

УДК 577.31

ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИЧЕСКИХ РЕЖИМОВ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ С ПОМОЩЬЮ МАТЕМАТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ

© 2004 г. Д. А. Молчанова¹, А. А. Бутылин², Ф. И. Атауллаханов^{2,3,4}

¹ Институт математических проблем биологии РАН, 142292 Пущино Московской области;

² Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва;

³ Гематологический научный центр РАМН, Москва;

⁴ Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Москва

Поступила в редакцию 03.09.2002 г.

После доработки 22.01.2004 г.

В работе исследуется динамика свертывания крови в рамках математической модели, в которую включены все реакции основного каскада, начиная с активации фактора XI. В модели учтены реакции, которые происходят на поверхности фосфолипидных везикул или клеток: образование комплексов факторов IXa с VIIIa и Xa с Va. Учтены также взаимодействия активных факторов с ингибиторами типа антитромбина III и реакции инактивации кофакторов Va и VIIIa системой протеина С. Исследование динамики этой системы показало, что в ней имеется три характерных времени порядка 10^{-2} с, 1 с и 1 мин. В связи с этим полученная система из восьми дифференциальных уравнений распадается на три подсистемы. Исследование динамики сверхбыстрой и быстрой подсистем показывают их устойчивость. В медленной системе, описываемой тремя дифференциальными уравнениями, могут наблюдаться устойчивые стационарные и автоколебательные режимы, а также сосуществование устойчивых стационарных состояний с автоколебаниями или бистабильность. Исследован характер бифуркаций в этой модели.

В работе [1] была построена имитационная модель внутреннего пути системы свертывания крови. Модель позволила количественно описать экспериментальные данные по кинетике ранних стадий свертывания плазмы крови *in vitro*. В работе было показано, что для свертывания крови характерно пороговое поведение в зависимости от концентрации Ca [1, 2] и величины сигнала, активирующего свертывание [3, 4]. Было также показано, что основным процессом, который вызывает такое пороговое поведение системы свертывания, т.е. обеспечивает крови устойчивое сосуществование как жидкого состояния, так и твердого, является резкое на 4–5 порядков ускорение реакций образования активных форм факторов свертывания при создании комплексов факторов VIIIa и IXa и Va и Xa на фосфолипидных поверхностях. Это поверхности клеток и фосфолипидных везикул, присутствующие в крови. Перевод ключевых реакций системы свертывания на фосфолипидный бислой обеспечивает резкое увеличение скорости реакций, по-видимому, за счет изменения характера процессов взаимодействия комплексов друг с другом: вместо того чтобы два белка “искали” друг друга в растворе, в объеме, процесс их взаимодействия переносится на поверхность и это резко увеличивает скорость образования комплекса. Поэтому учет этих липид-обусловленных процессов является одним из ключевых звеньев, определяющих общую динамику процесса.

В связи с этим в данной работе поставлена задача - исследовать на математической модели динамику системы свертывания крови.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Фазовые траектории систем дифференциальных уравнений строились с помощью пакета программ TRAX, разработанного В.В. Левитиным в конце 80-х – начале 90-х гг. (ИМПБ РАН, г. Пущино). Локальные бифуркации исследовались с помощью пакета программ LOCBIF, разработанного в том же институте (авторы: Ю.А. Кузнецов, В.В. Левитин, Е.В. Николаев, А.И. Хибник).

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ

На рис. 1 представлена схема биохимических реакций, использованная для построения модели. Как видно из рисунка, фибрин образуется под действием тромбина из своего предшественника – фибриногена. Тромбин в свою очередь образуется из своего предшественника – протромбина. Остальные ферменты также образуются из своих неактивных предшественников. Таким образом, свертывание происходит в результате работы каскада реакций, охваченного петлями положительных и отрицательных обратных связей.

На основании схемы, приведенной на рис. 1, была построена математическая модель [4], представляющая собой систему восьми обыкновенных

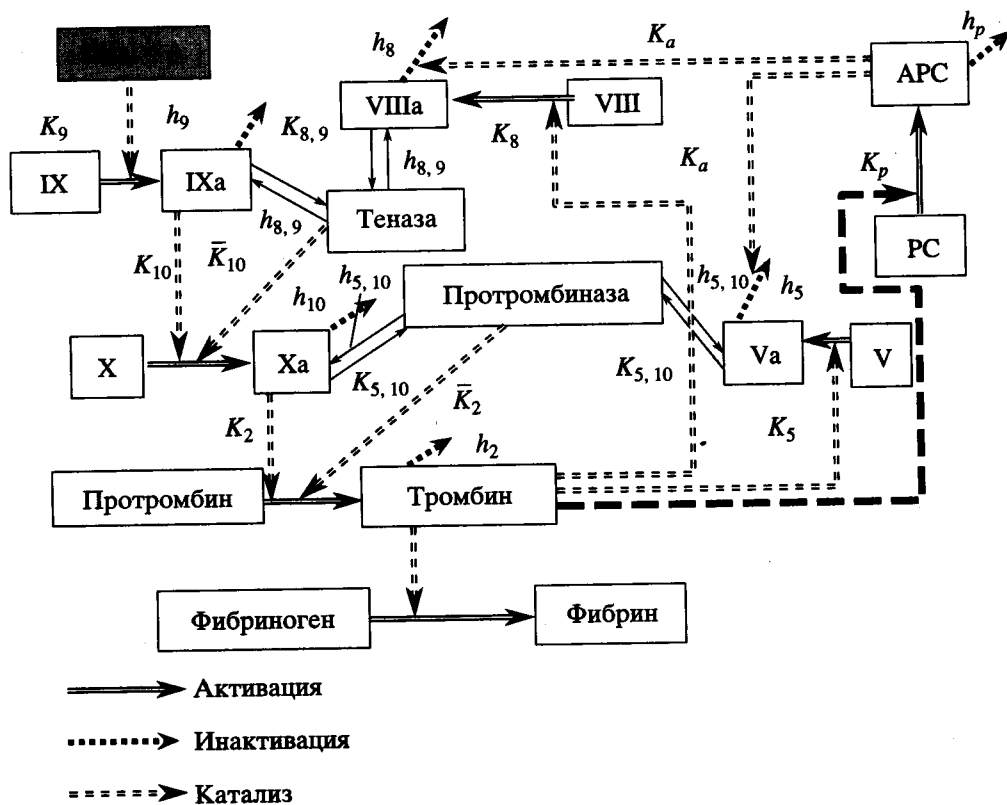


Рис. 1. Используемая в модели биохимическая схема реакций внутреннего пути системы свертывания крови. Факторы свертывания обозначены римскими цифрами в соответствии с общепринятой системой классификации. Активированные факторы помечены индексом "а". Протеин С обозначен как РС, активированный протеин С – АРС. Процесс начинается с появления активированного фактора XIa, продукта контактной активации свертывания. Это запускает каскад реакций активации XIa – IXa – Xa – тромбин, ведущих к образованию тромбина. Тромбин в свою очередь активирует реакции образования комплексов теназы и протромбиназы, формирующихся на фосфолипидных поверхностях и приводящих к резкому ускорению продукции тромбина. Тромбин же запускает реакции, прекращающие этот процесс самоускоряющегося производства, активируя протеин С, который разрушает мембранные комплексы. Жирной штриховой линией показана отрицательная обратная связь через активацию протеина С тромбином.

На схеме приведены константы скоростей процессов: K_i – активации i -го фактора свертывания, h_i – инактивации i -го фактора свертывания под действием ингибиторов плазмы, $K_{8,9}$, $K_{5,10}$ и $h_{8,9}$, $h_{5,10}$ – сборки и диссоциации теназы и протромбиназы соответственно, K_a – разрушения кофакторов протеином С, K_p – активации протеина С тромбином и h_p – инактивации протеина С.

дифференциальных уравнений (П-1) (см. Приложение). В работе [4] нами было показано, что на начальном этапе свертывания при выключенной отрицательной обратной связи ($K_p = 0$; жирная штриховая линия на рис. 1) модель дает хорошее согласие с экспериментальными данными. Это указывает на то, что восемь дифференциальных уравнений довольно хорошо имитируют поведение системы и полученная система может быть подвергнута анализу на предмет выяснения временной иерархии системы и выявления основных динамических связей между основными показателями свертывания. Кроме того, в работе [4] были изучены только начальные стадии процесса. Поэтому цель данной работы – исследование динамики свертывания на всех стадиях процесса и анализ динамической иерархии основных переменных системы.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Система восьми дифференциальных уравнений, основанная на схеме, изображенной на рис. 1, приведена в Приложении. Сопоставление полученных уравнений с экспериментальными данными и оценка величин констант реакций позволяют провести перенормировку и обезразмеривание переменных и параметров модели. Обезразмеривание системы (см. Приложение) в свою очередь позволяет провести редукцию модели и проанализировать характерные временные масштабы разных переменных.

Редукция модели. Анализ временных масштабов процессов, описываемых системой (П-1), показал, что скорости сборки комплексов и скорости их работы по активации ферментов каскада превосходят скорости остальных реакций системы на четыре и более порядков. Соответственно самыми

быстрыми являются переменные u и v , соответствующие концентрациям комплексов – теназы и протромбиназы (см. схему на рис. 1). Мы рассмотрели уравнения для u и v при фиксированных значениях остальных переменных. В этом случае уравнения независимы друг от друга. Оказалось, что эти уравнения имеют по две особые точки, одна из которых в каждом уравнении устойчива в области имеющего биохимический смысл изменения параметров и остальных переменных. Переменные u и v очень быстро достигают своих стационарных значений при фиксированных значениях остальных переменных. Таким образом, не интересуясь очень коротким переходным процессом, можно применить метод квазистационарных концентраций (более точно, теорему А.Н. Тихонова [5, 6]) и заменить переменные u и v их значениями в устойчивой особой точке. После этого шага редукции возникает система шести уравнений для переменных (см. Приложение): x_9 ; x_{10} ; x_2 ; x_8 ; x_5 ; q . Анализ полученной 6-мерной системы показывает, что переменные в ней также неравноправны. Более быстрыми оказались переменные x_5 и x_8 , соответствующие концентрациям кофакторов Va и VIIIa (см. схему на рис. 1). Мы рассмотрели уравнения для x_5 и x_8 при фиксированных значениях остальных переменных. В этом случае уравнения также независимы друг от друга. Оказалось, что каждое из этих уравнений имеет единственную особую точку, устойчивую во всей области изменения параметров и остальных переменных, имеющей биохимический смысл. Это позволило снова применить теорему А.Н. Тихонова и исключить эти две переменные:

$$\frac{dx_9}{dt} = 10^{-1}(p_9 + 10^{-6}a_9u - a_9x_9)$$

$$\frac{dx_{10}}{dt} = 0.5k_{10}10x_9 + 5 \cdot 10^4 \bar{k}_{10}F_u + 5 \cdot 10^2 a_{10}F_v - a_{10}x_{10} \quad (1)$$

$$\frac{dx_2}{dt} = 0.004k_2x_{10} + 2 \cdot 10^3 \bar{k}_2F_v - a_2x_2$$

$$\frac{dq}{dt} = 10^{-1}(0.5k_p x_2 - a_p q),$$

где

$$F_u = 10^{-4} \left(G_u - \sqrt{G_u^2 - H_u} - \frac{5k_8 x_2}{k_a q} \right)$$

$$F_v = G_v - \sqrt{G_v^2 - H_v} - \frac{5k_5 x_2}{k_a q}$$

$$G_u = \frac{1}{2} \left(\frac{0.5k_8 x_2}{a_8} + \frac{10k_8 x_2}{k_a q} + 10^4 x_9 + \right.$$

$$\left. + 10^4 l_8 \left(1 + \frac{0.1k_a q}{a_8} \right) \right)$$

$$G_v = \frac{1}{2} \left(\frac{5k_5 x_2}{a_5} + \frac{10k_5 x_2}{k_a q} + 2 \cdot 10^{-3} x_{10} + l_5 \left(1 + \frac{k_a q}{a_5} \right) \right) \quad (2)$$

$$H_u = 5k_8 x_2 \left(\frac{5k_8 x_2}{k_a q} + 10^4 x_9 + 10^4 l_8 \right) \left(\frac{0.1}{a_8} + \frac{1}{k_a q} \right)$$

$$H_v = 5k_5 x_2 \left(\frac{5k_5 x_2}{k_a q} + 2 \cdot 10^{-3} x_{10} + l_5 \right) \left(\frac{1}{a_5} + \frac{1}{k_a q} \right)$$

$$l_8 = \frac{(a_{8,9} + 10^{-2} a_8)}{\theta}; \quad l_5 = \frac{(a_{5,10} + 10^{-3} a_5)}{\theta}$$

Здесь k_i и a_i – безразмерные константы скоростей активации и инактивации факторов свертывания соответственно.

В полученной 4-мерной системе (1) переменная x_9 играет особую роль. В уравнение для x_9 остальные переменные входят с очень маленькими коэффициентами, так что x_9 фактически меняется независимо от остальных переменных, стремясь к своему предельному значению: $x_9^0 \approx \frac{p_9}{a_9} = 10p_9$. В свою

очередь переменная x_9 входит только в одно из оставшихся уравнений. Подставив $x_9(t)$ в три других уравнения, получим неавтономную систему. Если в ней заменить $x_9(t)$ на $10p_9$, то получится следующая система:

$$\frac{dx_{10}}{dt} = 0.5k_{10}10p_9 +$$

$$+ 5 \cdot 10^4 \bar{k}_{10}F_u + 5 \cdot 10^2 a_{10}F_v - a_{10}x_{10}$$

$$\frac{dx_2}{dt} = 0.004k_2x_{10} + 2 \cdot 10^3 \bar{k}_2F_v - a_2x_2 \quad (3)$$

$$\frac{dq}{dt} = 10^{-1}(0.5k_p x_2 - a_p q)$$

Здесь выражения для F_u и F_v получаются из формул (2) для F_u и F_v при замене x_9 на $10p_9$. (Значения k_{10} , \bar{k}_{10} , a_{10} , k_2 , \bar{k}_2 , a_2 , a_p , а также величину $\theta = f(\text{Ca})$ см. в Приложении). Система имеет три параметра: это концентрация кальция в мМ, входящая в уравнения через функции F_u и F_v , обозначенная p_0 , параметр $p_9 = 0.1K_9A$, который пропорционален величине активатора A , и параметр k_p , характеризующий скорость активации протеина С тромбин, которая известна недостаточно точно.

Многочисленные расчеты показали, что свойства системы уравнений (1) для переменных x_9 , x_{10} , x_2 , q и свойства системы (3) существенно не различаются. Поэтому для детального качественного

анализа поведения медленных переменных мы использовали систему (3). Напомним смысл переменных, входящих в эту систему.

Переменная x_2 пропорциональна концентрации тромбина – ключевого фермента системы свертывания. Тромбин непосредственно участвует в реакции образования фибрина, он же запускает положительные обратные связи и активирует протеин С (запуская тем самым отрицательную обратную связь). Переменная q соответствует концентрации активированного протеина С. Активированный протеин С разрушает ферменты, участвующие в сборке комплексов, и осуществляет тем самым отрицательную обратную связь. Переменная x_{10} пропорциональна сумме концентраций фактора Ха и комплекса, в который он входит. Фактор Ха активирует протромбин в прямом каскаде и является одной из компонент ферментативного комплекса протромбиназы (см. схему реакций на рис. 1).

На приведенных ниже рисунках переменные x_{10} , x_2 , q обозначены X , Y , Z соответственно, а параметры обозначены P_0 , P_9 , P_1 , где $P_0 = p_0$, $P_9 = 10p_9$, $P_1 = k_p$. Исследуем свойства системы (3) при изменении этих трех параметров.

Анализ модели показал, что при фиксированных значениях параметров система имеет не более двух устойчивых стационарных решений. Первому решению отвечает очень низкая концентрация тромбина, что соответствует жидкому состоянию плазмы крови. Второму – высокая стационарная концентрация тромбина, что соответствует свернувшемуся (твердому) состоянию плазмы. Переход из одного состояния в другое в широком диапазоне параметров происходит гистерезисно.

Рассмотрим, например, как меняется стационарная концентрация тромбина (рис. 2) в зависимости от параметра P_9 при насыщающих значениях концентрации кальция в системе $P_0 = 1.5$ ($f(1.5) \approx 0.871$). Эта зависимость имеет S-образный вид. При движении по нижней ветви кривой до значения $P_9 = P_9^{\max}$ стационарная концентрация тромбина растет, но остается маленькой, и плазма находится в жидком состоянии. При $P_9 > P_9^{\max}$ система скачком переходит из жидкого состояния в твердое. При движении по верхней ветви кривой до значения $P_9 = P_9^{\min}$ стационарная концентрация тромбина падает, но остается достаточно большой, что соответствует твердому состоянию плазмы. При $P_9 < P_9^{\min}$ система скачком переходит из твердого состояния в жидкое. Концентрации тромбина на верхней и нижней ветвях отличаются на 4–10 порядков. Конечно, приведенные “стационарные” рассуждения не соответствуют реальному процессу. В реальности роль переходных процессов, которыми мы пренебрегаем в стационарных рассуждениях, очень велика. Даже временное по-

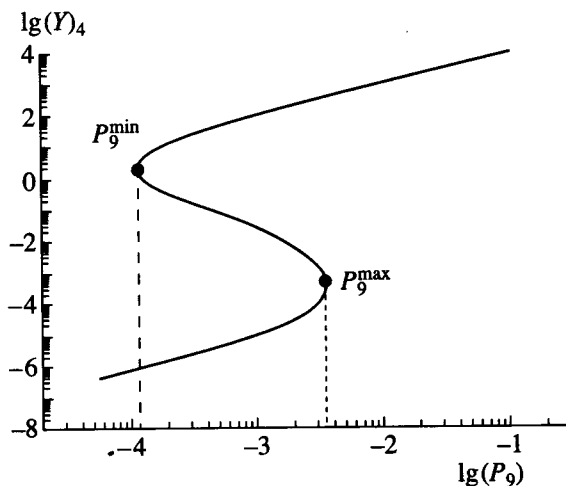


Рис. 2. Зависимость стационарной концентрации тромбина (Y) от величины активатора (P_9) при $P_0 = 1.5$. Шкала по обоим осям логарифмическая.

вышение концентрации тромбина на несколько порядков приведет к свертыванию. Но понимание “стационарных” зависимостей, в частности, понимание того, что в этой системе существует “гистерезис”, крайне важно, хотя его и нельзя прямо использовать, без учета переходных процессов.

Помимо стационарных решений система (1) может иметь устойчивые периодические решения. Более сложные установившиеся режимы в системе, по-видимому, отсутствуют. В достаточно широком диапазоне параметров в системе наблюдаются интересные переходные процессы, в том числе и такие, в которых концентрация тромбина изменяется на несколько порядков, причем немонотонно.

“Квазидвухмерность”. Анализ большого количества численных экспериментов позволяет высказать гипотезу о “квазидвухмерности” трехмерной системы (3). Во всей исследованной области параметров (или в большей ее части) система (3), по-видимому, имеет притягивающую двухмерную инвариантную поверхность, в которой лежат ее особые точки и предельные циклы. При начальных данных вне этой поверхности траектории стремятся к одному из аттракторов (точке или циклу), лежащих на этой поверхности. Предполагая справедливость этой гипотезы, в работе при описании фазовых портретов используется “двухмерная” терминология. Например, говорится об особой точке, лежащей внутри предельного цикла. Подчеркнем, что сами численные эксперименты и проведенный в работе анализ простейших бифуркаций не зависят от справедливости гипотезы о квазидвухмерности системы.

Изменения параметров. Как обычно при трехпараметрическом исследовании, мы фиксировали значение одного из параметров и строили параме-

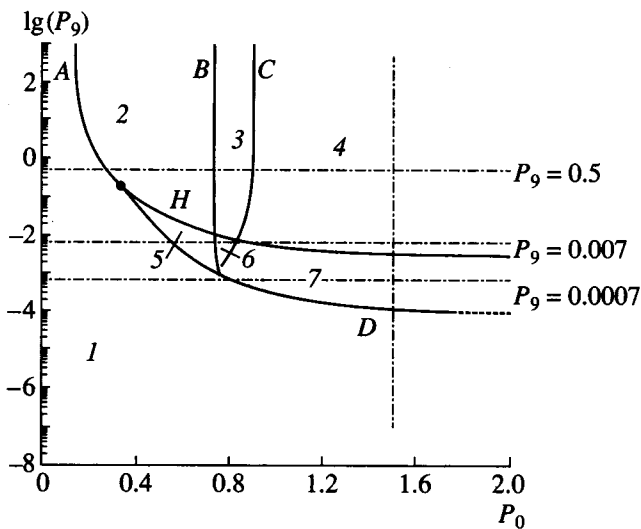


Рис. 3. Сечение пространства параметров плоскостью $P_1 = 0.5$. Кривые H и D имеют горизонтальные асимптоты $P_9 = 0.0032$ и $P_9 = 0.0001$ соответственно. Кривые A , B и C имеют вертикальные асимптоты: $P_0 = 0.1328$, $P_0 = 0.7323$ и $P_0 = 0.9$ соответственно.

трический портрет системы (3) на плоскости двух параметров. Построив достаточное количество таких "двухмерных сечений", можно получить представление о трехмерном параметрическом портрете системы (3). Рассмотрим более детально одно из таких двухмерных сечений.

Сечение $P_1 = 0.5$. На рис. 3 представлен один из двухмерных параметрических портретов. Здесь фиксировано значение параметра $P_1 = 0.5$, два других параметра (P_0 и P_9) изменяются в указанных на рисунке пределах. В этом сечении хорошо видны все найденные области параметрического пространства, в которых реализуются различные динамические режимы. На примере этого сечения рассмотрены основные типы фазовых портретов системы и простейшие бифуркации особых точек и предельных циклов. Кривые A , B , C , D , H разделяют плоскость на семь основных областей, в которых система имеет различные типы поведения. Внутри каждой из этих областей фазовый портрет системы качественно не изменяется. При пересечении границ областей происходят бифуркации, изменяющие качественный характер поведения траекторий системы. Кривые A и B – кривые бифуркации Андронова–Хопфа. На кривых H и D происходит "бифуркация слияния" (fold bifurcation) – пара особых точек сливается и аннигилирует (или рождается). На линии C исчезают (или рождаются) предельные циклы.

В области, заключенной между кривыми H и D , система имеет три особые точки. Представленная на рис. 2 S-образная кривая соответствует вертикальной пунктирной прямой на рис. 3. В областях 1–4 на плоскости $P_1 = 0.5$ (рис. 3) система имеет од-

ну особую точку. В области 1 особая точка устойчива, расположена в области низких концентраций ферментов и соответствует жидкому состоянию плазмы (рис. 4). Из рисунка видно, что переменные X и Y достигают стационарных значений раньше, чем переменная Z . После этого траектории идут почти параллельно оси Z к особой точке. Таким образом, при выбранных значениях параметров переменные X и Y являются более быстрыми, чем переменная Z .

В обширной области 2 особая точка неустойчива, единственным аттрактором является устойчивый предельный цикл – в системе наблюдаются автоколебания (рис. 5). На рис. 5 видно, что проекция предельного цикла на плоскость (X, Y) имеет небольшую ширину. В окрестности нуля предельный цикл имеет максимальную кривизну, а скорость движения по нему на этом участке самая низкая. На противоположной части предельного цикла скорость движения по нему высокая.

В области 3 особая точка устойчива, имеются также два предельных цикла: устойчивый и неустойчивый (рис. 6). Таким образом, для параметров из области 3 система уравнений (3) имеет два аттрактора. Если начальные значения всех переменных близки к координатам особой точки, то траектория устремится к особой точке. В реальной системе это соответствует выходу на стационарное состояние, отвечающее свернувшейся плазме. Если же начальные данные далеки от особой точки, то траектория системы (3) может устремиться к предельному циклу. В реальной системе это соответствует периодическому изменению концентраций всех переменных. О возможном значении этого феномена было сказано выше.

В области 4 особая точка устойчива, расположена в области высоких концентраций ферментов и соответствует свернувшейся плазме. Для параметров из области 4 система (3) других аттракторов не имеет.

В секторе между кривыми D и H (рис. 3) система имеет три особые точки. При всех значениях параметров из этого сектора первая особая точка устойчива и соответствует жидкому состоянию плазмы. Вторая особая точка лежит дальше от начала координат, чем первая, и является неустойчивой – седловой (все собственные значения вещественны, два отрицательны и одно положительно). Третья особая точка устойчива для параметров из областей 6 и 7 и неустойчива для параметров из области 5.

В области 5 система имеет один аттрактор, но характер стремления к нему сильно зависит от выбора начальных данных. На рис. 7 показана зависимость переменных от времени при близких начальных точках, расположенных по разные стороны от сепаратрисной поверхности.

В областях 6 и 7 система имеет два аттрактора – две устойчивые особые точки. В зависимости от

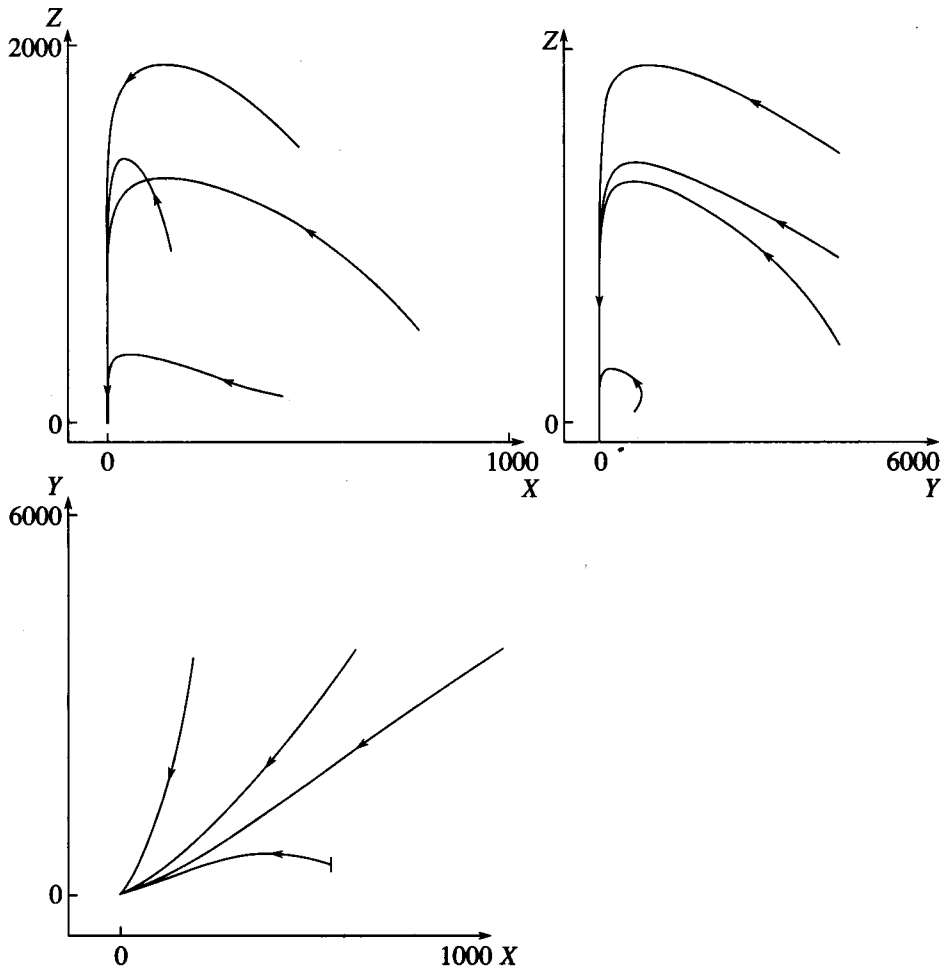


Рис. 4. Здесь и далее фазовый портрет системы в трех стандартных проекциях на координатные плоскости. Параметры P_0 и P_9 лежат в области 1 (см. рис. 3) ($P_1 = 0.5, P_9 = 0.5, P_0 = 0.2$). При любых начальных условиях система приходит в устойчивое стационарное состояние, соответствующее жидкому состоянию плазмы.

начальных условий траектория системы стремится к одной из особых точек. На рис. 8 и 9 видны траектории обоих типов. Для этих рисунков (как и для рис. 6 и 7) начальные данные выбирались вблизи упомянутой выше инвариантной двумерной поверхности.

Описание однопараметрических бифуркаций. Проследим бифуркации особых точек системы (3) при изменении параметра P_0 . Фиксируем сначала значение $P_9 = 0.5$. Кривая на рис. 10 отражает зависимость X -координаты особой точки от параметра P_0 . Эта кривая соответствует горизонтальной прямой $P_9 = 0.5$ на рис. 3. Вдоль этой прямой, при всех значениях параметра P_0 , система имеет единственную особую точку. Точки A, B и C соответствуют точкам пересечений прямой $P_9 = 0.5$ и кривых A, B и C на рис. 3. Отметим, что при изменении параметра P_0 от 0.4 до 0.8 X -координата особой точки изменяется более чем на три порядка. В области 1, как сказано выше, единственная особая точка системы устойчива. Соответствующие фазовые тра-

ектории представлены на рис. 4. При движении по прямой $P_9 = 0.5$ слева направо при пересечении кривой A происходит бифуркация Андронова–Хопфа: особая точка становится неустойчивой, и рождается устойчивый предельный цикл. При дальнейшем увеличении значения P_0 размеры предельного цикла возрастают, координаты особой точки также растут. При пересечении кривой B повторно происходит бифуркация Андронова–Хопфа. Особая точка снова становится устойчивой, и рождается неустойчивый предельный цикл; устойчивый предельный цикл при этом сохраняется (рис. 6). Далее, с ростом параметра, неустойчивый предельный цикл быстро растет, размеры предельных циклов начинают сближаться. При пересечении кривой C оба предельных цикла сливаются и исчезают; особая точка при этом сохраняет устойчивость.

Теперь фиксируем значение $P_9 = 0.007$. Соответствующая горизонтальная прямая на рис. 3 пересекает область, где система имеет три особые

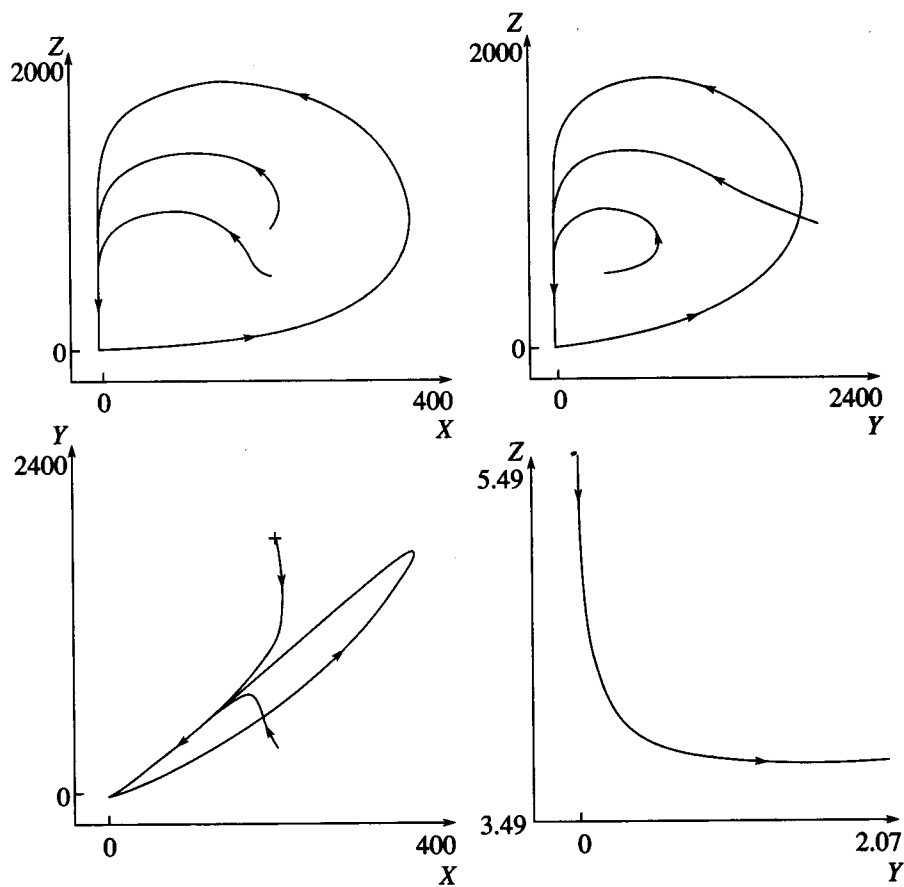


Рис. 5. Фазовые траектории системы. Параметры P_0 и P_9 лежат в области 2 (рис. 3). ($P_1 = 0.5$, $P_9 = 0.5$, $P_0 = 0.4$). В системе наблюдается колебательный режим. В правом нижнем квадрате более подробно представлена часть проекции предельного цикла на плоскость (Y, Z) вблизи нуля.

точки. На границах этой области происходит бифуркация слияния особых точек (fold bifurcation). Кривая на рис. 11 иллюстрирует эволюцию особых точек системы при $P_9 = 0.007$ в зависимости от параметра P_0 . Нижняя часть кривой соответствует устойчивой особой точке U вблизи начала координат. Участок между точками H и D отвечает "седловой" особой точке S , имеющей одномерное отталкивающее и двумерное притягивающее локальные многообразия. На верхней части кривой правее точки D лежат X -координаты особой точки F . Характер этой особой точки изменяется в зависимости от параметра. Между точками D и B особая точка F является неустойчивой с одномерным притягивающим и двумерным отталкивающим многообразиями. Между точками B и C особая точка F устойчива, и в системе существует неустойчивый предельный цикл, родившийся на кривой B . Правее точки C особая точка F остается устойчивой, а неустойчивый предельный цикл не существует.

Другие сечения $P_1 = \text{const}$. Мы подробно рассмотрели плоскость $P_1 = 0.5$. Посмотрим теперь, что происходит при изменении параметра P_1 (рис. 12).

При увеличении параметра P_1 сектор существования трех особых точек сужается. Первое качественное изменение состоит в том, что при $P_1 \sim 1.7$ на параметрическом портрете исчезают области 4 и 7, описанные выше (рис. 12а). При дальнейшем увеличении параметра P_1 параметрический портрет еще более упрощается: исчезают области 3 и 6 (рис. 12б). При этом сектор существования трех особых точек еще более сужается и перестает существовать при $P_1 \sim 30$. При $P_1 = \text{const} > \sim 30$ параметрический портрет содержит только области 1 и 2. В первой из них единственным аттрактором является особая точка, соответствующая жидкому состоянию плазмы, во второй – единственным аттрактором является предельный цикл.

При уменьшении параметра P_1 параметрический портрет качественно не изменяется. При этом сектор существования трех особых точек расширяется за счет опускания его нижней границы. Одновременно области 2, 3, 5 и 6 сужаются. (На рис. 12в они очень малы.)

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

При построении модели системы свертывания крови были учтены реакции ферментативного каскада, в том числе активация факторов X и II в прямом каскаде, две петли обратных связей через активацию кофакторов тромбином, одна отрицательная обратная связь через активацию протеина С тромбином с последующей инактивацией кофакторов. Кроме того, в модель были введены уравнения, описывающие кинетику ферментативных комплексов – теназы и протромбиназы. Поэтому предложенная модель объединяет все ранее предпринятые попытки теоретического исследования системы свертывания [4, 7–10]. Еще одним важным отличием рассмотренной модели от предложенных ранее является предположение о том, что концентрация кальция в системе имеет решающее значение на стадии сборки ферментативных комплексов (а не активации факторов X и II). Поэтому в рассмотренной модели S-образная зависимость от концентрации кальция включена в константы скорости сборки теназы и протромбиназы.

Исследование математической модели свертывания крови показало, что достаточно хорошее согласие с экспериментом достигается при двух наборах констант активации кофакторов, при этом каждому набору соответствует своя функция зависимости от концентрации кальция. Следует отметить, что оба набора констант характеризуются большой разницей между величинами активации кофакторов, т.е. если скорость активации кофактора V порядка 2 мин^{-1} , то в этом случае скорость активации кофактора VIII должна быть меньше в 10000 раз. Если же скорость активации кофактора V мала, то возрастает скорость активации кофактора VIII, и обратная связь через кофактор VIII становится сильнее, чем через V кофактор.

Модель демонстрирует пороговое поведение в зависимости от концентрации кальция в системе, которое качественно и количественно соответствует экспериментальным данным [2]. Следует отметить, что верификация модели производилась по кинетике тромбина на начальном этапе свертывания, т.е. при выключенной отрицательной обратной связи. В этом случае при переходе концентрации кальция через критическое значение в системе наблюдается экспоненциальный рост концентраций всех ферментов. При включении отрицательной обратной связи через активацию протеина С тромбином при переходе концентрации кальция через критическое значение, в системе наблюдается колебательный режим. Это означает, что при включении отрицательной обратной связи в системе меняется характер бифуркации особой точки системы.

Анализ литературных данных показал [1, 2, 5], что предпринятые ранее попытки редукции систем подобного рода, основанные на эмпирических со-

ображениях, в целом соответствуют полученным в настоящей работе результатам. Существенным отличием редуцированной системы, рассмотренной в настоящей работе, является ее трехмерность. Анализ трехмерной редуцированной системы позволил высказать гипотезу о том, что она имеет притягивающую двухмерную инвариантную поверхность, в которой лежат ее особые точки и предельные циклы. При начальных данных вне этой поверхности, траектории стремятся к одному из аттракторов (точке или циклу), лежащих на этой поверхности. Это, по-видимому, означает, что реально система медленных движений квазидвухмерна и что истинные две медленные переменные являются не концентрациями факторов, а их комбинациями.

При исследовании пространства параметров системы были найдены границы областей параметрического пространства, внутри которых реализуются различные типы поведения системы. На границах областей происходят соответствующие изменения характера особых точек системы. В работе показано, что в широком диапазоне значений параметров в фазовом пространстве системы существует устойчивый предельный цикл, что подтверждает результаты, полученные в работах [11, 12]. Было также показано, что в широком диапазоне параметров существует область, в которой система имеет три особые точки. В этом случае возможна ситуация, когда в системе наблюдается бистабильность: в зависимости от начальных концентраций ферментов система может приходить в одно из двух устойчивых стационарных состояний. Также найден другой тип бистабильности: в системе существует два аттрактора – устойчивая особая точка и устойчивый предельный цикл, разделенные неустойчивым предельным циклом. Тогда в зависимости от начальных данных траектории системы либо приходят в устойчивое стационарное состояние, либо в системе наблюдаются колебания.

Кроме того, возможна ситуация, когда при наличии в системе трех особых точек только одна из них является устойчивой. В этом случае система в зависимости от начальных концентраций ферментов может приходить в устойчивое стационарное состояние двумя качественно различными способами: в одном случае это происходит монотонно, в другом – наблюдается импульсный рост концентраций ферментов, после чего система приходит в устойчивое стационарное состояние.

Работа была частично поддержана грантом Российского фонда фундаментальных исследований (№ 03-04-48338).

ПРИЛОЖЕНИЕ

В модели в качестве переменных рассматриваются концентрации активных ферментов, причем исчерпанием предшественников мы пренебрега-

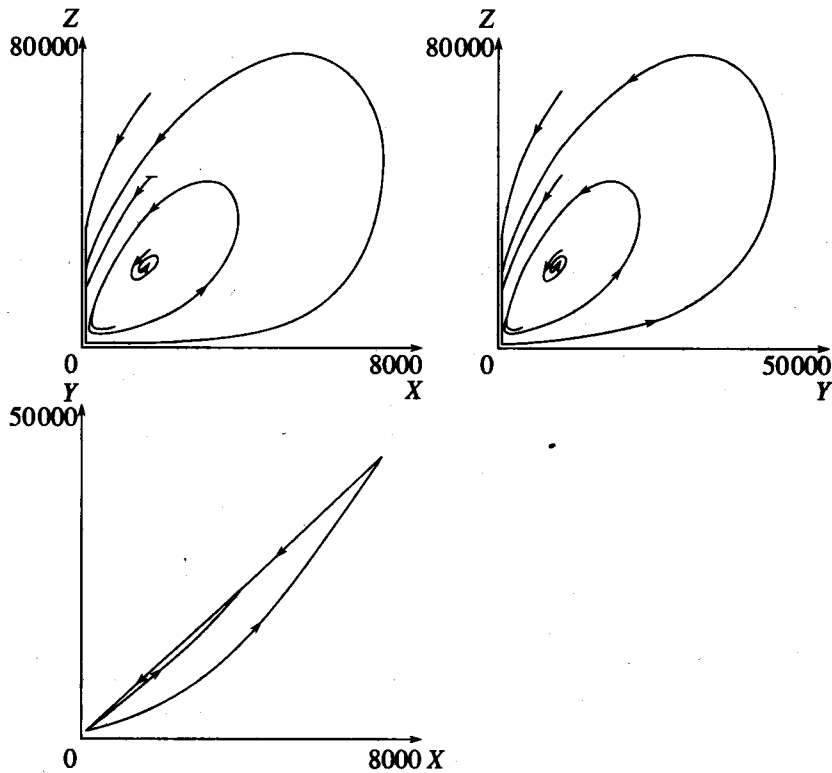


Рис. 6. Проекция фазового пространства на координатные плоскости в случае, когда параметры лежат в области 3 (рис. 3) ($P_1 = 0.5, P_9 = 0.5, P_0 = 0.80$). На рисунке хорошо видны два предельных цикла и устойчивая особая точка.

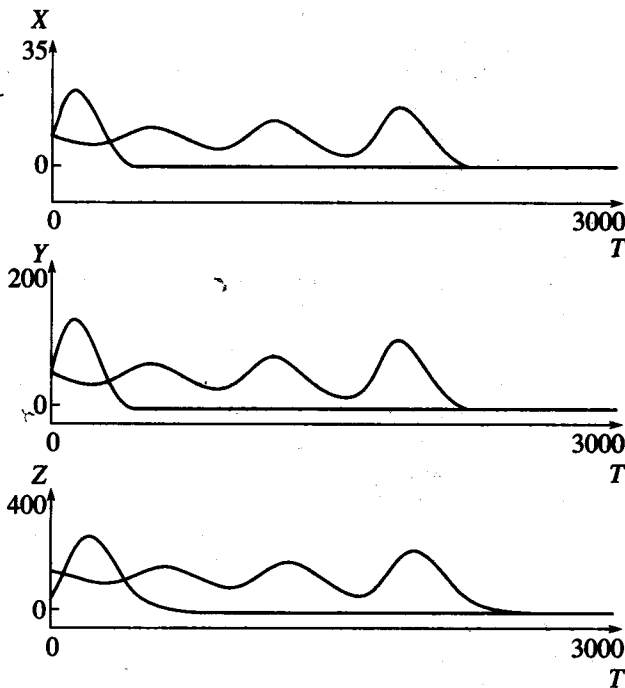


Рис. 7. Интегральные кривые системы при $P_9 = 0.007, P_0 = 0.7$, параметры лежат в области 5 (рис. 3). Система имеет три особые точки: неустойчивый фокус, седло и устойчивый узел, поэтому характер стремления к единственному аттрактору, расположенному вблизи нуля, существенно образом зависит от выбора начальных условий.

ем. Запуск свертывания моделируется заданием величины активатора (концентрации фактора XIa), которая полагается не зависящей от времени (в экспериментах постоянный уровень активации устанавливается до начала активного образования тромбина). В модели учитывается инактивация активных ферментов под действием ингибиторов плазмы.

$$\begin{aligned} \frac{dy_9}{dt} &= K_9 A - h_9 y_9 - K_{8,9} y_8 y_9 + h_{8,9} z + h_8 z \\ \frac{dy_{10}}{dt} &= K_{10} y_9 + \bar{K}_{10} z - h_{10} y_{10} - K_{5,10} y_5 y_{10} + h_{5,10} w + h_5 w \\ \frac{dy_2}{dt} &= K_2 y_{10} + \bar{K}_2 w - h_2 y_2 \\ \frac{dy_8}{dt} &= K_8 y_2 - h_8 y_8 - K_a c y_8 - K_{8,9} y_8 y_9 + h_{8,9} z \\ \frac{dy_5}{dt} &= K_5 y_2 - h_5 y_5 - K_a c y_5 - K_{5,10} y_5 y_{10} + h_{5,10} w \\ \frac{dz}{dt} &= K_{8,9} y_8 y_9 - h_{8,9} z - h_8 z \\ \frac{dw}{dt} &= K_{5,10} y_5 y_{10} - h_{5,10} w - h_5 w \end{aligned} \tag{II-1}$$

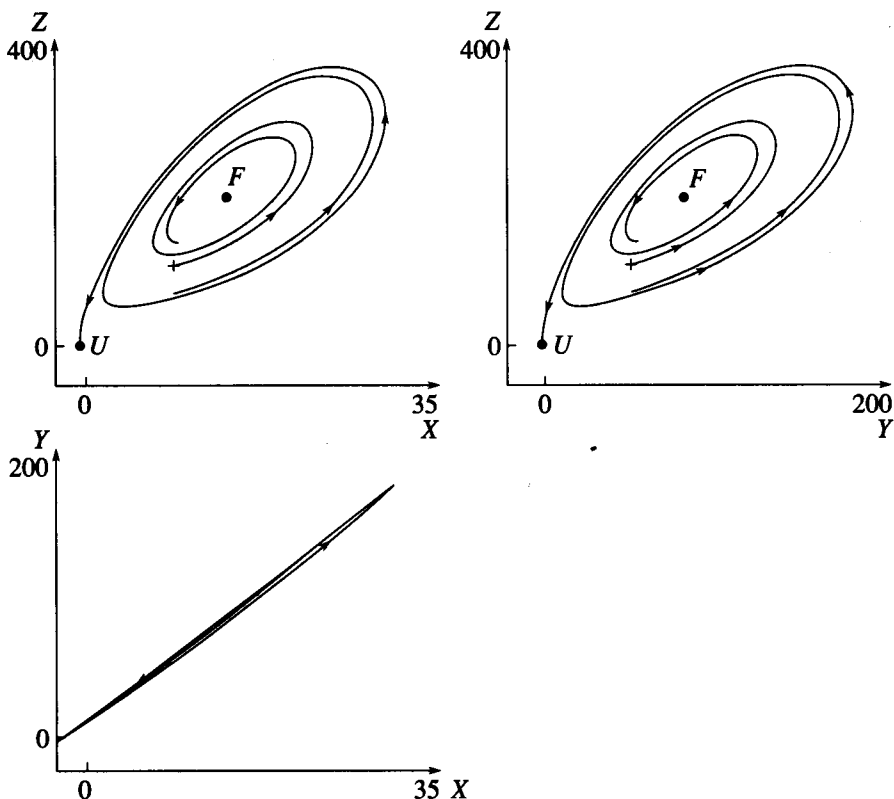


Рис. 8. Фазовые траектории системы при $P_1 = 0.5, P_9 = 0.007, P_0 = 0.76$ (область 6, рис. 3). Траектории, в зависимости от начальных данных, приходят в устойчивую особую точку F либо, делая несколько оборотов вокруг неустойчивого предельного цикла, приходят в устойчивый узел U .

$$\frac{dc}{d\tau} = K_p y_2 - h_p c,$$

где y_i ($i = 9, 10, 2, 8, 5$) – концентрации активных факторов IXa, Xa, IIa, VIIIa, Va соответственно; z, w – концентрации протромбиназы и теназы; c – концентрация протеина С (АРС); A – величина активатора; K_i ($i = 9, 10, 2, 8, 5$), \bar{K}_2, \bar{K}_{10} – константы активации соответствующих факторов; h_i ($i = 9, 10, 2$) – константы скоростей инактивации активных факторов ингибиторами плазмы; h_8, h_5 – константы скоростей разрушения кофакторов VIIIa, Va в плазме как в свободном состоянии, так и в составе комплексов; K_a – константа скорости разрушения кофакторов протеином С; K_p – константа скорости активации протеина С тромбином, h_p – константа инактивации протеина С; $K_{8,9}, K_{5,10}$ и $h_{8,9}, h_{5,10}$ – константы скоростей сборки и диссоциации теназы и протромбиназы соответственно. Отметим, что $K_{8,9}$ и $K_{5,10}$ зависят от концентрации кальция. Все концентрации выражены в нМ (кроме концентрации кальция, выраженной в мМ), время τ – в мин. Значения кинетических констант, учтенных в этой модели реакций, взятые из литературных данных, приведены ниже:

$$K_{10} = 0.002 \text{ мин}^{-1}, \bar{K}_{10} = 500 \text{ мин}^{-1} [15]; h_{10} = 1 \text{ мин}^{-1} [16]; K_2 = 2.3 \text{ мин}^{-1}, \bar{K}_2 = 2000 \text{ мин}^{-1} [17]; h_2 = 1.3 \text{ мин}^{-1} [18]; h_8 = 2 \text{ мин}^{-1}, h_5 = 0.2 \text{ мин}^{-1} [19]; K_{8,9} = K_{5,10} = Mf([Ca^{2+}]), M = 100 \text{ пМ}^{-1} \text{ мин}^{-1}, h_{8,9} = h_{5,10} = 100 \text{ мин}^{-1}, K_a = 1.2 \text{ пМ}^{-1} \text{ мин}^{-1} [20]; K_p = 0.0014 \text{ мин}^{-1} [21]; h_p = 0.1 \text{ мин}^{-1} [22]$$

Верификация модели. Большая часть, но не все константы скоростей, входящие в уравнения (П-1), измерены экспериментально. Для определения вида зависимости констант $K_{8,9} = K_{5,10} = Mf([Ca^{2+}])$ были использованы экспериментальные данные [2], описывающие рост концентрации тромбина на начальном этапе свертывания при промежуточных концентрациях кальция. Функция $f([Ca^{2+}])$ была выбрана в виде $f(Ca) = \frac{Ca^r}{D + Ca^r}$. В результате были получены следующие значения: $r = 4; D = 0.75; K_8 = 0.00016; K_5 = 1.93$. В работе [1] было показано, что на начальном этапе свертывания крови рост концентрации тромбина хорошо описывается экспоненциальной функцией вида:

$$A = 0.05 \text{ пМ}, K_9 = 20 \text{ мин}^{-1} [13]; h_9 = 0.1 \text{ мин}^{-1} [14];$$

$$y(t) = B(e^{Bt} - 1) \tag{П-2}$$

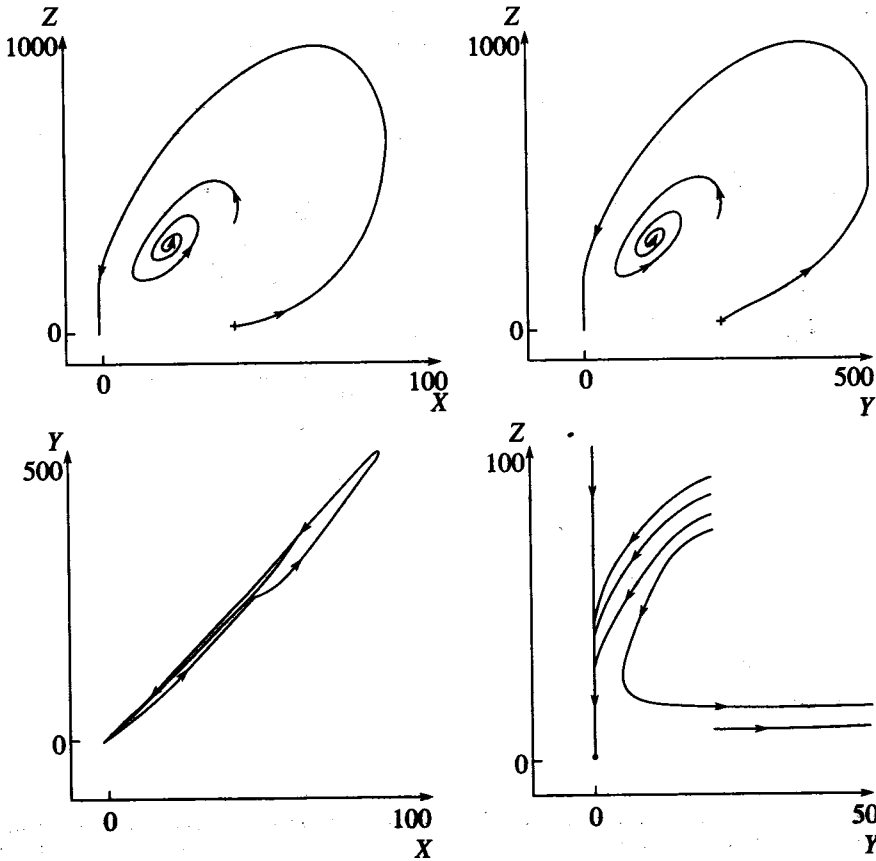


Рис. 9. Фазовые траектории системы при $P_9 = 0.007, P_0 = 0.82$ (область 7, рис. 3). При различных начальных условиях система приходит в одно из двух устойчивых стационарных состояний. Окрестность седловой точки более подробно представлена в правом нижнем углу.

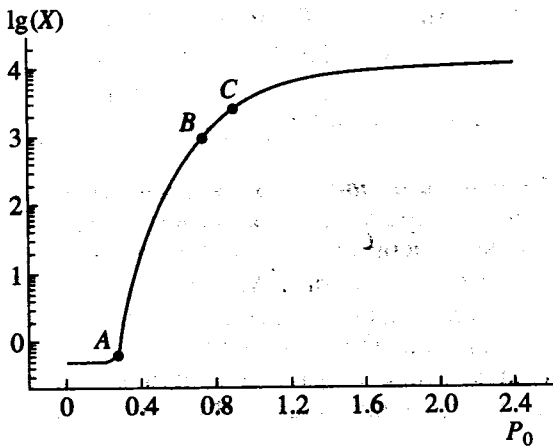


Рис. 10. Кривая, отражающая зависимость X-координаты особой точки от параметра P_0 при фиксированном $P_9 = 0.5$. На вертикальной оси отложены значения X-координаты особой точки в логарифмической шкале.

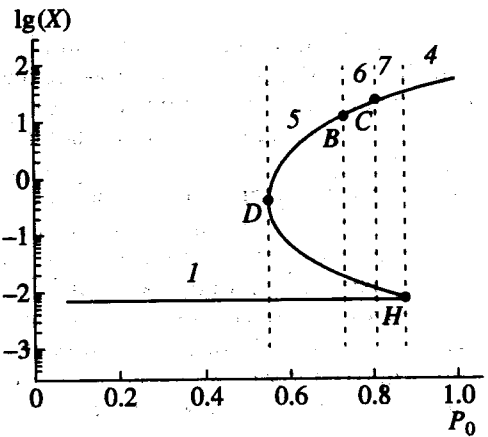


Рис. 11. Зависимость X-координаты особой точки от параметра P_0 при фиксированных значениях $P_1 = 0.5$ и $P_9 = 0.007$. Кривая имеет S-образный вид, показаны точки пересечения кривой с поверхностями H, D, B, C (рис. 3). Абсциссы точек H, D, B, C равны 0.876; 0.55; 0.73, 0.81 соответственно.

Расчетные кривые, описывающие рост концентрации тромбина в нашей модели, могут быть приближены функциями того же вида.

Сделаем линейную замену переменных в исходной системе уравнений (II-1):

$$u_9 = z + y_9; \quad u_8 = z + y_8; \quad u_{10} = w + y_{10}; \quad u_5 = w + y_5;$$

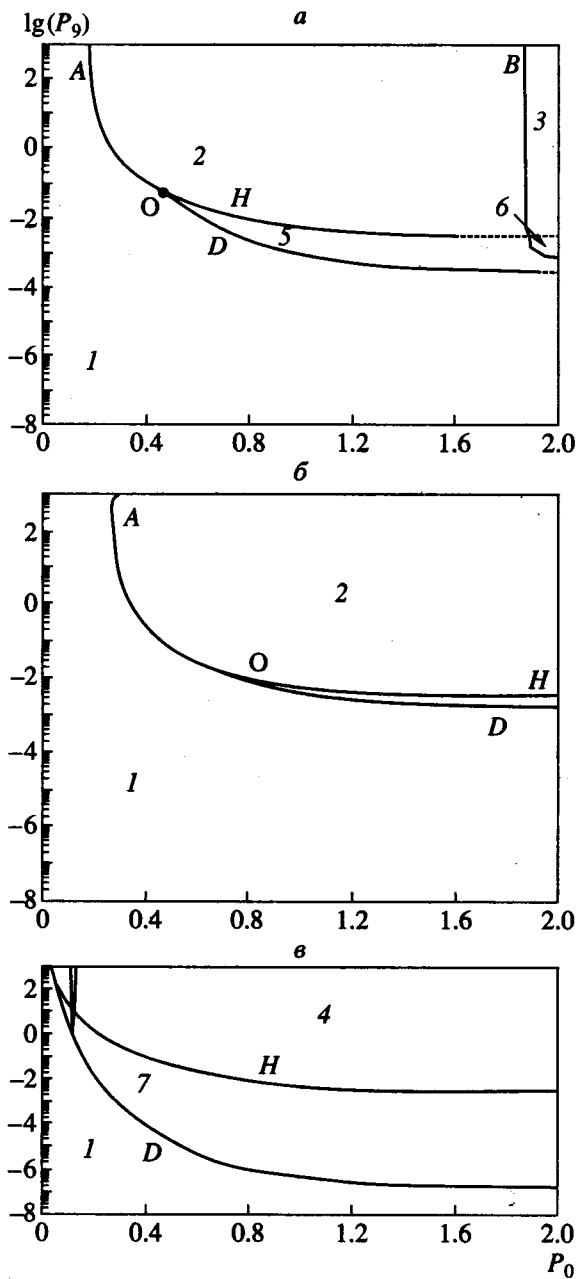


Рис. 12. Сечение пространства параметров плоскостью. Значение параметра P_1 выбрано равным 1.7 (а); 10.0 (б) и 0.0005 (в) соответственно.

$$u_2 = u_2; \quad z = z; \quad w = w; \quad c = c.$$

Как известно, при низких концентрациях Са свертывание не идет, и кровь всегда остается жидкой. Система уравнений (П-1) при этом имеет единственную особую точку, которая устойчива. Значения переменных, близкие к координатам этой особой точки при концентрации кальция, равной 0.2 мМ, мы выбрали в качестве нормировочных для каждой переменной. Для этого была сделана следующая замена переменных и времени:

$$x_i = \frac{u_i}{u_i^0} (i = 9, 10, 2, 8, 5);$$

$$u = \frac{z}{z^0}; \quad v = \frac{w}{w^0}; \quad q = \frac{c}{c^0}; \quad t = \frac{\tau}{\tau^0};$$

где x_i ($i = 9, 10, 2, 8, 5$), u, v, q – новые переменные, t – новое время, τ – старое время; буквами с верхним индексом 0 обозначены нормировочные коэффициенты.

$$u_9^0 = 10 \text{ нМ}; \quad u_{10}^0 = 2 \cdot 10^{-2} \text{ нМ}; \quad u_2^0 = 5 \text{ нМ};$$

$$u_8^0 = 10^{-4} \text{ нМ}; \quad u_5^0 = 1 \text{ нМ}; \quad z_0 = 10^{-5} \text{ нМ};$$

$$w_0 = 10^{-4} \text{ нМ}; \quad c_0 = 10^{-1} \text{ нМ}; \quad r^0 = \frac{2}{K_2} = 10^{-3} \text{ мин.}$$

Значения полученных безразмерных констант приведены ниже:

$$k_a = 0.12; \quad k_2 = 0.23; \quad k_2^- = 0.2; \quad k_{10} = 0.2;$$

$$k_{10}^- = 0.5; \quad k_5 = 0.193;$$

$$k_8 = 0.16; \quad a_2 = 0.13; \quad a_5 = 0.2; \quad a_8 = 0.2;$$

$$a_9 = 0.1; \quad a_{10} = 0.1$$

$$a_{8,9} = a_{5,10} = 0.1; \quad a_p = 0.1.$$

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ханин М.А., Семенов В.В. // Биофизика. 1990. Т. 35. № 1. С. 139–141.
2. Khanin M.A., Semenov V.V. // J. Theor. Biol. 1989. V. 136. P. 127–134.
3. Атауллаханов Ф.И., Волкова Р.И., Похилко А.В., Синауридзе Е.И. // Биофизика. 1994. Т.39. № 4. С. 713–719.
4. Атауллаханов Ф.И., Молчанова Д.А., Похилко А.В. // Биофизика. 1995. Т. 40. № 2. С. 434–442.
5. Тихонов А.Н. // Мат. сборник. 1948. № 22 (64). С. 193–204.
6. Тихонов А.Н. // Мат. сборник. 1952. № 31 (73). С. 575–585.
7. Атауллаханов Ф.И., Гурия Г.Т. // Биофизика. 1994. Т. 39. № 1. С. 89–96.
8. Атауллаханов Ф.И., Гурия Г.Т., Сафрошкина А.Ю. // Биофизика. 1994. Т. 39. № 1. С. 97–106.
9. Beltrami E., Jesty J. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1995. V. 92. № 19. P. 8744–8748.
10. Hirayama H., Yoshii K., Ojima H., Kawai N., Shintaro G., Fukuyama Y. // IEICE Transactions on Fundamentals of Electronics, Communications and Computer Sciences. 1995. V.78. № 10. P. 1419–1432.
11. Зарницкая В.И. Исследование механизмов остановки роста тромба: Дис. ... канд. физ.-мат. наук. М.: ГНЦ РАМН. 1997. С. 76.
12. Zarnitsina V.I., Ataullakhanov F.I., Lobanov A.I., Morozova O.L. // Chaos. 2001. V. 11. № 1. P. 57–70.

13. *Osterud B., Bouma B.N., Griffin J.H.* // *J. Biol. Chem.* 1978. V. 253. № 17. P. 5946–5951.
14. *Rosenberg J.S., McKenna P.W., Rosenberg R.D.* // *J. Biol. Chem.* 1975. V. 250. № 23. P. 8883–8888.
15. *Van Dieijen G., Tans G., Rosing J., Hemker H.C.* // *J. Biol. Chem.* 1981. V. 256. № 7. P. 3433–3441.
16. *Jesty J.* // *Anal. Biochem.* 1986. V. 152. № 2. P. 402–411.
17. *Rosing J., Tans G., Govers-Riemslog J.W.P., Zwaal R.F.A., Hemker H.C.* // *J. Biol. Chem.* 1980. V. 255. P. 274–283.
18. *Smith G.F.* // *The thrombin* / Ed. Machovich R. Boca Raton, CRC Press, 1984. V. 1. P. 55–61.
19. *Pieters J., Lindhout T., Hemker H.C.* // *Blood.* 1989. V. 74. № 3. P. 1021–1024.
20. *Zarnitsina V.I., Pokhilko A.V., Ataulakhanov F.I.* // *Thrombosis Research.* 1996. V. 84. № 4. P. 225–236.
21. *Willems G.M., Lindhout T., Hermens V.T., Hemker H.C.* // *Haemostasis.* 1991. V. 21. № 1. P. 197–207.
22. *Heeb M.J., Espana F., Griffin J.N.* // *Blood.* 1989. V. 73. P. 446–454.

Dynamic Regime Investigation of Blood Coagulation by Means of Mathematic Model

D. A. Molchanova¹, A. A. Butylin², F. I. Ataulakhanov^{2,3,4}

¹ *Institute of the Mathematical Problems of Biology, Pushchino, Moscow Region;*

² *Lomonosov Moscow State University, Physics Department, Moscow;*

³ *National Research Center for Hematology Russian Academy of Sciences, Moscow;*

⁴ *Institute of the Theoretical and Experimental Biophysics Russian Academy of Medical Sciences, Pushchino, Moscow Region*

Dynamic regimes were studied on mathematical model of blood coagulation. The model includes all main pathway reactions beginning from XI factor activation. Reactions of complexes of IXa with VIII, and Xa with Va formation on surfaces of phospholipid vesicles or cells were taken into account. Interactions of active factors with such inhibitors as antithrombin III and reactions of cofactors Va and VIIIa inactivation by system of protein C were also taken into account. It was shown that there are three characteristic times of the order of 10^{-2} s, 1 s and 1 min in the system. In this connection the obtained set of 8 differential equations falls into three subsets. Dynamic study of super fast and fast systems shows their stability. In slow system described by the set of 3 differential equations there are stable steady state, self-sustained oscillations and also co-existence stable steady state with oscillations, i.e. bistability. The characters of bifurcations have been studied on this model.