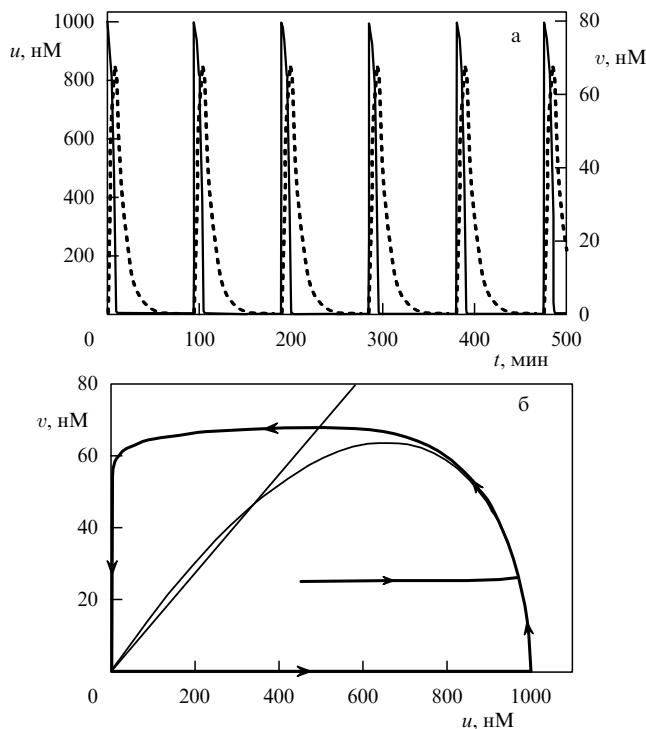


Рис. 12. Увеличение константы активации протеина С тромбином в 10 раз ($K_7 = k_{apc} = 0,014 \text{ мин}^{-1}$, $A = 0,0025 \text{ нМ мин}^{-1}$) приводит к автоколебаниям активных факторов свертывания. (а) Кинетические кривые тромбина (сплошная линия) и активированного протеина С (штриховая). (б) Соответствующий фазовый портрет системы (5): тонкие линии — изоклины, жирные линии — траектория предельного цикла.

Мы не будем сейчас подробно останавливаться на гомогенной кинетике этой системы, потому что, как нам кажется, гораздо больший интерес представляет пространственный аспект задачи.

3. Феноменологическая модель

Как будет вести себя клубок химических реакций, приведенный на схеме рис. 7, в пространственной задаче? Есть активация в одной части пространства, и дальше активные факторы свертывания могут распространяться либо диффузионно, либо сноситься за счет потока с кровью. В уравнения (5) можно дописать диффузионные члены. Тогда при активации свертывания в некоторой области пространства от нее побежит автоволна образования сгустка. Это — поведение, типичное для активных сред.

Очевидно, что полученная нами сильно упрощенная модель системы свертывания находится в явном противоречии с нашими знаниями: сгусток всегда локализован и конечен. И это несмотря на то, что гомогенная кинетика системы описывается довольно хорошо.

Мы рассмотрели множество довольно полных вариантов описания биохимических реакций свертывания и убедились в том, что тромбин всегда распространяется в виде автоволны или волны переброса. Это — грубый эффект, не зависящий от наших упрощений. И здесь самым главным моментом оказывается способность тромбина активировать свое собственное производство. Это приводит к тому, что кровь оказывается активной

средой: активные факторы свертывания могут не только переходить из зоны повреждения в кровоток, но и образовываться в каждой точке пространства. Все ингибиторы, изображенные на рис. 7, которые в гомогенном случае так эффективно прекращают производство тромбина и быстро снижают его концентрацию, в пространственной ситуации оказываются неспособны это сделать. Распространяющийся фронт ингибиторов не способен догнать фронт тромбина.

Первая попытка разрешить этот парадокс была предпринята в работах Атауллаханова и Гурия [43, 44]. В этих работах была предложена феноменологическая модель свертывания [43]. В ее основе лежит простая идея — автоволну может догнать другая автоволна. Уравнения модели имеют следующий вид:

$$\begin{aligned} \frac{\partial u}{\partial t} &= \frac{K_1 u^2}{u + K_2} - K_3 u - K_4 u v + D_u \Delta u, \\ \frac{\partial v}{\partial t} &= K_5 u \left(1 - \frac{v}{K_6}\right) \left[1 + \left(\frac{v}{K_7}\right)^2\right] - K_8 v + D_v \Delta v, \\ \frac{dF}{dt} &= K_9 u. \end{aligned} \quad (6)$$

В этой модели способность тромбина к самоускоряющемуся производству была учтена простейшим способом. Аналогично предыдущей модели (5), тромбин обозначен переменной u . Он может ускорять свое собственное производство, т.е. имеет место автокатализ. Также учтена его инактивация — связывание с ингибиторами плазмы. Вторая переменная v — гипотетический ингибитор, которого нет в явном виде в рассмотренной ранее биохимической схеме реакций (см. рис. 7). Гипотеза предполагает, что этот ингибитор тоже инактивирует тромбин, но отличается от других ингибиторов своей кинетикой. Он возникает под действием тромбина, а потом сам ускоряет собственное производство (выражение в квадратных скобках в первом члене в уравнении для v). Согласно второму уравнению системы (6) производство ингибитора v пропорционально концентрации тромбина, т.е. он образуется только в зоне действия тромбина. Этот ингибитор, как и все активные факторы свертывания, инактивируется с некоторой скоростью. Для того чтобы удобнее было следить за происходящим, введена третья переменная F — аналог фибрина. Она показывает, где будет образован сгусток. По сути третья переменная — это индикаторная переменная (интеграл от тромбина). Третье уравнение не влияет на динамику процессов.

Идея феноменологической модели состояла в том, что автоволну может догнать (и погасить) другая автоволна, скорость которой выше первой. Первая волна — волна тромбина — создает условия для возникновения второй волны — гипотетического ингибитора. В силу того что этот ингибитор тоже способен к автокатализу, он обладает некоторой автономностью: скорость его движения зависит от кинетики его собственных реакций. Эта модель качественно согласуется с экспериментом. Волна тромбина бежит и останавливается. Само по себе это было бы не очень интересно (сделать распространение тромбина затухающим можно многими способами). Но эта модель предсказала ряд интересных необычных режимов роста сгустка, которые затем наблюдались экспериментально [42]. Изменением константы K_2

модели, определяющей порог в образовании тромбина, можно перейти от режима "нормального" образования сгустка конечного размера к режиму безостановочного роста. Но попутно модель предсказывает интересный динамический режим — автоволну с пульсирующей амплитудой. Это — неявное расширение понятия автоволны, скрытое определение. Если в условиях "нормального" роста тромба в модели сделать ингибитор чуть менее активным, например, уменьшить скорость его образования, то амплитуда автоволны тромбина под действием ингибитора не упадет до нуля, а останется немного выше пороговой и в то же время недостаточной для активного образования ингибитора. Таким образом, двигаясь из зоны повреждения, автоволна тромбина может выскользнуть из-под влияния ингибитора и под действием реакций каскада снова набрать свою максимальную амплитуду. И весь процесс повторяется сначала: активно образуется ингибитор, в результате чего падает амплитуда тромбиновой волны и т.д.

На рисунке 13а приведена пространственная динамика распространения тромбина. Видно, что амплитуда бегущей волны тромбина пульсирует. При этом в

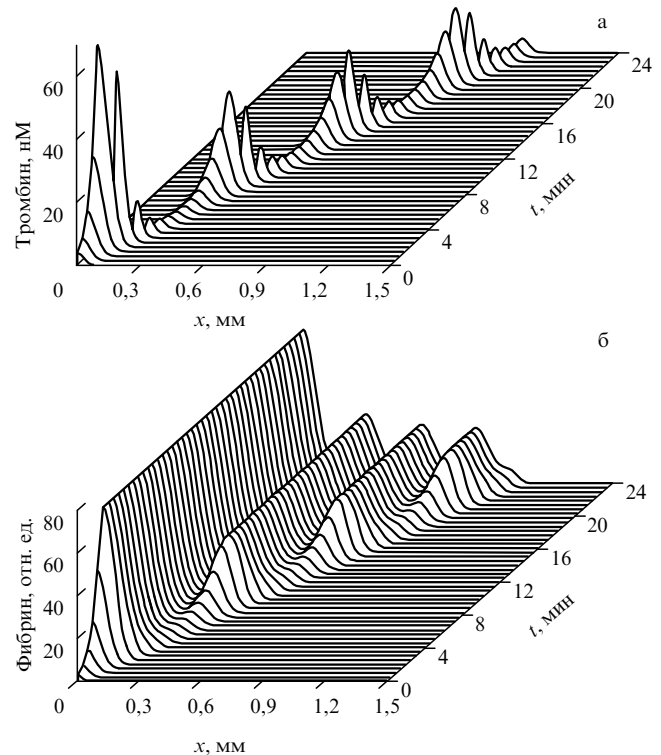


Рис. 13. Распространение волны тромбина с пульсирующей амплитудой (а) и соответствующее ей образование слоистого фибринового сгустка (б). Параметры приведены в табл. 2.

Таблица 2

K_1	K_2	K_3	K_4	
2 мин^{-1}	$0,95 \text{ нМ}$	$0,05 \text{ мин}^{-1}$	$5 \text{ мин}^{-1} \text{ нМ}^{-1}$	
K_5	K_6	K_7	K_8	K_9
$0,0015 \text{ мин}^{-1}$	5 нМ	$0,05 \text{ нМ}$	$0,35 \text{ мин}^{-1}$	$2,8 \text{ мин}^{-1}$

некоторых точках она не будет большой никогда, а значит, и фибрина в этих местах будет образовано мало. Таким образом, пробегающая волна тромбина оставляет за собой как бы слепок в виде фибрина, фиксирующего изменение ее амплитуды. Получаются слоистые структуры, слоистые тромбы, когда твердые слои перемежаются жидкими. На рисунке 13б показана соответствующая картина пространственного распределения фибрина в этом случае. Видно, что результирующая площадь образовавшегося фибрина имеет слоистую структуру: в каких-то точках пространства тромбин достигал высоких значений, и здесь образовалось много фибрина. А в каких-то местах тромбин не достиг высокого уровня, и поэтому фибрина образовалось мало. Главное здесь то, что амплитуда фибрина может меняться на порядок.

Возникает вопрос: а что же происходит не в модели, а в реальной крови? Как растет фибриновый сгусток, каковы его динамические характеристики — скорость, размер? Одинакова ли его плотность в зоне активации, в центре и ближе к краю тромба? Реализуются ли когда-нибудь в эксперименте необычные явления, предсказанные феноменологической моделью? Интересным и довольно необычным для биологии, которая, кажется, сегодня занимается всем на свете (выходят тысячи статей в год, которые посвящены только свертыванию крови), оказалось то, что пространственным аспектом этой задачи практически никто и никогда не занимался. И только появление феноменологической модели стимулировало экспериментальные исследования пространственной динамики свертывания.

4. Динамика роста тромба *in vitro*

Мы исследовали, что происходит, когда нет перемешивания. Если налить кровь тонким слоем в плоскую чашку, а затем в какой-то части пространства активировать свертывание, то вокруг активатора вырастает сгусток. Свертывание хорошо активируется стеклом, поэтому мы часто используем стеклянные поверхности для активации свертывания. В чашку Петри тонким слоем налили кровь и бросили стеклянные шарики. Спустя полчаса содержимое чашки вылили. На дне чашки остались шарики, покрытые красными сгустками: вокруг шариков выросли настоящие тромбы (рис. 14а). Они, кстати, и прикрепили шарики ко дну. Тромб очень хорошо "липнет" практически к любым поверхностям, что весьма разумно с точки зрения защиты организма. Собственно, кровь не очень удобна для исследования, поскольку в ней много эритроцитов, сильно поглощающих свет. Из-за этого трудно обеспечить непрерывную регистрацию роста сгустка. Но если из крови удалить клетки, останется плазма крови. Было показано, что плазма сворачивается так же, как и кровь. Она прозрачна, а фибриновый сгусток, образующийся в ней, свет рассеивает. Поэтому в плазме крови легко обеспечить непрерывную регистрацию роста сгустка. На рисунке 14д показана кинограмма роста сгустка вокруг стеклянных шариков в тонком слое плазмы. Слайды были сняты с трехминутными интервалами. Видно, что сгусток до какого-то момента рос, а потом расти перестал. Вокруг шариков выросли сгустки размером около 0,6 мм. Таким образом, было показано, что в довольно простых экспериментальных условиях

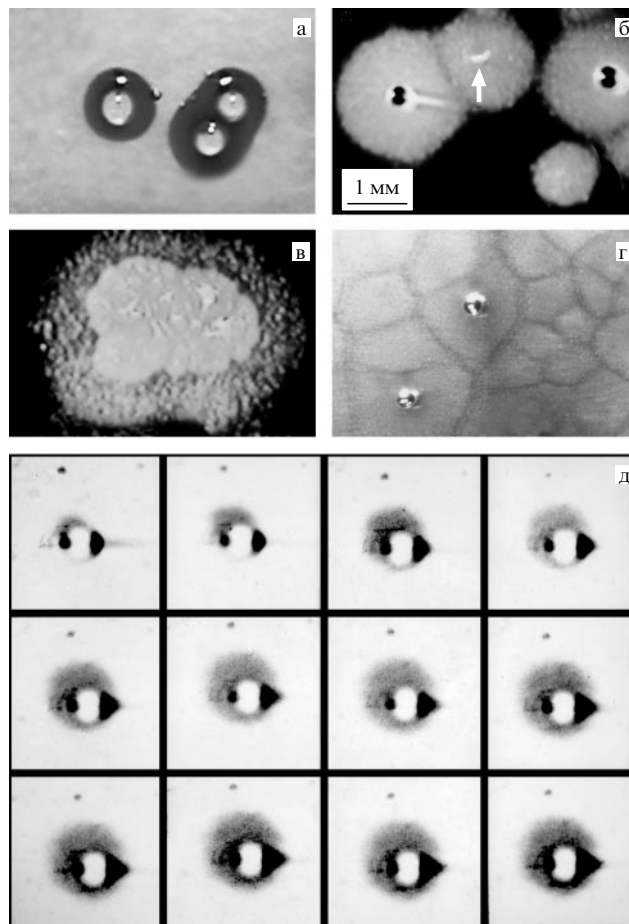


Рис. 14. Образование тромба в крови (а) и в бедной тромбоцитами плазме (б, г), зарегистрированное по светорассеянию. (а, б) Рост тромбов вокруг, соответственно, стеклянных шариков (0,5–0,6 мм в диаметре) и коллагенового волокна (показано стрелкой); (в) рост сгустка активировался маленькой горкой (100–200 мкг) сухого тромбина; (г) образование зон ингибирования (фото сделано через 120 мин после активации стеклянными шариками); (д) кинограмма роста сгустка на стеклянном шарике (светорассеяние) в бедной тромбоцитами плазме, снятая с интервалами 3 мин (черный треугольник — световой блик около шарика). Толщина слоя плазмы во всех экспериментах составляла 0,5 мм.

мы можем воспроизвести пространственную динамику свертывания, во многом похожую на реальный процесс в организме.

Исследования этого процесса показали, что активация свертывания в таких условиях как по внутреннему пути (стеклом), так и по внешнему пути (кусочком стенки кровеносного сосуда) приводит к росту сгустков примерно одинакового размера [42, 94]. Самые разные активирующие сигналы дают примерно одно и то же. Мы можем активировать плазму стеклом или тонким волокном коллагена (рис. 14б). Можем вообще насыпать сухой тромбин (рис. 14в). Толщина сгустка при этом будет такой же, как и от стеклянного шарика, хотя тромбин здесь взято столько, что хватило бы, чтобы свернуть всю кровь во всем нашем организме. Но сгусток не растет. Он останавливается на некотором конечном расстоянии, причем это расстояние не зависит от активирующего сигнала. И это явилось первым подтверждением того, что в процессе роста сгустка работают автоволновые механизмы, ибо только для них наблюдается

слабая зависимость волн и формирующихся структур от величины активирующего сигнала.

Мы экспериментально исследовали другие предсказания феноменологической модели и с некоторым удивлением обнаружили, что все они выполняются. Одно из отличий экспериментальной ситуации от того, что происходит в организме, состоит в том, что спустя 30–40 мин свертывание начинается и без активаторов. Возникают "спонтанные центры" (рис. 14б, справа внизу), из которых начинают расти сгустки, динамика роста которых не отличается от динамики сгустков на поверхности сильных активаторов. Если подождать достаточно долго (60–90 мин), все пространство заполнится сгустками. Интересно то, что это будет не сплошной сгусток. Он окажется разделен темными полосами — областями, где кровь между сгустками осталась жидкой (рис. 14г). Согласно феноменологической модели, области, окружающие сформировавшийся сгусток, в течение некоторого времени должны содержать в себе повышенную концентрацию гипотетического ингибитора. И действительно, в этих областях не удается запустить свертывание даже сильными активирующими сигналами. Самое интересное то, что экспериментально удалось получить слоистые структуры, предсказанные моделью (6) [43]. В определенных случаях в крови при простой активации стеклом мы видим следующую картину: вырастает сгусток, затем он перестает расти, а вокруг него кровь остается жидкой (рис. 15). Затем на некотором расстоянии от этого сгустка начинает образовываться новый сгусток. Вырастает второй слой. Вокруг — опять жидкая зона.

Предсказания феноменологической модели, не имеющей под собой никакой серьезной биохимической подоплеки для ингибитора, подтверждаются экспериментально! И хочется срочно начать искать этот самый ингибитор. Но это сделать непросто, поскольку этот ингибитор, согласно теоретическим соображениям, должен быть короткоживущим. Иначе его концентрация в крови вырастет настолько, что кровь вообще перестанет свертываться. В общем, в результате стало ясно, что наиболее загадочной является молекулярная природа остановки свертывания.

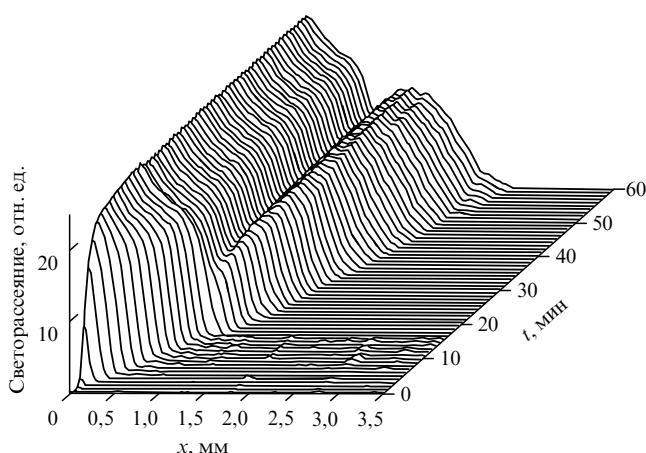


Рис. 15. Образование слоистого тромба в эксперименте. В свободную от тромбоцитов рекальцифицированную плазму с $\text{pH} = 7,4$ было добавлено 2 ед. АТШ и произведена активация стеклом. Рост фибринового сгустка регистрировался по светорассеянию. Профили на рисунке показаны с интервалом в 1 мин.

5. Гипотеза о переключении активности тромбина. Новая модель

5.1. Биохимические предпосылки, положенные в основу гипотезы

Вернемся к анализу молекулярных данных о биохимических реакциях, которые происходят при свертывании крови. Несколько лет назад появились публикации, которые заставили переключить внимание с предполагаемого автокатализа ингибитора на свойства самого тромбина. Известно, что тромбин в свертывании играет роль "двуликого Януса", одновременно проявляя себя как "прокоагулянт", т.е. вещество, способствующее росту сгустка, и "антикоагулянт" — вещество, препятствующее росту сгустка. Это хорошо видно из рис. 7. Один из "ликов" — это тромбин, активирующий свое собственное производство (стрелки, заполненные плюсиками). Второй "лик" — тромбин, тормозящий свое производство (стрелки, заполненные минусиками). Оказалось, что тромбин может существовать в двух структурно различающихся формах. При этом в одной из форм тромбин эффективно образует фибрин из фибриногена и активирует кофакторы (стрелки с плюсиками на рис. 7) и довольно слабо активирует протеин С ("антикоагулянтные реакции" — стрелки с минусиками). А во второй форме тромбин, наоборот, очень хорошо активирует протеин С и очень слабо катализирует расщепление фибриногена.

Эта способность переключаться довольно хорошо укладывается в представления о второй автоволне — волне некоторого вещества, догоняющей тромбин. В данном случае роль этого вещества будет сводиться не к выключению тромбина, а к его переключению из прокоагулянтного состояния в антикоагулянтное. К сожалению, в работах, в которых была обнаружена способность тромбина менять "свои лики" (переключаться из одной формы в другую), эти переключения вызывались воздействиями, которых не бывает в организме [95, 96]. Например, это переключение может вызывать недавно синтезированное химическое соединение, не имеющее аналогов в организме [95]. Также было обнаружено, что и в организме есть белок, который замечательно умеет вызывать это переключение [97]. Но этот белок находится на поверхности клеток, покрывающих кровеносные сосуды изнутри. Таким образом, он всегда находится в контакте с кровью. Его способность переключать тромбин не зависит от концентрации тромбина, а гипотеза требует, чтобы вещество, действующее на тромбин, само активировалось (или синтезировалось) под действием тромбина.

Несмотря на то что сегодня нам не известно вещество, которое бы удовлетворяло всем требованиям, мы попробовали исследовать, как переключения тромбина могут влиять на динамику свертывания. Была построена математическая модель, основанная на схеме рис. 7 и дополненная реакциями, показанными на рис. 16 [47]. Было сделано предположение, что от активированного протеина С отщепляется пептид (действительно известно, что он отщепляется), который может связываться с тромбином и переключать тромбин из одной формы в другую. Тогда замыкается обратная связь в системе (см. рис. 16). Это не тот гипотетический ингибитор, который присутствовал в феноменологической модели.

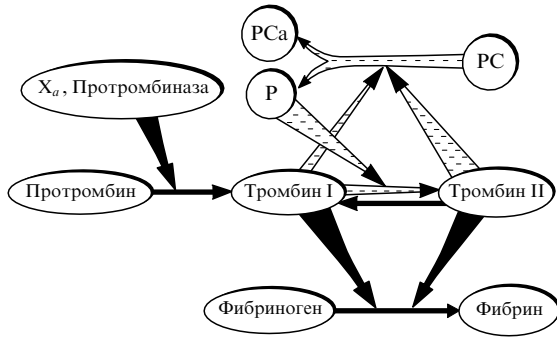


Рис. 16. Схема реакций переключения активности тромбина. Тромбин переходит из прокоагулянтной формы (тромбин I) в антикоагулянтную (тромбин II) под действием пептида P, возникающего при активации протеина C (PC). Стрелки с минусами внутри показывают петлю обратной связи.

Тем не менее в этой системе появляется обратная связь, которая приводит к автокатализу в производстве протеина C. Сначала в результате работы каскада свертывания образуется первая форма тромбина (тромбин I), и протеин C образуется с низкой скоростью. Затем появляется продукт расщепления протеина C тромбином I — некий пептид, который переводит тромбин во вторую форму (тромбин II) и ускоряет свое собственное производство. Таким образом, в системе запускается самоускоряющийся процесс переключения тромбина в форму менее активную в плане собственно свертывания крови, т.е. в каком-то смысле происходит выключение тромбина. В модели в качестве такого переключателя был выбран пептид, отщепляющийся при активации протеина C. Понятно, что таким переключателем может выступать любое вещество, образующееся в ходе действия петли отрицательной обратной связи через протеин C, например, продукт инактивации протеином C одного из кофакторов — V_a или $VIII_a$.

В исходную модель входили уравнения для всех факторов свертывания, присутствующих на биохимических схемах рис. 7 и рис. 16. Затем сравнительный анализ констант реакций позволил упростить эту модель до системы трех уравнений. Это уже не феноменологическая модель. Все константы и все переменные полученной модели понятным образом связаны с молекулярными представлениями о природе свертывания крови [47]. Единственная гипотеза, которая при этом используется, связана с существованием модификатора тромбина — переключателя тромбина из одного состояния в другое.

Упрощенная обезразмеренная модель представлена системой трех уравнений параболического типа в частных производных (Δ — оператор Лапласа) и имеет следующий вид [47]:

$$\begin{aligned} \frac{\partial u}{\partial t} &= D\Delta u + K_1 u w (1 - u) \frac{(1 + K_2 u)}{(1 + K_3 v)} - u, \\ \frac{\partial v}{\partial t} &= D\Delta v + K_5 u^2 - K_6 v, \\ \frac{\partial w}{\partial t} &= D\Delta w + u - K_4 w. \end{aligned} \tag{7}$$

В модели три переменные: активатор u (образуется автокаталитически), ингибитор v (скорость его образо-

вания пропорциональна квадрату активатора), переменная w (поддерживает образование активатора, при этом скорость ее образования пропорциональна величине активатора). Активатор — сумма первой и второй форм тромбина; ингибитор — активированный протеин C; переменная w — фактор свертывания XI_a (см. рис. 7). Отметим, что в этой модели нет явного автокатализа ингибитора, как это было в феноменологической модели (6). Чтобы отличать ее от феноменологической, мы будем называть ее *механизменной*, поскольку она основывается на реальных химических механизмах процесса свертывания.

В модели (7) так же, как и в феноменологической модели (6), были получены режимы "нормального" роста тромба, бесконечного роста (до границ среды) и режим волны тромбина с пульсирующей амплитудой. Кроме того, был обнаружен один режим, нигде ранее не описанный. Найденный в модели (7) режим ранее не был обнаружен не только в моделях свертывания крови, но и вообще в исследованных до сих пор моделях динамических систем. Поэтому мы изложим результаты исследования динамики этой системы более подробно.

5.2. Анализ механизменной модели свертывания

Анализ "точечной модели". Для анализа наблюдаемых режимов было сделано сопоставление поведения системы (7) в пространстве с бифуркационной диаграммой соответствующей точечной системы ($D = 0$). Выразим переменные v и w через u из соответствующих уравнений модели (7) (при $D = 0$) и подставим их значения в первое уравнение модели. Полученная функция является полиномом 4-й степени, корни этого полинома определяют особые точки рассматриваемой системы:

$$f(u) = u \left(\frac{K_1 K_2}{K_4} u^3 + \left(\frac{K_1}{K_4} (1 - K_2) + \frac{K_3 K_5}{K_6} \right) u^2 - \frac{K_1}{K_4} u + 1 \right). \tag{8}$$

Из формулы (8) видно, что в системе всегда есть нулевая особая точка. Эта особая точка устойчива при любых значениях параметров и соответствует "жидкому" состоянию крови. Кроме того, так как при $u = 0$ выражение в скобках равно 1, а при $u \rightarrow -\infty$ значение соответствующего полинома 3-й степени стремится к $-\infty$, то у рассматриваемого полинома 4-й степени (8) всегда есть один отрицательный корень. Соответственно, количество положительных (включая нулевой) действительных корней полинома (8), определяющее особые точки системы (7), может меняться (в зависимости от параметров модели) от 1 до 3. Фазовый портрет системы организован так, что траектория с начальными условиями из области положительного квадранта значений переменных никогда не заходит в область отрицательных значений.

Рассмотрим поведение системы в плоскости параметров $(K_2; K_6)$. Параметр K_2 определяет скорость наработки активатора, а параметр K_6 определяет скорость инактивации ингибитора. Рисунок 17а показывает изменение типа дальней от нуля особой точки модели (8). В области θ (на рисунке она выделена) в системе существует единственная особая точка — нулевая. При пересечении правой границы области θ в системе появляются еще две особые точки. Особая точка,

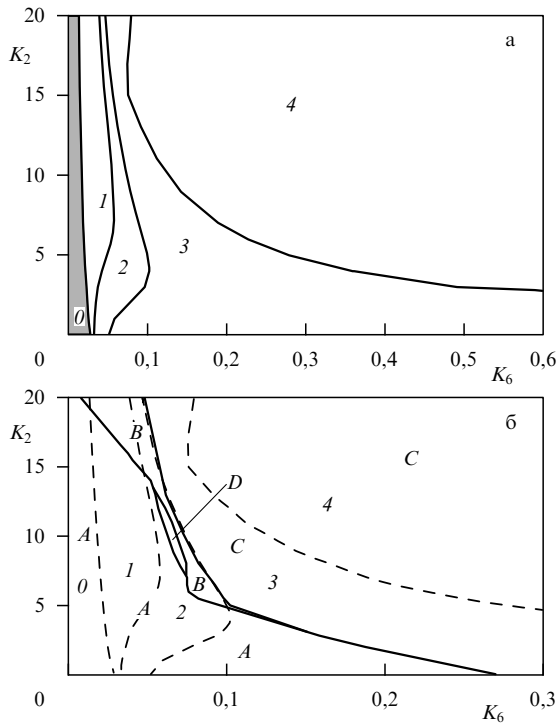


Рис. 17. (а) Бифуркационная диаграмма модели (7). Сплошные линии показывают границы, разделяющие разные типы дальней от нуля, "верхней" особой точки системы. В закрашенной области 0 система имеет единственную особую точку в положительном квадранте — нулевую, которая является устойчивой. В областях 1 и 2 дальняя от нуля точка является неустойчивой (1 — седло-узел, 2 — неустойчивый фокус), в областях 3 и 4 — устойчивой. Линия между областями 2 и 3 — линия бифуркации Пуанкаре–Андропова–Хопфа; (б) условное разбиение плоскости параметров (K_2 ; K_6) на четыре типа (A, B, C, D) ответов модели (7) на начальное возмущение (остальные параметры модели приведены в табл. 3). Штриховыми линиями изображены границы, соответствующие сплошным линиям предыдущего рисунка.

расположенная ближе к началу координат, остается неустойчивой во всем рассматриваемом поле констант. Линиями показаны бифуркационные границы дальней от нуля особой точки. В областях 1 и 2 она является неустойчивой, в областях 3 и 4 — устойчивой. Линия между областями 2 и 3 — линия бифуркации Пуанкаре–Андропова–Хопфа. Области 3 и 4 соответствуют бистабильности, когда в системе есть две устойчивые точки, разделенные неустойчивой. Уменьшение K_2 приводит к расширению области 2. Численные эксперименты показали наличие здесь каскада бифуркаций удвоения периода и переход к хаотическим колебаниям по сценарию Фейгенбаума. При выбранных значениях остальных параметров области существования предельных циклов и хаоса существуют только в очень узкой зоне значений K_6 , примыкающей к линии бифуркации Андропова–Хопфа слева. Используемые в модели константы приведены в табл. 3.

Таблица 3

K_1	K_2	K_3	K_4	K_5	K_6
6,85	варьир.	2,36	0,087	17,0	варьир.

Пространственная динамика свертывания. Поведение системы (7) рассматривалось на отрезке $L = 10$ ($\Delta = \partial^2 / \partial x^2$). Предполагалось, что коэффициент диффузии один для всех трех переменных ($D = 0,00026$). Активация системы была смоделирована локальным повышением значения переменной u на левой границе рассматриваемого отрезка. Рисунок 17б показывает условное разбиение ранее исследованной области изменения констант (K_2 ; K_6) на четыре режима пространственного поведения A, B, C, D. Здесь сплошные линии показывают границы между различными типами пространственных режимов, а бифуркационные границы точечной системы изображены штриховыми линиями. Все многообразие режимов пространственного поведения системы (7) можно грубо разделить на четыре класса, которые наблюдаются в соответствующих зонах параметрической плоскости (K_2 ; K_6).

Зона A. В этой зоне начальное возмущение в системе затухает. Скорость бегущего из зоны активации импульса снижается, а его амплитуда падает до полного исчезновения импульса. Видно, что зона A (при $K_2 < 14$) включает в себя зоны 0 и 1 и большую часть зоны 2 бифуркационных границ точечной системы. В этих зонах точечная модель имеет единственную устойчивую точку — нулевую. При этом по мере движения в зоне A вверх и направо импульс распространяется дальше, кроме того, появляется длительное движение практически с постоянными скоростью и амплитудой, с последующей резкой остановкой и исчезновением (рис. 18). Такой режим соответствует экспериментально описанному [42] "нормальному" росту фибринового сгустка. При $K_2 < 5$ область A также включает часть зоны 3, имеющей еще одну устойчивую особую точку (зоны бистабильности в точечной системе). В зоне 3 нулевая устойчивая точка соответствует "жидкому" состоянию крови, а ненулевая — "твердому", т.е. сгустку. Отметим, что, выбрав другие начальные условия (другую активацию), можно попасть в область притяжения второй ненулевой особой точки, т.е. получить волну переброя и перевести кровь в свернувшееся состояние.

Зона B. В верхней части зоны B распространяется "классический" автоволновой импульс — с постоянной скоростью и амплитудой. Здесь импульс тромбина бежит без затухания на сколь угодно большое расстояние, что соответствует непрерывно растущему сгустку. В экспериментах вне организма такие ситуации наблю-

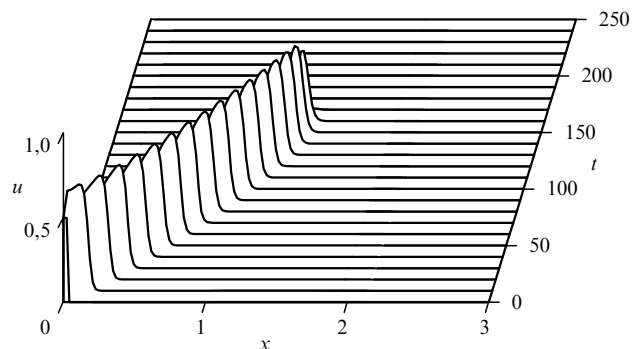


Рис. 18. Распространение автоволны с последующей остановкой в области A ($K_2 = 15,0$, $K_6 = 0,044$; остальные параметры приведены в табл. 3).

даются довольно часто, когда все пространство зара-
стает фибриновым сгустком. Область *B* включает в себя
верхнюю часть полос *0* и *1* и практически всю часть
области *2*, примыкающую к ее правой границе при
 $K_2 > 5$. При $K_2 < 7$ наблюдается сложная зависимость
решения от начальных условий и переход к турбулент-
ным режимам. В этой же зоне *B* мы наблюдали распро-
странение импульса с пульсирующей амплитудой. Также
в этой зоне *B* можно наблюдать образование "слоистых"
тромбов, о которых уже говорилось выше и которые
наблюдались экспериментально [42]. Причем формиро-
вание слоистых тромбов может происходить по несколь-
ким сценариям (рис. 19).

Вообще, нижняя часть области *B* должна была бы
быть разбита еще целым рядом границ, которые на
рис. 17 не изображены. Это — область хаотического
поведения вообще. Режим распространения пульси-
рующего импульса нельзя, строго говоря, считать ха-
отическим, это — пограничный режим. Также здесь могут
наблюдаться и режимы с расщеплением волн, когда один

бегущий импульс распадается на пару импульсов и эта
пара импульсов может распасться еще, и возникает
совершенно хаотическое заполнение пространства то
бегущими, то стоящими и осциллирующими структу-
рами. Динамика этой системы в данной области пока
изучена очень плохо.

В зоне *C* распространяется волна переброса. Левая
граница этой зоны довольно точно совпадает с линией
бифуркации Андронова – Хопфа. Напомним, что в точеч-
ной системе это — зона бистабильности, когда в системе
есть две устойчивых особых точки: нулевая, соответ-
ствующая "жидкой" крови, и ненулевая, соответствующая
"твердому" фибриновому сгустку. При превышении
некоторого порогового уровня активации системы
постепенно все пространство заполняется тромбином.

Зона *D*. Это небольшая область между областью
затухания *A* и областью самоподдерживающихся бегу-
щих импульсов *B*. В этой области параметров двига-
ющийся из зоны активации импульс после остановки не
диссипирует, а стабилизируется и продолжает существо-
вать неограниченно долго. На рисунке 20а показан выход
системы на такое стационарное пространственно-неод-
нородное решение. Приведен также профиль прост-
ранственного распределения тромбина (рис. 20б). Инте-
ресно, как выглядит структура по всем трем переменным
модели. На рисунке 20б, отнормированном на макси-
мумы соответствующих переменных, видно, что тром-
бин (*u*) имеет самый узкий профиль, самое узкое прост-
ранственное распределение. Самое широкое распреде-
ление — у ингибитора, он как бы ограничивает

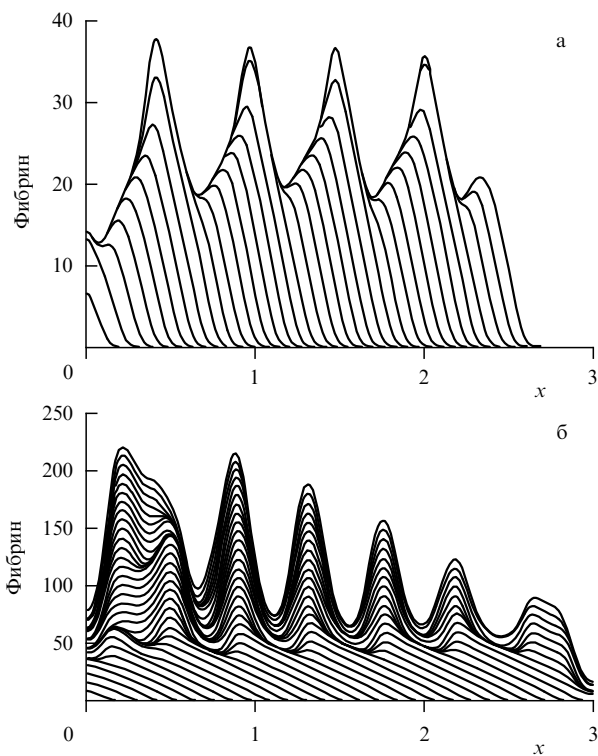


Рис. 19. Два различных сценария образования "слоистых" тромбов, предсказанных моделью (7). Показан фибрин, определяемый как интеграл от тромбина аналогично феноменологической модели (б) ($dF/dt = u$). (а) Расчет произведен при значениях констант $K_2 = 7$, $K_6 = 0,075$; остальные константы соответствуют табл. 3; образование колец идет последовательно. Автоволна тромбина двигается от активирующей границы вправо, расщепляется, и движущийся назад импульс до момента затухания успевает внести вклад в формирование очередного кольца. (б) Расчет произведен при значении констант $K_2 = 8,2$, $K_6 = 0,077$; остальные параметры приведены в табл. 3; движущаяся автоволна оставляет за собой пульсирующее пространство концентраций активных факторов, и надстройка колец идет одновременно по всей длине формирующегося фибринового сгустка. При этом за то же время достигаются большие концентрации фибрина, чем в случае (а): образуется тромб большей плотности. Все остальные параметры (длина отрезка, равная 3; интервалы по времени между профилями, равные 20; начальная активация на левой границе) одинаковы в обоих случаях.

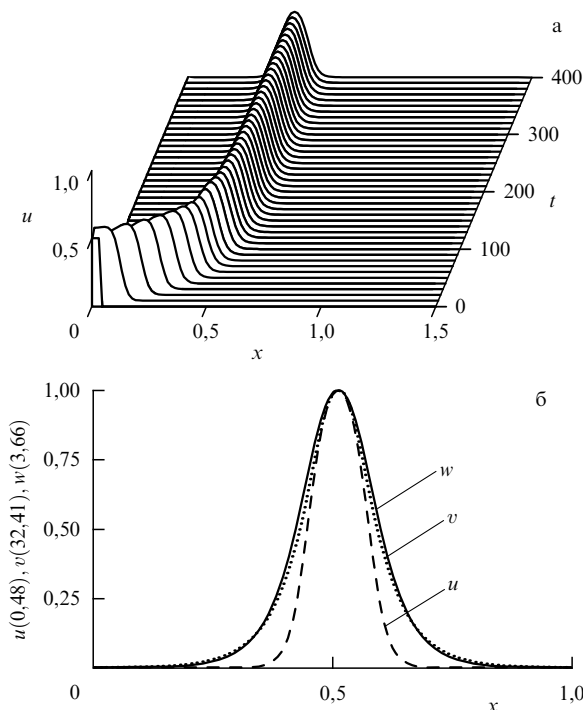


Рис. 20. Сценарий формирования неподвижного импульса активных факторов свертывания на некотором расстоянии от активирующей границы в области *D* ($K_2 = 11,0$, $K_6 = 0,062$; остальные параметры приведены в табл. 3): (а) процесс установления структуры; (б) соответствующие стационарному импульсу распределения всех трех переменных модели, отнормированные на их максимумы (максимумы указаны в скобках после каждой переменной).

структуру, не давая тромбину распространяться. Отметим, что данная структура получается при равенстве коэффициентов диффузии всех трех переменных модели. Подобное формирование уединенных структур (или пиков) в системах типа "реакция–диффузия" ранее не было описано.

6. Заключение

Теоретическое и экспериментальное исследование пространственной динамики свертывания крови привело нас к выводу, что кровь можно отнести к классу активных сред. Но это не обычная активная среда. В этой среде возбуждение распространяется на конечное состояние, сохраняя при этом много черт традиционных автоволн. С точки зрения науки о свертывании, это означает, что процесс свертывания крови отчетливо разделяется на три фазы: фазу инициации, фазу элонгации (роста) и фазу торможения роста сгустка. В каждой фазе существенную роль играют разные биохимические реакции. Эти фазы выделены как во времени, сменяя друг друга, так и в пространстве, происходя в разных частях сгустка.

Инициация свертывания. Процесс может начинаться по двум путям — внешнему или внутреннему. Все реакции инициации происходят на поврежденной или чужеродной поверхности или в непосредственной близости от нее. В результате вблизи от поверхности возникает большая концентрация тромбина в прокоагулянтном состоянии.

Элонгация сгустка. Возникновение высокой концентрации тромбина на поверхности приводит к активации факторов внутреннего пути независимо от того, по какому пути было иницировано свертывание. По сути, внутренний путь — это не столько путь активации, сколько путь генерации автоволны тромбина, обеспечивающей автономную от активирующих сигналов фазу роста. Этот путь определяет скорость роста сгустка.

Торможение и остановка роста сгустка. Эту третью фазу определяют реакции, обеспечивающие остановку автоволны тромбина. Мы полагаем, что тут ключевую роль играет неизвестный пока продукт одной из реакций в цепи отрицательной обратной связи, реализующейся через протеин С. Этот продукт, переключая тромбин, реализует самоускоряющийся процесс инактивации тромбина и остановки свертывания. Размеры образовавшегося сгустка определяются кинетическими параметрами описанных процессов и практически не зависят от природы и силы активирующего сигнала. Эта стадия представляется наименее изученной и понятной. Для ее описания приходится предполагать существование неизвестных эффекторов или реакций.

Рассмотренная гипотеза позволила объяснить ряд феноменов, природа которых казалась загадочной.

Во-первых, реакции внутреннего пути находят в свертывании свое естественное место: они определяют процесс элонгации тромба. Это сразу решает загадку гемофилий. Согласно классической канонической точке зрения, у больного с дефицитом факторов свертывания VIII или IX сгусток должен образовываться нормально, потому что активация при повреждении кровеносного сосуда идет по "внешнему" пути, активируя каскад, начиная с фактора X. У такого больного совершенно нормальный внешний путь, и у него должен был бы быть нормальный сгусток. Мы же полагаем, что гемофилия —

это болезнь роста тромба, а не активации. Активация проходит совершенно нормально, но не может сформироваться полноценный сгусток, не растет тромб, нет самоподдерживающегося процесса роста, для которого нужны факторы "внутреннего" пути. И поэтому сгусток вырастает, но это — тоненький пленочный сгусток на поверхности раны. И больной "кровит", у него через этот сгусток кровь все равно продолжает течь. Мы начали экспериментальное исследование пространственной динамики роста сгустка у больных гемофилиями. Судя по предварительным данным, у них действительно нарушена именно фаза роста сгустка. Процесс активируется нормально, но дальше сгусток практически не растет.

Во-вторых, в рамках этой гипотезы находит свое физиологическое объяснение существование двух различных состояний тромбина.

В-третьих, как показали исследования моделей свертывания, в этой системе существуют режимы, когда нормальный рост тромба нарушается. Среди таких режимов наибольший интерес, с нашей точки зрения, представляют два. Первый, ранее уже описанный в феноменологической модели (6) [44], — это безостановочный рост сгустка с сильно меняющейся амплитудой волны тромбина, приводящий к образованию "слоистых" сгустков. Этот режим, похоже, возникает в крайне опасных патологических ситуациях, которые приводят к так называемому синдрому диссеминированного внутрисосудистого свертывания, когда в результате разных, совершенно непохожих друг на друга болезней вдруг по всему организму начинают образовываться мелкие тромбы. Это — чрезвычайно опасное явление, поскольку приводит к полному нарушению кровообращения и быстрой смерти пациента. Этот синдром может развиваться, когда у человека рак, или почечная недостаточность, или инфекционное заболевание, или любая форма шока, или какое-то другое заболевание.

Исследование пространственной динамики свертывания крови привнесло много нового не только в понимание свертывания (хотя весьма интересного, но частного явления). В ходе исследования был открыт неизвестный ранее тип динамического поведения вообще. Оказалось, что пространственная динамика трехкомпонентных реакционно-диффузионных систем обещает принести так же много неожиданностей, как в свое время принесла динамика трех обыкновенных дифференциальных уравнений. В связи с этим интересным кажется следующий факт. Если мы берем активную среду, в которой поведение системы в точке описывается двумя дифференциальными уравнениями, то по фазовому портрету, по гомогенному поведению этой системы мы часто можем предсказать, что мы будем наблюдать в пространстве. Если в гомогенном случае у нас наблюдается импульс, то в пространственном случае этот импульс, скорее всего, будет бежать с постоянной скоростью на бесконечное расстояние или, может быть, он затухнет, если коэффициент диффузии очень велик. Если существуют два стационарных состояния, т.е. бистабильность, то в пространстве побегит волна переброса. Для трех дифференциальных уравнений в общем виде такое утверждение невозможно. Кое-где, в некоторых областях параметрического пространства, мы можем делать предсказания о пространственной динамике системы на основании ее гомогенного поведения. Но как только мы

доходим до сколько-нибудь сложных режимов, такие предсказания становятся невозможными. Возьмем режим неподвижного импульса. В гомогенной системе может генерироваться импульс; в параметрическом пространстве этому режиму соответствует большая область. Можно ли по поведению "точечной" системы предсказать, как поведет себя начальное возмущение в той или иной области этого параметрического пространства: затухнет, пробежав некоторое расстояние, остановится и сформирует неподвижную структуру или победит до бесконечности? Мы не только не можем ответить на этот вопрос, мы даже не можем предсказать, есть ли вообще в данной системе решение в виде стационарных неподвижных структур. В точке система ведет себя чрезвычайно похоже, практически неразличимо во всех трех режимах.

Мы уже относительно давно знаем, что переход от двух обыкновенных дифференциальных уравнений к трем сопряжен с важным качественным скачком: динамическое поведение совершенно детерминированной системы из трех обыкновенных дифференциальных уравнений может быть хаотическим. Открытие динамического хаоса во второй половине 20 века совершило революцию в теории динамических систем, да и вообще сильно изменило наши базовые представления о природе вещей, перепутав понятия случайного и детерминированного. Обнаружение принципиально новых регулярных режимов распространения и самоорганизации в трехкомпонентных системах оказалось полной неожиданностью. Это открытие резко выходит за рамки свертывания крови. Мы полагаем, что исследования динамики трехкомпонентных систем еще принесут в ближайшем будущем много нового и неожиданного в разные области естествознания.

Мы глубоко благодарны Э.Э. Шнолю, Г.Т. Гурия, А.И. Лобанову за полезные обсуждения, О.Л. Морозовой за ее помощь при проведении вычислений, М.В. Ованесову и Н.Г. Коротинной за предоставленные экспериментальные материалы. Данная работа была частично поддержана грантом РФФИ (№ 00-04-48855).

Список литературы

1. Кернер Б С, Осипов В В *Автосолитоны* (М.: Наука, 1991)
2. Голант В Е, Жилинский А П, Сахаров С А *Основы физики плазмы* (М.: Атомиздат, 1977)
3. Рабинович М И, Трубецков Д И *Введение в теорию колебаний и волн* (М.: Наука, 1984)
4. Заславский Г М, Мейтлис В П, Филоненко Н Н *Взаимодействие волн в неоднородных средах* (Новосибирск: Наука, 1982)
5. Кадомцев Б Б *Коллективные явления в плазме* (М.: Наука, 1988)
6. Трубецков Д И, Рожнев А Г *Линейные колебания и волны* (М.: Физматлит, 2001)
7. Жаботинский А М *Концентрационные автоколебания* (М.: Наука, 1974)
8. Николис Г, Пригожин И *Самоорганизация в неравновесных системах* (М.: Мир, 1979)
9. Field R J, Burger M (Eds) *Oscillations and Traveling Waves in Chemical Systems* (New York: Wiley, 1985)
10. de Wit A *Adv. Chem. Phys.* **109** 435 (1999)
11. Turing A M *Philos. Trans. R. Soc. London Ser. B* **237** 37 (1952)
12. Koch A J, Meinhardt N *Rev. Mod. Phys.* **66** 1481 (1994)
13. Романовский Ю М, Степанова Н В, Чернавский Д С *Математическая биофизика* (М.: Наука, 1984)
14. Иваницкий Г Р, Кринский В И, Сельков Е Е *Математическая биофизика клетки* (М.: Наука, 1978)
15. Иваницкий Г Р, Медвинский А Б, Цыганов М А *УФН* **161** (4) 13 (1991)
16. Иваницкий Г Р, Медвинский А Б, Цыганов М А *УФН* **164** 1041 (1994)
17. *Синергетика и психология*. Тексты. Вып. 2. *Социальные процессы* (Под ред. И Н Трофимовой) (М.: Янус-К, 2000)
18. FitzHugh R A *Biophys. J.* **1** 445 (1961)
19. Nagumo J, Arimoto S, Yoshizawa S *Proc. IRE* **50** 2061 (1962)
20. Некоркин В И *Известия вузов. Радиофизика* **31** (1) 41 (1988)
21. Колмогоров А Н, Петровский И Г, Пискунов Н С *Бюлл. МГУ. Математика и механика* **1** (6) 1 (1937)
22. Hodgkin A L, Huxley A F J *Physiol.* **116** 449 (1952)
23. *Автоволновые процессы в системах с диффузией* (Под ред. М Т Греховой) (Горький: Изд-во ИПФ АН СССР, 1981)
24. Васильев В А, Романовский Ю М, Яхно В Г *Автоволновые процессы* (М.: Наука, 1987)
25. Кринский В И, Михайлов А С *Автоволны* (М: Знание, 1984)
26. Асланиди О В, Морнев О А *Письма в ЖЭТФ* **65** 553 (1997)
27. Асланиди О В, Морнев О А *Мат. моделир.* **11** (9) 3 (1999)
28. Морнев О А и др. *Доклады РАН* **347** 123 (1996)
29. Mimura M, Nagayama M *Chaos* **7** 817 (1997)
30. Krischer K, Mikhailov A *Phys. Rev. Lett.* **73** 3165 (1994)
31. Oertzen A et al. *J. Phys. Chem. B* **102** 4966 (1998)
32. Заикин А Н *Физическая мысль России* **1** 54 (1995)
33. Зыков В С *Моделирование волновых процессов в возбудимых средах* (М.: Наука, 1984)
34. Cross M C, Hohenberg P C *Rev. Mod. Phys.* **65** 851 (1993)
35. Морнев О А, Панфилов А В, Алиев Р Р *Биофизика* **37** (1) 123 (1992)
36. Лоскутов А Ю, Михайлов А С *Введение в синергетику* (М.: Наука, 1990)
37. Hagberg A, Meron E *Nonlinearity* **7** 805 (1994)
38. Elphick C, Hagberg A, Meron E *Phys. Rev. E* **51** 3052 (1995)
39. Hagberg A, Meron E *Phys. Rev. Lett.* **72** 2494 (1994)
40. Hagberg A, Meron E *Chaos* **4** 477 (1994)
41. Elphick C et al. *Phys. Lett. A* **230** 33 (1997)
42. Ataullakhanov F I et al. *Biochim. Biophys. Acta* **1425** 453 (1998)
43. Атауллаханов Ф И, Гурия Г Т *Биофизика* **39** (1) 89 (1994)
44. Атауллаханов Ф И, Гурия Г Т, Сафрошкина А Ю *Биофизика* **39** 99 (1994)
45. Zarnitsina V I, Pokhilko A V, Ataullakhanov F I *Thromb. Res.* **84** 225 (1996)
46. Zarnitsina V I, Pokhilko A V, Ataullakhanov F I *Thromb. Res.* **84** 333 (1996)
47. Zarnitsina V I et al. *Chaos* **11** 57 (2001)
48. Старожилова Т К, Лобанов А И, Гурия Г Т *Мат. моделир.* **9** (2) 21 (1997)
49. Лобанов А И, Старожилова Т К, Гурия Г Т *Мат. моделир.* **9** (8) 83 (1997)
50. Гурия Г Т, Лобанов А И, Старожилова Т К *Биофизика* **43** 526 (1998)
51. Лобанов А И, Старожилова Т К *Мат. моделир.* **9** (12) 3 (1997)
52. Kobayashi R, Ohta T, Hayase Y *Phys. Rev. E* **50** R3291 (1994)
53. Hayase Y, Ohta T *Phys. Rev. E* **62** 5998 (2000)
54. Ohta T, Hayase Y, Kobayashi R *Phys. Rev. E* **54** 6074 (1996)
55. Ito A, Ohta T *Phys. Rev. A* **45** 8374 (1992)
56. Zimmermann M G et al. *Physica D* **110** 92 (1997)
57. Schenk C P et al. *Phys. Rev. E* **57** 6480 (1998)
58. Schenk C P et al. *Phys. Rev. Lett.* **78** 3781 (1997)
59. Or-Guil M et al. *Phys. Rev. E* **57** 6432 (1998)
60. Osipov V V, Sevrtsev A V *Phys. Lett. A* **222** 400 (1996)
61. Muratov C B, Osipov V V *Physica D* **155** 112 (2001)
62. Li Ge et al. *Phys. Rev. Lett.* **77** 2105 (1996)
63. Nishiura Y, Ueyama D *Physica D* **150** 137 (2001)
64. Reynolds W N, Pearson J E, Ponce-Dawson S *Phys. Rev. Lett.* **72** 2797 (1994)
65. Reynolds W N, Ponce-Dawson S, Pearson J E *Phys. Rev. E* **56** 185 (1997)
66. Bode M, Purwins H-G *Physica D* **86** 53 (1995)
67. Ammelt E, Astrov Yu A, Purwins H-G *Phys. Rev. E* **55** 6731 (1997)
68. Astrov Yu et al. *Phys. Lett. A* **211** 184 (1996)
69. Radehaus C et al. *Phys. Rev. A* **45** 2546 (1992)
70. Astrov Yu A, Ammelt E, Purwins H-G *Phys. Rev. Lett.* **78** 3129 (1997)
71. Meixner M, Bose S, Schöll E *Physica D* **109** 128 (1997)

72. Bose S, Rodin P, Schöll E *Phys. Rev. E* **62** 1778 (2000)
 73. Lechleiter J et al. *Science* **252** 123 (1991)
 74. Hofer T, Sherratt J A, Main P K *Physica D* **85** 425 (1995)
 75. Mair T, Müller S C *J. Biol. Chem.* **271** 627 (1996)
 76. Buki A, Karpati-Smidroczi E, Zrinyi M *Physica A* **220** 357 (1995)
 77. Цыганов И М и др. *Доклады РАН* **346** 825 (1996)
 78. Medvinsky A G et al. *Physica D* **64** 267 (1993)
 79. Rovinsky A, Menzinger M *Phys. Rev. A* **46** 6315 (1992)
 80. Khrustova N et al. *Phys. Rev. Lett.* **75** 3564 (1995)
 81. Blanchedeau P, Boissonade J, De Kepper P *Physica D* **147** 283 (2000)
 82. Castets V et al. *Phys. Rev. Lett.* **64** 2953 (1990)
 83. Vanag V K et al. *Nature* **406** 389 (2000)
 84. Zhabotinsky A M, Eager M D, Epstein I R *Phys. Rev. Lett.* **71** 1526 (1993)
 85. Bugrim A E, Zhabotinsky A M, Epstein I R *Biophys. J.* **73** 2897 (1997)
 86. Mann K G *Thromb. Haemostasis* **82** 165 (1999)
 87. Levin S N *Science* **152** 651 (1966)
 88. Naito K, Fujikawa K *J. Biol. Chem.* **266** 7353 (1991)
 89. Gailani D, Broze G J *Science* **253** 909 (1991)
 90. Khanin M A, Semenov V V *J. Theor. Biol.* **136** 127 (1989)
 91. Семенов В В, Ханин М А *Биофизика* **35** (1) 139 (1990)
 92. Beguin S, Lindhout T, Hemker H C *Thromb. Haemostasis* **60** 457 (1988)
 93. Kessels H, Willems G M, Hemker H C *Comp. Biol. Med.* **24** 277 (1994)
 94. Навдаев А В "Особенности развития фибринового сгустка в плазме крови *in vitro*", Дисс. ...канд. биол. наук (М.: Институт экспериментальной кардиологии, 1997)
 95. Berg D T, Wiley M R, Grinnell B W *Science* **273** 1389 (1996)
 96. Mathur A, Schlapkohl W A, Di Cera E *Biochemistry* **32** 7568 (1993)
 97. Esmon C T, Esmon N L, Harris K W *J. Biol. Chem.* **257** 7944 (1982)

**A new class of stopping self-sustained waves:
 a factor determining the spatial dynamics of blood coagulation**

F.I. Ataulkhanov, V.I. Zarnitsyna, A.Yu. Kondratovich, V.I. Sarbash
*Research Center for Hematology, Russian Academy of Medical Sciences,
 Novozykovskii pr. 4a, Moscow 125167, Russian Federation*
 Tel. (7-095) 212-55 31. Fax (7-095) 212-88 70
 E-mail: fazli@bioscience.msk.su

E.S. Lobanova
*M.V. Lomonosov Moscow State University, Physics Department
 Vorob'evy gory, 119899 Moscow, Russian Federation*
 Tel. (7-095) 212-35 22. Fax (7-095) 212-88 70
 E-mail: katja@blood.ru

Two self-sustained wave regimes newly found in blood coagulation models are discussed: (1) oscillating-amplitude self-sustained waves, and (2) waves initially propagating as classical (constant-velocity constant-amplitude) self-sustained waves and then abruptly stopping at a fairly large distance from the point of activation. Depending on model parameters the latter waves either damp out or turn into stationary, spatially localized peaks. Analysis of blood coagulation models suggests that blood is an active medium with very unusual properties.

PACS numbers: **05.45.-a**, **87.10+e**, 87.19.Uv

Bibliography — 97 references

Received 15 August 2001, revised 12 November 2001