



Fakulta aplikovaných věd

Katedra mechaniky

---

Úvod do matematického modelování vzniku  
krevních sraženin

---

Bakalářská práce

Plzeň, 2018

Veronika Dušková

# Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma „Úvod do matematického modelování vzniku krevních sraženin“ vypracovala samostatně s použitím uvedené literatury.

V Plzni, 31.5. 2018

Veronika Dušková

## Poděkování

Mé poděkování patří především Ing. Aleně Jonášové, Ph.D., vedoucí bakalářské práce, za odborné vedení, trpělivost a množství cenných rad, které mi nejen během konzultací poskytla. Dále bych ráda poděkovala své rodině za podporu po celou dobu studia.

## Abstrakt

Hlavním cílem bakalářské práce je popsat proces srážení krve z pohledu biologie, biochemie a matematiky. S odkazem na nejnovější studie jsou nejprve zmíněny a stručně popsány vybrané nejznámější biologické modely koagulace – např. model koagulační kaskády či v současnosti platný buněčný model. Na jejich základě je dále provedena rešerše prací, které se zaměřují na matematické modelování vzniku krevních sraženin na různých úrovních. Pro potřeby této práce jsou uvažovány dva typově a principiálně odlišné základní modely, které jsou nejen analyzovány z hlediska chemické reakční kinetiky, ale i numericky řešeny v prostředí softwaru Matlab. První model založený na chemické interakci mezi hlavním aktivátorem a inhibítorem koagulace je řešen v rámci idealizovaných 1D a 2D geometrií s cílem demonstrovat vliv difúze a konvekce na podobu vznikajícího trombu a zároveň potvrdit existenci tzv. autovln. Druhý model uvažovaný v této práci vychází ze sekvence chemických reakcí, které vedou až k tvorbě trombinu – hlavního aktivátoru přeměny fibrinogenu na nerozpustný fibrin, který tvoří základ krevních sraženin. Matematický popis tohoto modelu je odvozen na základě principů reakční kinetiky, které jsou pro lepší představu rovněž součástí této bakalářské práce.

**Klíčová slova:** zástava krvácení, krevní sraženina, srážení krve, numerická simulace, koagulační kaskáda, buněčný model

# Abstract

The main objective of the bachelor thesis is to describe the blood clotting process from the biological, biochemical and mathematical point of view. With reference to recent studies, the most well-known biological models of haemocoagulation, such as the coagulation cascade model or the latest cell-based model, are mentioned and their principles briefly explained. On the basis of these models, a literature survey is undertaken with focus on works dealing with mathematical modelling of the blood clotting process at different scales. For the purpose of this thesis, two kinds of mathematical models are considered, analysed in terms of chemical reaction kinetics and numerically solved in the software Matlab. The first model based on the chemical interaction between the main coagulation activator and inhibitor is solved in idealised 1D and 2D geometries with the aim to demonstrate the effect of diffusion and convection on the thrombus formation and at the same time to confirm the existence of so-called autowaves. The second model considered in this thesis is based on a sequence of chemical reactions that lead to thrombin generation – the main activator of the fibrinogen conversion to insoluble fibrin, which forms the basis of blood clots. The mathematical description of the model is derived by employing principles of reaction kinetics.

**Key words:** haemostatis, blood clot, haemocoagulation, numerical simulation, coagulation cascade, cell-based model

# Obsah

Úvod	1
<b>1 Zástava krvácení</b>	<b>3</b>
1.1 Hemostáza . . . . .	4
1.2 Role cévy . . . . .	4
1.3 Primární hemostáza . . . . .	5
1.4 Sekundární hemostáza . . . . .	6
1.4.1 Trojcestný model koagulační kaskády . . . . .	7
1.4.2 Buněčný model . . . . .	9
1.5 Fibrinolýza, inhibitory koagulace . . . . .	13
1.6 Poruchy srážení krve . . . . .	13
<b>2 Krátký exkurz do reakční kinetiky</b>	<b>14</b>
2.1 Základní pojmy . . . . .	14
2.2 Rychlost chemické reakce . . . . .	15
2.3 Rozdělení chemických reakcí z hlediska kinetiky . . . . .	17
2.3.1 Elementární reakce . . . . .	17
2.3.2 Jednoduché reakce . . . . .	18
2.3.3 Složité (simultánní) reakce . . . . .	21
2.4 Katalýza . . . . .	23
2.4.1 Enzymová katalýza . . . . .	24
<b>3 Matematické modely srážení krve</b>	<b>26</b>
3.1 Modely založené na ODR . . . . .	26
3.2 Modely založené na PDR . . . . .	28
<b>4 Model typu aktivátor-inhibitor</b>	<b>31</b>
4.1 Numerické řešení v 1D . . . . .	33
4.2 Numerické řešení ve 2D . . . . .	37
4.3 Vliv proudění krve . . . . .	41
4.4 Další navazující modely . . . . .	45
<b>5 Model koagulační kaskády</b>	<b>46</b>
5.1 Numerické řešení soustavy ODR . . . . .	52
<b>Závěr</b>	<b>57</b>
<b>Použitá literatura</b>	<b>59</b>

# Úvod

Předložená bakalářská práce se zabývá procesem zástavy krvácení (hemostázou) v lidském organismu z pohledu biologie, biochemie a matematiky. Důraz je přitom kladen na pochopení mechanismu srážení krve (hemokoagulaci) a jeho matematický popis prezentovaný v současné odborné literatuře. Hlavním cílem této práce je proto proniknout do problematiky matematického modelování hemokoagulace a pochopit principy, které se užívají při sestavování příslušných modelů.

Obsah práce je rozdělen do pěti kapitol. Jelikož matematický popis srážení krve obecně vychází z biologických znalostí o mechanismu tohoto procesu, je první kapitola věnována jeho stručnému rozboru z pohledu biologie a biochemie. Dále jsou zde detailněji představeny dva nejznámější biologické modely – třicestný model koagulační kaskády, který by donedávna přijímán jako ten správný model, a buněčný model, který, ačkoliv ne zcela konečný a stále se vyvíjející, je v současnosti vnímán jako jediný korektní v in-vivo podmínkách.

Samotná znalost biologického pozadí hemokoagulace není ovšem pro sestavení příslušných matematických modelů dostačující. V mnoha případech vyžaduje hlubší pochopení probíhajících chemických reakcí mezi jednotlivými koagulačními faktory a jejich komplexy. Z tohoto důvodu je druhá kapitola této práce věnována tématu reakční kinetiky, která se v rámci fyzikální chemie zabývá studiem chemických reakcí, jejich mechanismů a rychlostí jejich průběhu. Tato teorie souhrnně uvedená v této kapitole je později aplikována při analýze a odvození matematických modelů hemokoagulace, které jsou podrobněji popsány ve čtvrté a páté kapitole této práce.

Obsah třetí kapitoly je zaměřen na rešerši vybraných modelů srážení krve a jejich klasifikaci z pohledu matematiky. Ty lze obecně rozdělit do dvou základních skupin – na modely tvořené obyčejnými diferenciálními rovnicemi a modely vycházející z parciálních diferenciálních rovnic. Obě skupiny jsou podrobněji popsány a doplněny vhodnými příklady konkrétních modelů.

V návaznosti na provedenou rešerši je ve čtvrté kapitole představen jednoduchý model hemokoagulace tvořený soustavou parciálních diferenciálních rovnic, které popisují vzájemnou chemickou interakci mezi hlavním aktivátorem a inhibítorem srážení krve. Příslušné rovnice obou látek jsou zde doplněny jednoduchou rovnicí pro tvorbu nerozpustného fibrinu, který tvoří základ krevních sraženin. Numerické řešení uvedeného modelu v 1D je realizováno s cílem analyzovat vliv doby trvání a síly počátečního stimulu na podobu výsledného trombu. Ve 2D případě je pak naše pozornost upřena na různé chování modelu v závislosti na specifickém prahovém parametru a při uvažování vlivu protékající krve.

V poslední páté kapitole je podrobně analyzován matematický model hemokoagulace spadající do skupiny modelů vyjádřených prostřednictvím soustavy obyčejných diferenciálních rovnic. Oproti předchozímu modelu s aktivátorem a inhibítorem je zde uvažovaný model více v souladu s principy, podle kterých probíhá proces hemokoagulace

v in-vivo podmínkách, tj. respektuje existenci koagulačních faktorů a jejich komplexů. Výsledný matematický model založený na 12 chemických reakcích, při nichž dochází k přeměně 18 různých látek, je v této kapitole odvozen pomocí teorie reakční kinetiky shrnuté ve druhé kapitole této práce.



# 1 Zástava krvácení

V této kapitole bude nastíněna podstata srážení krve. Jelikož je samotný proces velmi složitý a cílem předložené bakalářské práce není podrobně popsat princip hemostázy z pohledu biochemie, viz např. [13], ale poskytnout pouze stručný náhled do problematiky, budou zde popsány jen nejdůležitější principy hemostázy.

Pro pochopení podstaty srážení krve je vhodné nastínit základní funkci buněk a dalších látek účastnících se zástavy krvácení. Jedná se především o krevní buňky a koagulační faktory:

## Krevní destičky

Jedním z krevních elementů jsou krevní destičky, odborně nazývané trombocyty. Jsou to bezjaderné úlomky buněk kostní dřeně, tzv. megakaryocytů, nacházejí se v krvi a jejich počet je přibližně  $1,5 - 4 \times 10^5$  na  $1 \text{ mm}^3$  [9]. V jejich membráně se nacházejí receptory – membránové glykoproteiny<sup>1</sup>, pomocí nichž probíhá interakce s dalšími látkami a buňkami účastnících se zástavy krvácení. V cytoplasmě trombocytů se nacházejí také  $\alpha$  granula, která tvoří zásobárnu tzv. von Willebrandova faktoru, fibrinogenu, a koagulačního faktoru V, a denzní granula, která obsahují ionty vápníku  $\text{Ca}^{2+}$ , důležité při pozdějším srážení krve, serotonin a adenosindifosfát (ADP).

## Bílé krvinky

Tyto buňky, odborným termínem označovány jako leukocyty, vznikají také v kostní dřeni a podílejí se na správné funkci imunitního systému. Existuje mnoho druhů leukocytů a z hlediska své funkce je lze rozdělit do několika skupin. Pro srážení krve jsou důležité buňky jednoho z typu bílých krvinek, tzv. monocyty, které mají schopnost produkovat tkáňový faktor, což je jedna z látek účastnících se srážení krve. Ostatní bílé krvinky se na zástavě krvácení podílejí jen pasivně, neboť mohou být během krvácení zachytávány a použity na zvýšení objemu sraženiny (odborně nazýváno jako trombus) ucpávající porušenou cévu.

## Červené krvinky

Hlavní funkcí červených krvinek neboli erytrocytů je okysličování tkání a orgánů. Jsou to bezjaderné buňky diskovitého tvaru a v procesu srážení krve hrají podobnou pasivní roli jako bílé krvinky.

## Koagulační faktory

Součástí krevní plazmy jsou také plazmatické bílkoviny, mezi něž patří i koagulační faktory. Ty v souladu s všeobecně přijatými zásadami jsou označovány římskými číslicemi, které jim

---

<sup>1</sup>bílkovina, jejíž součástí je i molekula cukru

byly přiděleny v době jejich objevení, viz tab. 1.1. Mezi nejvýznamější faktory patří fibrinogen (I) a jeho aktivovaná forma fibrin (Ia), k jejímuž vytvoření celý proces srážení krve spěje.

## 1.1 Hemostáza

Zástava krvácení neboli hemostáza je proces, při kterém dochází k tvorbě krevní sraženiny v místě narušení cévní stěny při zachování toku krve. Paralelně s hemostázou probíhá také fibrinolýza<sup>2</sup> a inhibice srážení krve, které vzniklou sraženinu v případě potřeby regulují a nakonec rozvolňují. Mechanismy zástavy krvácení jsou velmi složité proto, aby nedocházelo k nechtěnému srážení krve. Nedostatek, úplná absence nebo přebytek některých z látek podílejících se zástavě na krvácení může způsobovat poruchy srážení a samotné odhalování principu srážení krve se děje převážně na základě těchto poruch. Proces hemostázy se skládá z několika fází a podílí se na něm

- cévní stěna,
- krevní destičky a další krevní buňky,
- koagulační faktory,
- další látky obsažené v krvi.

Při poranění dochází ke stažení cévy ve snaze snížit průtok krve a omezit ztrátu krve. Krevní destičky se následně hromadí v místě poranění, čímž vytvoří primární zátku. Tento proces se nazývá **primární hemostáza**. Další fází je tzv. **sekundární hemostáza**, která vyústí v tvorbu fibrinové sítě, která zpěvňuje a stabilizuje destičkovou ucpávku. Podstata obou fází bude podrobněji popsána v dalších odstavcích této kapitoly.

## 1.2 Role cévy

Zdravá neporušená céva brání srážení krve a přilnutí destiček prostřednictvím vylučování specifických látek. Do skupiny látek, které brání přilnutí destiček a jejich hromadění v místě, kde není třeba vytvořit krevní sraženinu, se řadí například oxid dusnatý (NO) a prostaglandin I<sub>2</sub> označovaný zkratkou PGI<sub>2</sub> [9]. Mezi vylučované látky, které potlačují srážení krve, patří např. trombomodulin. Cévní stěna se podílí na hemostáze pouze v případě, že dojde k jejímu poranění. V tomto případě nastává okamžité stažení cévy (vazokonstrikce) a zmenšení jejího průsvitu, čímž se omezí průtok krve, a tedy i její ztráta. Poraněním cévy dochází k porušení endotelu a odhalení vyšších vrstev cévy, ve kterých se nacházejí mimo jiné i vlákna kolagenu, která jsou nezbytná pro zahájení primární hemostázy. V případě srážení krve u aneurysmat či stagnačních toků, kdy nedochází k porušení cévy, se na zástavě krvácení stěna aktivně nepodílí.

---

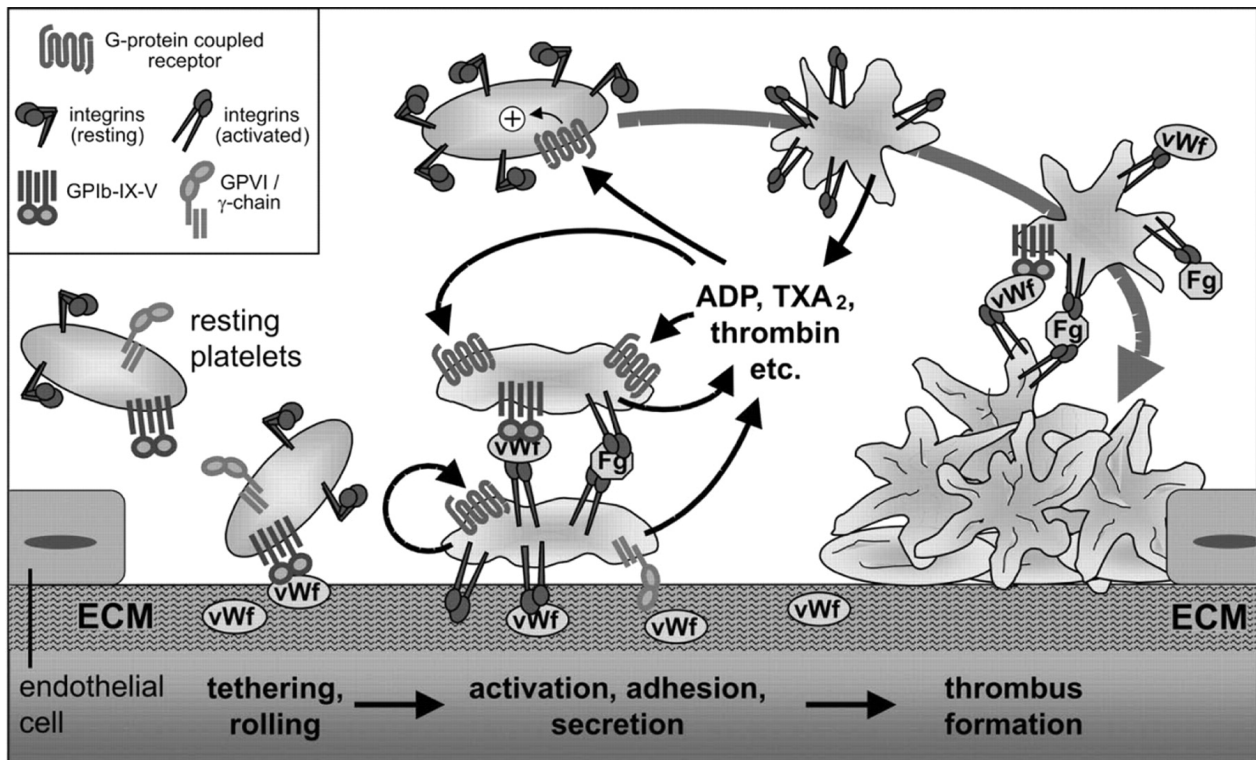
<sup>2</sup>proces rozpouštění krevní sraženiny

### 1.3 Primární hemostáza

Důležitou roli v primární hemostáze hrají převážně krevní destičky a tzv. von Willebrandův faktor (vWF). Tento faktor je glykoprotein syntetizovaný v endotelových buňkách cévní stěny a obsažený v krevní plazmě. Podílí se nejen na primární, ale i sekundární hemostáze.

Jakmile je při poranění odhalen kolagen (viz výše), naváže se na něj von Willebrandův faktor. Ten se dále pojí do multimerů s cílem vytvořit hemostaticky účinnější strukturu pro snazší navázání krevních destiček. Přilnutí krevních destiček na von Willebrandův faktor zajišťuje membránový glykoprotein 1b označovaný zkratkou GP1b, který je jednou ze složek glykoproteinového komplexu GP1b:IX:V. Vazba mezi von Willebrandovým faktorem a GP1b není stabilní, ale i při případném odtržení krevní destičky v důsledku silného proudu krve dochází k jejímu celkovému zpomalení, čímž se zvýší šance na její navázání popř. i na jiný von Willebrandův faktor. Vazba krevní destičky na poraněnou cévní stěnu a kolagen je zajištěna pomocí glykoproteinového receptoru GPVI a krevní destička je tímto způsobem pevněji ukotvena.

Po navázání na cévní stěnu dochází u trombocytu k jeho aktivaci. Krevní destičky uvolní chemické látky uložené v granulách. Tento proces se odborně nazývá degranulace. Serotonin a tromboxan  $A_2$  (TX  $A_2$ ), vylučované aktivovanými destičkami, podporují vazokonstrikci, zpomalují tok krve a tím napomáhají ke snazšímu přichycení dalších destiček (obr. 1.1). Dále dochází k aktivaci dalších membránových glykoproteinových komplexů GPIa:IIa a GPIIb:IIIa. Aktivované krevní destičky mění tvar, proces nazývaný v anglosaské literatuře jako *spreading* a volně přeložitelný do češtiny jako rozprostření [1], a objevují se u nich panožky s cílem umožnit dalším krevním destičkám snazší přilnutí. V této fázi hraje roli vWF, popř. fibrinogen. VWF se naváže na komplex GPIIb:IIIa aktivované destičky a pomocí receptoru GP1b utvoří vazbu s další krevní destičkou. Fibrinogen (Fg) váže trombocyty jen pomocí komplexu GPIIb:IIIa, jak je znázorněno na obr. 1.1. Tento proces hromadění krevních destiček v místě poranění je znám jako agregace. Jelikož nově uchycená krevní destička nepřichází přímo do kontaktu s kolagenem, který spouští aktivaci první vrstvy trombocytů, je její aktivace ovlivněna látkami vyloučenými první vrstvou trombocytů (např. ADP) [1]. Čím jsou krevní destičky dále od cévní stěny, je jejich aktivace slabší, což může vést až k odtržení destičky a deaktivaci jejích glykoproteinových receptorů. To představuje také jeden ze způsobů, jak je ve skutečnosti regulována velikost prvotní zátky.



Obr. 1.1: Princip primární hemostázy, převzato z [20]

## 1.4 Sekundární hemostáza

Sekundární hemostáza je proces, při kterém dochází vlivem koagulačních faktorů k vlastnímu srážení krve. Konkrétně se jedná o postupnou přeměnu specifických faktorů v neaktivní formě, odborně označované jako zymogeny, na aktivní formy, jejímž výsledkem je vytvoření pevné polymerní sítě, která zpevňuje primární zátku. V tab. 1.1 jsou uvedeny nejvýznamější faktory účastníci se srážení krve, písmeno 'a' za číslem faktoru znamená aktivovanou formu. Pro úplnost je třeba dodat, že faktor VI v tabulce není uveden, jelikož bylo zjištěno, že se jedná jen o aktivovanou formu faktoru V.

V roce 1905 [7] byl představen biologický model srážení krve, který obsahuje přeměnu dvou faktorů. Popisuje aktivaci protrombinu (II) na trombin (IIa) pomocí vápenatých iontů  $\text{Ca}^{2+}$  a následnou přeměnu fibrinogenu (I) na fibrin (I). Model ovšem nepostihoval skutečnost, že osoby s normálními hodnotami těchto faktorů mohly trpět poruchou srážení krve. Později byly objeveny další koagulační faktory, čímž vznikl základ pro další dva modely hemokoagulace publikované v roce 1964 [17]. Model *waterfall* uvažoval skutečnost, že srážení krve vychází jen z tzv. vnitřní cesty, ta vnější<sup>3</sup> nebyla vůbec uvažována.. Druhý model, model kaskády (*cascade model*) aktivaci zvnějšku obsahoval, ovšem jen velmi stručně. Modely byly upraveny, obě cesty byly v pozdější fázi propojeny do společné cesty, čímž vznikl trojcestný model

<sup>3</sup>aktivace hemokoagulace v důsledku kontaktu krve s poraněnou cévní stěnou (vnitřní cesta), popř. uvolněním tkáňového faktoru (vnější cesta), více viz odstavec 1.4.1

koagulační kaskády (*three pathway cascade model*). Experimentálně bylo ovšem zjištěno, že tato představa neodpovídá srážení krve in-vivo. Navzdory tomuto je tento model vnímán jako klíčový pro pochopení základních principů koagulace. S pomocí nových poznatků byl vytvořen zatím poslední model označovaný jako buněčný model<sup>4</sup> (*cell-based model*). Princip těchto dvou nejdůležitějších modelů bude podrobněji popsán v následujících odstavcích.

Tabulka 1.1: Přehled nejvýznamějším koagulačních faktorů [2]

faktor	název
I	fibrinogen, (Ia: fibrin)
II	protrombin, (IIa: trombin)
III	tkáňový faktor (TF), tromboplastin
IV	ionty $\text{Ca}^{2+}$
V	proakcelerin
VII	prokonvertin
VIII	antihemofilní globulin A
IX	antihemofilní globulin B (PTC)
X	Stuartův-Prowerův faktor
XI	PTA (Plasma thromboplastin antecedent)
XII	Hagemanův faktor
XIII	faktor stabilizující fibrin

#### 1.4.1 Trojcestný model koagulační kaskády

Tento původní model popisující princip srážení krve in-vivo předpokládá, že k přeměně jednotlivých faktorů dochází postupně. Srážení krve může probíhat dvěma nezávislými způsoby, buď vnitřní, nebo vnější aktivací. Od určité fáze mají obě tyto cesty stejný průběh nazývaný jako společná cesta. V následujících odstavcích jsou principy všech tří cest popsány podrobněji s tím, že s ohledem na zaměření předložené bakalářské práce a obecnou složitost jednotlivých částí koagulační kaskády je přijato jisté zjednodušení. Například zde bude pominuta vzájemná úzká interakce mezi faktory, která se v určitých fázích kaskády projevuje v podobě pozitivní, popř. negativní zpětné vazby.

##### Vnitřní cesta

Tato část koagulační kaskády začíná v místě poranění cévy při kontaktu krve s negativně nabitými vlákny kolagenu, popř. s membránou aktivovaných krevních destiček [9], který spustí přeměnu faktoru XII na jeho aktivní formu XIIa. Dále v souladu se schématem znázorněným na obr. 1.2 inicializuje přítomnost aktivního faktoru XIIa řetězovou reakci, při

<sup>4</sup>Název modelu je s největší pravděpodobností odvozen od faktu, že sekundární hemostáza převážně probíhá na povrchu buněk, zejména krevních destiček a endotelu.

níž dochází postupně k aktivaci faktorů XI, IX a VIII. Nově vytvořený komplex skládající se z faktoru IXa, faktoru VIIIa, vápenatých iontů  $\text{Ca}^{2+}$  a fosfolipidů uvolněných z krevních destiček (PL) spustí přeměnu faktoru X na jeho aktivní formu Xa. Tento faktor je aktivován i při vnější aktivaci a je prvním krokem společné cesty.

### Vnější cesta

Inicializace této cesty je vyvolána poškozením tkáně cévní stěny, čímž dojde k uvolnění faktoru III (TF, tkáňový faktor). Tento faktor se vůbec nevyskytuje v krvi, proto tato aktivace začíná "z vnějšku". V [9] je tato cesta označovaná také jako *tissue factor pathway*. Přítomnost TF aktivuje faktor VII na jeho aktivní formu VIIa, s kterým za účasti vápenatých iontů  $\text{Ca}^{2+}$  a fosfolipidů utvoří komplex TF:VIIa představující základ vnější cesty. Tento komplex se pak následně podílí na aktivaci faktoru X, který je již součástí společné cesty. Jelikož se touto cestou přeměňuje menší počet faktorů než prostřednictvím vnitřní cesty, je tento způsob spuštění koagulační kaskády obecně rychlejší.

### Společná cesta

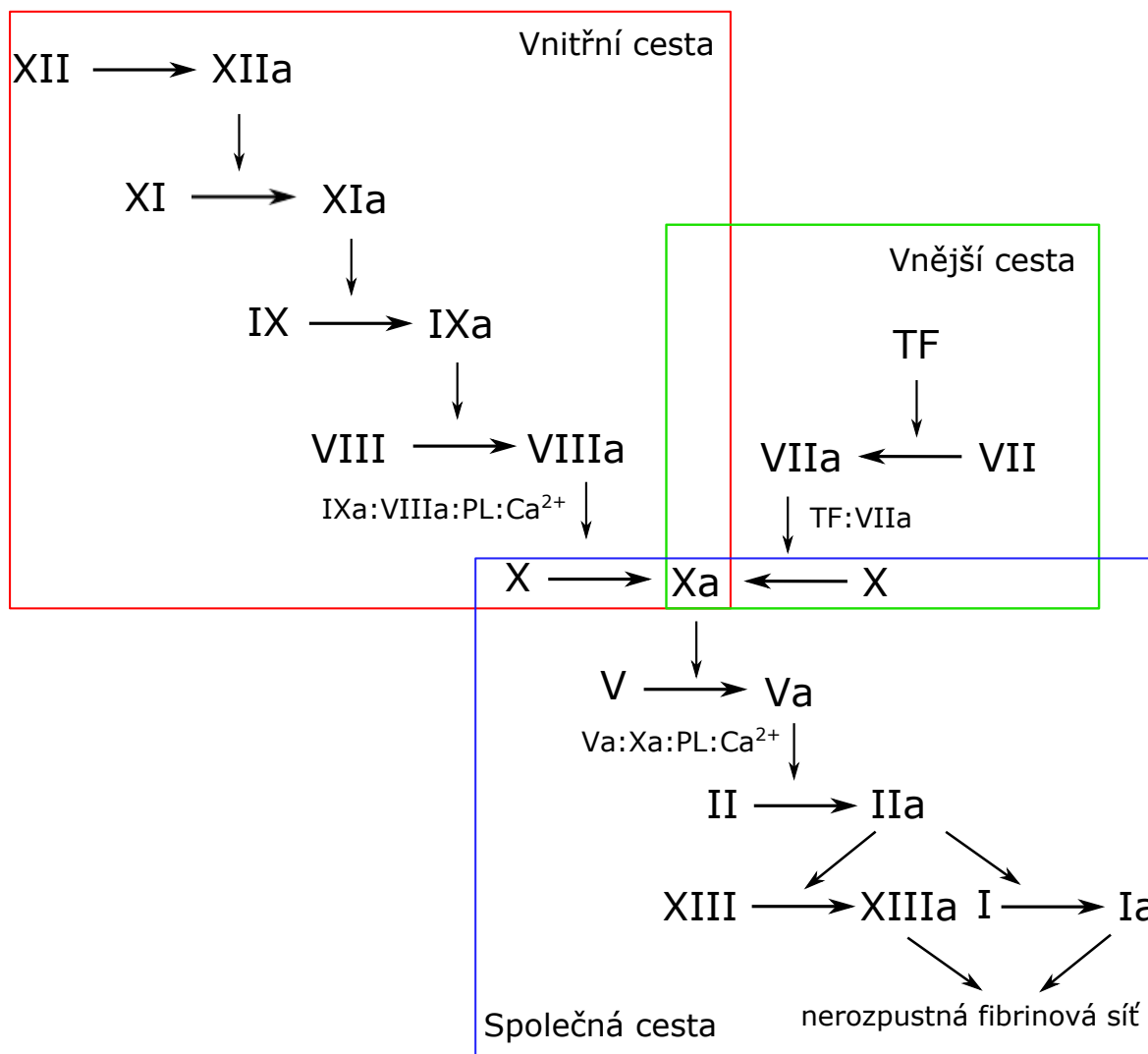
Jak bylo zmíněno u vnitřní a vnější cesty, výchozí látkou této části koagulace je přeměna faktoru X na faktor Xa inicializovaná příslušnými komplexy. Aktivovaný faktor Xa následně aktivuje faktor V. Aktivovaný faktor Va je součástí komplexu s aktivovaným faktorem Xa, vápenatými ionty a fosfolipidy. Tento komplex se nazývá protrombináza a aktivuje faktor II na IIa. Faktor IIa (trombin) aktivuje nejenom faktor XIII na jeho aktivní formu XIIIa, ale i další faktory V, VIII a XI, čímž se vytváří zpětná smyčka. V neposlední řadě aktivuje i faktor I (fibrinogen) na Ia (fibrin) ve formě monomerních vláken. Jejich polymerizací vzniká rozpustná fibrinová síť, která je stabilizována<sup>5</sup> působením faktoru XIIIa (faktor stabilizující fibrin), čímž vzniká fibrin nerozpustný, viz obr. 1.2. Takto vzniklý fibrin stabilizuje trombus vytvořený během primární hemostázy.

### Nedostatky modelu koagulační kaskády

Ačkoliv trojcestný model koagulační kaskády dokázal velice spolehlivě popsat vznik krevní sraženiny v podmínkách in-vitro a byl dlouhá léta považován za správný, výskyt některých poruch srážení krve ukázal, že svým principem ne zcela koresponduje s hemokoagulací v podmínkách in-vivo [7]. Jako příklad lze uvést pozorování u osob, u kterých byl zjištěn nedostatek faktoru VIII či IX (narušení vnitřní cesty) a trpěly poruchou srážlivosti krve, ačkoliv by u nich v souladu s modelem koagulační kaskády měla zůstat funkční vnější cesta. Podobným způsobem se projevuje i nedostatek faktoru VII v krvi, který rovněž vede k poruchám srážení krve navzdory tomu, že by nemělo dojít k narušení vnitřní cesty. Z toho

<sup>5</sup>stabilizace – nahrazení slabé nekovalentní vodíkové vazby výrazně pevnějšími kovalentními vazbami mezi molekulami fibrinu a podpora řetězení fibrinových vláken, která tak dokáže vytvořit stabilní síť

vyplývá, že jak vnitřní, tak vnější cesta není schopna sama o sobě krvácení zastavit a musí být obě nějakým způsobem navzájem propojeny. Jistým vylepšením v tomto směru je buněčný model, který je popsán v následujícím odstavci.



Obr. 1.2: Model třicestné koagulační kaskády

#### 1.4.2 Buněčný model

Tento typ modelu pro sekundární hemostázu se jeví jako ten, který je v souladu s biologickými procesy probíhajícími in-vivo. Na rozdíl od dříve zmíněného trojcestného modelu koagulační kaskády neuvažuje cell-based model postupnou aktivaci jednotlivých faktorů, ale předpokládá složitější propojení vnitřní i vnější cesty. V tomto smyslu rozděluje hemokoagulaci do tří fází na

- iniciaci,

- amplifikaci
- propagaci,

viz schéma na obr. 1.3. Po úplnosti poznamenejme, že např. autoři knihy [9] uvádí vedle tří zmíněných fází rovněž čtvrtou fází, a to terminaci. Pro potřeby této práce se však budeme podrobněji zabývat pouze oněmi třemi základními.

### Iniciace

Základem této fáze je přítomnost tkáňového faktoru (TF, faktor III), který v důsledku poškození endotelové vrstvy<sup>6</sup> je uvolňován do krve. Fáze iniciace začíná na povrchu buněk vylučující TF, kde dochází k navázání TF na faktor VIIa, který se jako jediný z faktorů nachází v krvi v aktivní i neaktivní formě [17]. Nově vzniklý komplex TF:VIIa následně aktivuje faktory X a IX na faktory Xa a IXa. V této souvislosti poznamenejme, že zmíněný způsob aktivace faktoru IX je jednou z odlišností oproti výše popsanému trojcestnému modelu koagulační kaskády, u něhož tato aktivace probíhala pouze vnitřní cestou. Přítomnost aktivovaného faktoru Xa pak iniciuje přeměnu protrombinu (faktor II) na trombin (faktor IIa). Ačkoliv koncentrace takto vytvořeného trombinu není dostačující k aktivaci fibrinogenu, neboť je jeho tvorba významně omezena inhibitory srážení krve (např. antitrombin III), je jeho přítomnost důležitá pro další fázi hemokoagulace [7].

### Amplifikace

Klíčovým prvkem této fáze je aktivace faktorů V, VIII a XI trombinem uvolněným ve fázi iniciace. Faktor VIIIa se nachází v komplexu s vWF (tj. vWF:VIII) a působením trombinu je z tohoto komplexu vyvázan a aktivován. Nově uvolněný vWF podporuje další shlukování krevních destiček v místě poranění. Trombin současně spustí aktivaci trombocytů. Destičky mění svůj tvar, aktivují membránové receptory a začnou uvolňovat uložený obsah  $\alpha$  a denzních granul (detailněji popsáno v odstavci 1.3). Na konci této fáze jsou krevní destičky již plně aktivované.

### Propagace

V návaznosti na předchozí fázi amplifikace je začátek této fáze charakterizován aktivací faktoru IX prostřednictvím výše zmíněného aktivního faktoru XIa. Dalším krokem je tvorba komplexů tenázy (VIIIa:IXa) a protrombinázy (Xa:Va). V případě tenázy je jejím hlavním úkolem přeměna faktoru X tak, aby jeho aktivní forma Xa utvořila s faktorem Va výše zmíněný komplex protrombinázy. Všechny tyto děje stále probíhají na povrchu krevních destiček, viz obr. 1.3. Komplex protrombinázy následně aktivuje protrombin (faktor II) na

<sup>6</sup>TF se nachází ve spodní vrstvě endotelu (tzv. subendotelu), která za normálních fyziologických podmínek nepřichází do styku s krví. Při poranění cévní stěny a poškození endotelových buněk dochází k odhalení subendotelu a uvolnění TF do blízkého okolí.



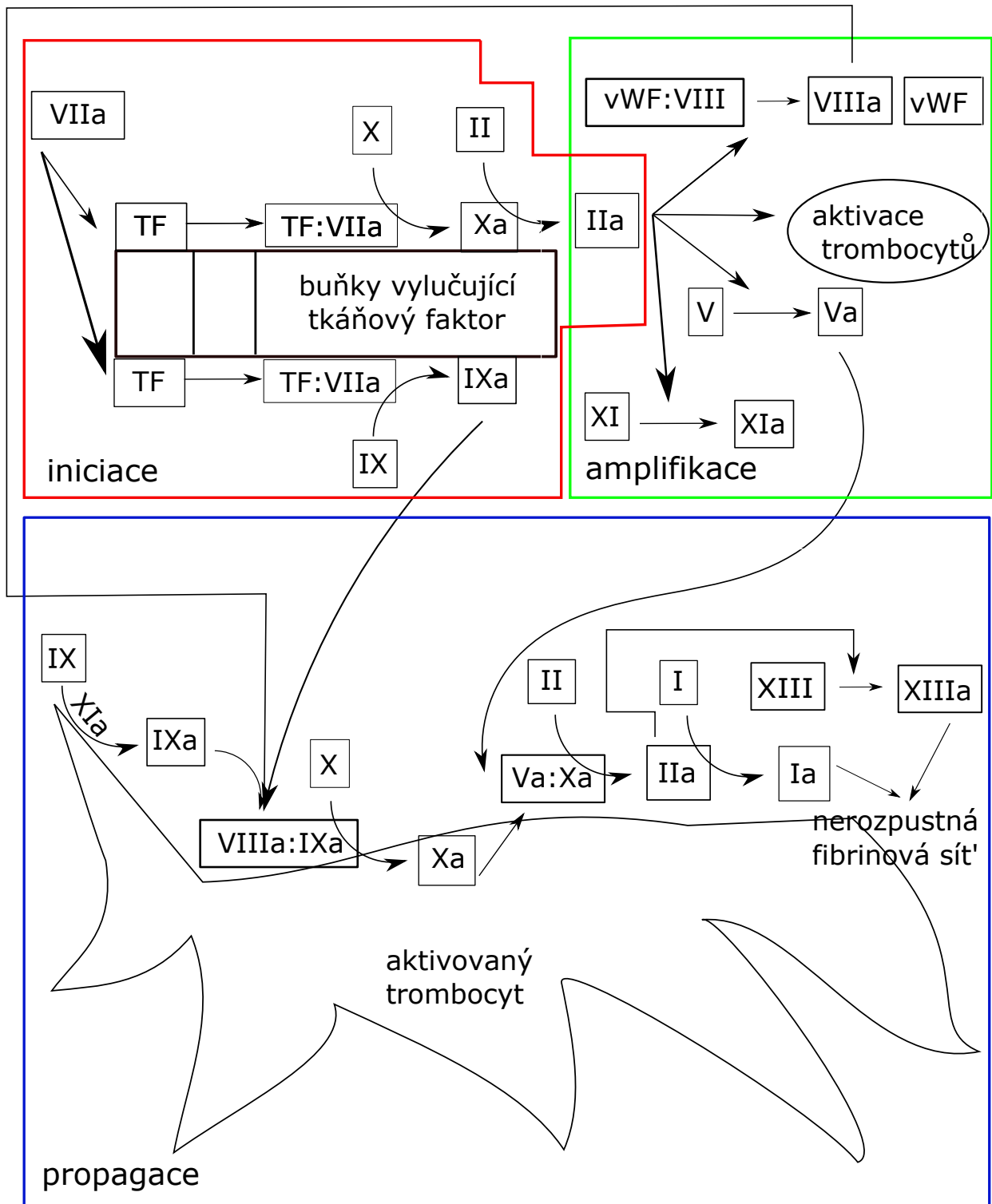
trombin (faktor IIa). Jelikož je aktivace trombinu tímto způsobem mnohem účinnější [7] než pomocí samotného faktoru Xa ve fázi iniciace, označuje se tato přeměna jako tzv. *thrombin burst*, což lze volně přeložit jako exploze trombinu. Podle [9] je v porovnání s dřívějšími fázemi vytvořeno během propagace až 95 % celkového množství trombinu potřebného pro vznik krevní sraženiny. Mezi jednotlivými autory nepanuje shoda v otázce vymezení jednotlivých fází tohoto modelu. Kromě již zmíněné existence čtvrté fáze se lze např. v článku [7] setkat s tím, že vznik komplexů tenázy a protrombinázy je řazen do fáze amplifikace

Přítomnost trombinu v okolí poraněné cévní stěny je impulsem k aktivaci fibrinogenu (faktoru I). Při této chemické reakci vzniká fibrin (faktor Ia) ve formě monomerů, které se dále za pomoci faktoru XIIIa řetězí na polymery. Ty pak následně tvoří vazby s krevními destičkami a jsou základem nerozpustné fibrinové sítě, která napomáhá při zpevnění a stabilizaci primárního (bílého) trombu. Jelikož při vzniku zmíněné sítě často dochází k zachycení i větších krevních částic – např. červených krvinek – bývá trombus na konci této fáze označován jako červený.

Jelikož formulace podstaty buněčného modelu je výsledkem vědecké práce několika posledních let<sup>7</sup>, lze předpokládat, že podoba tohoto modelu sekundární hemostázy není konečná a bude se s novými poznatky měnit a dále zpřesňovat. Jako příklad lze uvést experimenty zmíněné v práci [17], které ukazují, že tvorba krevní sraženiny probíhá téměř současně s primární hemostázou.

---

<sup>7</sup>Současná odborná, česky psaná literatura, např. [2, 13], stále uvádí trojcestný model koagulační kaskády jako jediný platný a všeobecně přijímaný model sekundární hemostázy.



Obr. 1.3: Buněčný model

## 1.5 Fibrinolýza, inhibitory koagulace

Fibrinolýza je proces opačný k hemostáze, neboť při něm dochází k rozvolnění a rozpuštění krevní sraženiny. Stejně jako srážení krve je i fibrinolýza složitý proces, který musí být náležitě kontrolován a regulován. Nejdůležitější bílkovinou podílející se na fibrinolýze je plazmin (dřívějším názvem fibrinolysin). Ten vzniká aktivací plasminogenu za pomoci tkáňového aktivátoru plasminogenu (tPa) uvolňovaného z poškozené tkáně, urokinázy (uPa) nebo kalikreinu a štěpí polymeru fibrinu na jednotlivé monomery. Vzhledem k tomu, že nesmí docházet k přílišnému či předčasnému odbourávání fibrinu a rozpuštění trombu, musí být koncentrace plazminu regulována. Tuto funkci zajišťuje enzym  $\alpha_2$ -plazmin.

Jelikož nekontrolovatelné srážení krve (hyperkoagulace) může vést až k ucpání cév, je třeba ho příslušnými mechanismy regulovat. Srážení krve je již během svého procesu tlumeno např. plazmatickou bílkovinou antitrombinem III, který inhibuje trombin a komplexy vznikající během sekundární hemostázy. Další inhibitory trombinu jsou plazmatické bílkoviny  $\alpha_2$ -makrogolbulin a  $\alpha_1$ -antitrypsin. Ze známých antikoagulantů lze dále zmínit protein C, který se aktivuje na protein Ca a následně utváří komplex s proteinem S. Tento komplex prostřednictvím negativní zpětné vazby tlumí faktory Va a VIIIa [2].

## 1.6 Poruchy srážení krve

Fibrinolýza je narozdíl od hemostázy dlouhodobý proces, který probíhá po malých částech tak, aby bylo umožněno zhojení poškozené tkáně a zároveň pomalým odbouráváním nevznikaly příliš velké struktury. Stejně jako v případě hemokagulace je i fibrinolýza složitý proces, který je závislý na specifické sekvenci chemických reakcí. Proto jakákoliv nerovnováha (např. nedostatek či absence některého faktoru v krvi) může vyústit v poruchy srážení krve. Může se jednat jak o nemoci, při kterém je srážení krve nedostačující (hypokoagulace), tak i o opačné stavy, kdy je srážení krve nadměrné (hyperkoagulace).

Do první skupiny patří např. trombocytopenie, která se vyznačuje extrémně nízkým počtem krevních destiček. Další z příčin sklonu ke krvácení může být absence či nedostatek faktorů VIII, IX nebo XI. V těchto případech pak mluvíme o hemofilii typu A, B nebo C. Jako další příklad sklonu ke krvácení lze zmínit von Willebrandovu nemoc, charakteristickou nedostatkem či špatnou funkcí von Willebrandova faktoru.

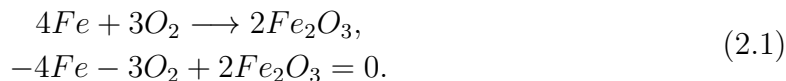
Do druhé skupiny poruch způsobující hyperkoagulaci patří choroby spojené s nedostatkem inhibujících proteinů C, S nebo plazminu, který odbourává fibrin. Zvýšeným sklonem k tvorbě trombů (trombofilnímu stavu) se také projevuje Leidenská mutace, při které nedochází k inhibici aktivovaného faktoru Va proteinem C v důsledku mutace genu pro hemokoagulační faktor V.

## 2 Krátký exkurz do reakční kinetiky

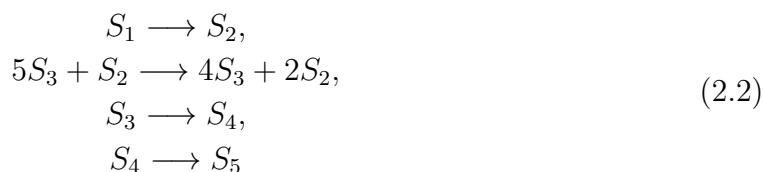
Jelikož předmětem předložené bakalářské práce je modelování procesu srážení krve a příslušné matematické modely popisující aktivaci koagulačních faktorů vycházejí z chemických dějů a přeměn, které mezi těmito faktory probíhají, je vhodné v rámci této kapitoly zavést potřebné pojmy z reakční kinetiky. Tato oblast chemické kinetiky se zbývá časovým vývojem koncentrace látek účastnící se reakce, rychlostí průběhu chemických dějů, jejich mechanismy a vlivy mající dopad na rychlost chemické reakce (např. užití katalyzátorů). Pro vytvoření následného přehledu jsou užity odborné publikace z oblasti fyzikální chemie, např. [3, 4].

### 2.1 Základní pojmy

- **chemická reakce** – děj, při kterém se mění chemická struktura látek
- **reaktant** – látka vstupující do reakce
- **produkt** – látka vznikající proběhnutou reakcí
- **meziprodukt** – látka vznikající proběhnutou reakcí, v reakci následující je látkou vstupní
- **stechiometrický koeficient** – číslo, které určuje počet částic látek vstupujících i látek výstupních, většinou se jedná o čísla přirozená
- **chemická (stechiometrická) rovnice** – ustanovený zápis chemické reakce, na levé straně se nacházejí reaktanty, na straně pravé jsou uvedeny produkty. V případě, že je chemická rovnice zapsána ve tvaru  $\sum_i \nu_i R_i = 0$ , představuje  $R_i$  obecně symbol pro reaktant nebo produkt a  $\nu_i$  označuje stechiometrický koeficient příslušné látky (je ustanoveno, že stechiometrický koeficient pro produkty je kladný, pro reaktanty záporný), viz následující příklad



- **stechiometrická matice** – velký počet chemických reakcí lze přehledně zapisovat pomocí tzv. stechiomatrické matice  $\mathbf{S}$ , která má obecně rozměr  $n \times s$ , kde  $n$  je počet reakcí a  $s$  počet látek v nich vystupujících. Jednotlivé chemické reakce jsou do matice zapsány po sloupcích. Jako příklad uveďme následující chemické reakce [8]



pro které budeme chtít určit stechiometrickou matici. Výše uvedené reakce zapíšeme do tvaru chemických rovnic v následující podobě:

$$\begin{aligned} -S_1 + S_2 &= 0, \\ -S_3 + S_2 &= 0, \\ -S_3 + S_4 &= 0, \\ -S_4 + S_5 &= 0. \end{aligned} \tag{2.3}$$

Při zohlednění počtu reaktantů a produktů (celkem 5) a počtu uvažovaných reakcí (celkem 4) lze stechiometrickou matici o rozměrech  $5 \times 4$  jednoduše získat pomocí stechiometrických koeficientů jako

$$\begin{array}{c} s_1 \\ s_2 \\ s_3 \\ s_4 \\ s_5 \end{array} \begin{bmatrix} 1 & 2 & 3 & 4 \\ -1 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & -1 & -1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & -1 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix}$$

- **molekularita reakce** – počet částic (atomů nebo molekul), jejichž interakcí dochází k chemické reakci, definováno jen pro elementární reakce

Pro úplnost je třeba upřesnit značení, které bude v této práci dále používáno. Pro zápis koncentrace chemické látky  $A$  se v česky psané odborné literatuře většinou užívá symbol  $c_A$ , viz např. [4]. Napak anglosaská literatura [8] takovouto koncentraci zapisuje pomocí hranatých závorek, tj.  $[A]$ . Vzhledem k tomu, že v této práci budeme modelovat časový vývoj koncentrace koagulačních faktorů a jejich zápis prostřednictvím českého standardu by byl značně složitý (např. koncentrace komplexu faktorů X:VIIIa:IXa by bylo nutné psát jako  $c_{X:VIIIa:IXa}$ ), je pro lepší přehlednost v této práci užít anglosaský standard, tj. zápis ve tvaru  $[X:VIIIa:IXa]$ . Dalším důvodem k tomuto kroku je i fakt, že naprostá většina literatury věnovaná problematice matematického modelování hemokoagulace je psaná v angličtině a zvolený přístup tak bude lépe korespondovat s podobou publikovaných modelů.

## 2.2 Rychlost chemické reakce

Koncentraci látkového množství, zkráceně označovanou jen jako koncentrace libovolné látky  $[A]$  získáme obecně jako podíl látkového množství této látky a celkového objemu  $V$  všech látek účastnících se reakce

$$[A] = \frac{n_A}{V}. \tag{2.4}$$

Za předpokladu, že se celkový objem během reakce nemění, lze rychlost úbytku reaktantu  $A$  psát ve tvaru

$$r_A = -\frac{d[A]}{dt}, \quad (2.5)$$

kde  $[A]$  je okamžitá koncentrace látky  $A$  a  $t$  je čas. Obecně platí, že rychlost  $r_A$ , při které se reaktant  $A$  mění na produkt  $B$ , závisí na koncentraci těchto látek, případně na teplotě  $T$ , tj.  $r_A = f([A], [B] \dots, T)$ . Jelikož množství látky vstupující do reakce, a tedy i jeho koncentrace, klesá, je derivace ve vztahu (2.5) záporná. Přítomnost znaménka mínus pak zajišťuje, že rychlost úbytku reaktantu bude kladná hodnota. Z tohoto kontextu pak vyplývá, že v případě rychlosti  $r_B$  přírůstku produktu  $B$  znaménko mínus již nebude figurovat, tj.

$$r_B = \frac{d[B]}{dt}. \quad (2.6)$$

Je-li chemická rovnice zapsána ve tvaru  $\sum_i \nu_i R_i = 0$ , lze rychlost reakce obecně vyjádřit jako

$$r = \frac{1}{\nu_i} \frac{d[R_i]}{dt}, \quad (2.7)$$

kde  $\nu_i$  je stechiometrický koeficient  $i$ -té látky  $R_i$  a  $[R_i]$  její koncentrace. Pro složité reakce se rychlost přírůstku nebo úbytku složky  $A$  definuje jako

$$\frac{d[A]}{dt} = \nu_{A,1} r_1 + \nu_{A,2} r_2 + \dots, \quad (2.8)$$

kde  $\nu_{A,1}$  je stechiometrický koeficient látky  $A$  v první reakci,  $\nu_{A,2}$  je stechiometrický koeficient látky  $A$  v reakci druhé a  $r_1, r_2$  jsou rychlosti jednotlivých reakcí.

**Kinetická (rychlostní) rovnice** určuje vztah mezi koncentracemi látek účastníků se reakce a rychlostí této reakce. Pro tzv. jednoduché reakce (viz odstavec 2.3.2) lze kinetickou rovnici zapsat ve tvaru [4]

$$r_A = -\frac{d[A]}{dt} = k[A]^\alpha [B]^\beta \dots, \quad (2.9)$$

kde  $k$  je takzvaná rychlostní konstanta, která je obecně závislá na teplotě, tj.  $k = k(T)$ . Zbylé veličiny na pravé straně představují koncentrace reaktantů a jejich mocniny  $\alpha, \beta$  jsou tzv. dílčí řády, které se nemusejí rovnat stechiometrickým koeficientům [4]. Součet těchto dílčích řádů je znám jako řád reakce. Určování řádu reakce a rychlostních konstant vychází převážně z experimentálních výsledků [4].

Pro stanovení časového vývoje koncentrace látek v průběhu reakce je nutné provést řešení obyčejné diferenciální rovnice (2.9). Vyskytuje-li se však v této rychlostní rovnici vícero neznámých koncentrací, např. reakce typu



má kinetickou rovnici ve tvaru

$$-\frac{d[A]}{dt} = k[A]^\alpha[B]^\beta, \quad (2.11)$$

nelze časovou závislost koncentrace  $[A]$  jednoznačně určit bez znalosti okamžité koncentrace  $[B]$ . Proto se pro tento typ úloh využívá **látková bilance**, která vyjadřuje vývoj koncentrace látek v závislosti jen na jediném parametru  $x$ , který představuje množství zreagované za čas  $t$ . Například pro koncentraci látek reakce (2.10) lze pomocí látkové bilance psát

$$\begin{aligned} [A] &= [A_0] - ax, \\ [B] &= [B_0] - bx, \\ [C] &= cx \end{aligned} \quad (2.12)$$

kde  $[A_0]$  a  $[B_0]$  jsou koncentrace látek  $A$  a  $B$  na začátku reakce a konstanty  $a$ ,  $b$  a  $c$  představují stechiometrické koeficienty. Dosazením vztahů (2.12) do kinetické rovnice (2.11) lze jednoduchými úpravami odvodit následující obyčejnou diferenciální rovnici jedné o jedné neznámé

$$a\frac{dx}{dt} = k([A_0] - ax)^\alpha([B_0] - bx)^\beta. \quad (2.13)$$

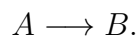
## 2.3 Rozdělení chemických reakcí z hlediska kinetiky

Klasifikace chemických reakcí se odvíjí podle složitosti mechanismu reakce, popř. reakcí, tj. podle počtu elementárních kroků, kterými se reakce uskutečňuje. Rozlišujeme dvě hlavní skupiny: reakce elementární a reakce složité, které budou podrobněji popsány v následujících odstavcích.

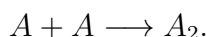
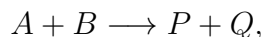
### 2.3.1 Elementární reakce

Tímto pojmem se označují reakce, při kterých dochází jen k jednomu reakčnímu kroku. Chemická rovnice v tomto případě přímo odpovídá probíhajícímu chemickému ději, kdy nevznikají žádné meziprodukty. Elementární reakce se dále dělí podle počtu reaktantů na:

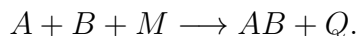
**Monomolekulární reakce** – na chemické reakci se podílí jediná částice (jedná se většinou o radioaktivní rozpady či rozklady látek) - např.:



**Bimolekulární reakce** – chemická reakce dvou látek, kdy spolu mohou reagovat jak molekuly jednoho reaktantu, tak molekuly rozdílných reaktantů. Jedná se o nejčastější typ elementárních reakcí - např.:



**Trimolekulární reakce** – chemická reakce tří částic (atomů nebo molekul), přičemž tento typ elementárních reakcí se vyskytuje velice zřídka - např.:



### 2.3.2 Jednoduché reakce

Tento typ elementárních reakcí je charakterizován kinetickou rovnicí mající podobu vycházející z předpisu (2.9). V závislosti na počtu reaktantů a konkrétním tvaru kinetické rovnice lze jednoduché reakce rozdělit na následující skupiny:

#### Reakce nultého řádu

Má-li reakce nultého řádu tvar



pak rychlostní rovnice je ve tvaru

$$-\frac{d[A]}{dt} = k[A]^0 = k. \quad (2.15)$$

Po integraci (2.15) získáme integrální tvar rovnice

$$[A] = [A_0] - kt. \quad (2.16)$$

#### Reakce prvního řádu

Je-li reakce prvního řádu dána následující chemickou rovnicí



pak její rychlostní rovnici pro časový vývoj koncentrace reaktantu lze zapsat jako

$$-\frac{d[A]}{dt} = k[A]^1 = k[A]. \quad (2.18)$$

Podobně jako v případě reakce s nultým řádem získáme řešením rychlostní rovnice (2.18) její integrální tvar

$$[A] = [A_0]e^{-kt}, \quad (2.19)$$

kde  $e$  označuje exponenciální funkci.

#### Reakce druhého řádu

Vzhledem k různorodosti existujících chemických reakcí rozlišujeme u reakce druhého řádu několik typů. Ty nejčastější zahrnují:



a) **Reakce s jednou výchozí složkou** – Chemická rovnice ve tvaru



vede na kinetickou rovnici

$$-\frac{d[A]}{dt} = k[A]^2, \quad (2.21)$$

jejíž řešení získané pomocí separace proměnných a následnou integrací je dáno jako

$$[A] = \frac{[A_0]}{1 + [A_0]kt}. \quad (2.22)$$

b) **Reakce se dvěma výchozími složkami a jednotkovými stechiometrickými koeficienty** – Jsou-li dílčí řády rovny stechiometrickým koeficientům, tj.



je kinetická rovnice definována v následující podobě

$$-\frac{d[A]}{dt} = k[A][B]. \quad (2.24)$$

c) **Reakce se dvěma výchozími složkami a obecnými stechiometrickými koeficienty** – Jsou-li dílčí řády rovny jedné, má chemická reakce tvar



a kinetickou rovnici lze zapsat jako

$$-\frac{d[A]}{dt} = k[A][B]. \quad (2.26)$$

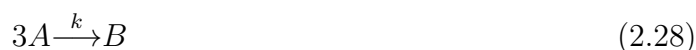
Rovnici lze dále přepsat pomocí látkové bilance (2.12) do podoby

$$a\frac{dx}{dt} = k([A_0] - ax)([B_0] - bx). \quad (2.27)$$

### Reakce třetího řádu

Pro tuto skupinu reakcí platí obdobná pravidla jako u předchozích případů, tj. existuje několik typů odvíjejících se od počtu reaktantů a jejich počáteční koncentrace. Mezi ty nejčastější se řadí:

a) **Reakce s jednou výchozí složkou** – Pro chemickou rovnici



dostáváme kinetickou rovnici ve tvaru

$$-\frac{d[A]}{dt} = k[A]^3. \quad (2.29)$$

**b) Reakce se dvěma výchozími složkami** – Například z reakce zapsané jako



plyne rychlostní rovnice

$$-\frac{d[A]}{dt} = k[A]^2[B], \quad (2.31)$$

kteřou podobně jako dříve můžeme pomocí látkové bilance (2.12) přepsat na obyčejnou diferenciální rovnici pro  $x$

$$2\frac{dx}{dt} = k([A_0] - 2x)^2([B_0] - x). \quad (2.32)$$

**c) Reakce s třemi výchozími složkami** – Pro zápis chemické reakce



je kinetická rovnice za předpokladu, že dílčí koeficienty jsou rovny jedné, zapsána jako

$$-\frac{d[A]}{dt} = k[A][B][C] \quad (2.34)$$

a lze ji dále upravit pomocí látkové bilance (2.12) na rovnici

$$\frac{dx}{dt} = k([A_0] - x)([B_0] - x)([C_0] - x). \quad (2.35)$$

**d) Reakce s třemi výchozími složkami s obecnými stechiometrickými koeficienty**  
– Reakce ve tvaru



je charakterizována následující rychlostní rovnicí

$$-a\frac{d[A]}{dt} = k[A][B][C] \quad (2.37)$$

v případě, že dílčí řády jsou rovny jedné. Kinetickou rovnici lze podobně jako u přechodných typů reakcí upravit do podoby

$$a\frac{dx}{dt} = k([A_0] - ax)([B_0] - x)([C_0] - cx). \quad (2.38)$$

### Reakce n-tého řádu

Pro jednoduchou reakci n-tého řádu se stechiometrickými koeficienty, které se obecně nerovnají dílčím řádům reakce,



má rychlostní rovnice podobu

$$-a \frac{d[A]}{dt} = k[A]^\alpha [B]^\beta, \quad (2.40)$$

kde  $\alpha$  a  $\beta$  jsou dílčí řády reakce, jejichž součet udává celkový řád reakce.

#### 2.3.3 Složité (simultánní) reakce

Tento typ reakcí se obecně skládá z elementárních reakcí, které byly podrobněji popsány v odstavci 2.3.1. Podle podoby jednotlivých sekvencí reakcí a vzájemného působení přítomných látek lze složité reakce rozdělit do dvou hlavních skupin – na otevřené a cyklické. Ve zbytku tohoto odstavce přiblížíme podstatu těch nejzákladnějších z pohledu chemické kinetiky.

Z důvodu přehlednosti budeme předpokládat, že u všech popsaných reakcí jsou stechiometrické koeficienty rovny dílčím řádům a že podobně jako v případě elementárních reakcí bude platit látková bilance. Například pro sekvenci reakcí



budou platit následující vztahy látkové bilance

$$\begin{aligned} A &= [A_0] - x - y, \\ B &= [B_0] - y, \\ C &= [C_0] + x, \\ D &= [D_0] + y, \end{aligned} \quad (2.42)$$

kde  $[A_0]$ ,  $[B_0]$  jsou počáteční koncentrace reaktantů a  $x$  a  $y$  jsou časově závislé proměnné odpovídající první a druhé reakci.

**1) Následná reakce** je řetězec po sobě jdoucích elementárních reakcí, při kterých výsledný produkt vzniká přes jeden či více meziproduktů. Pro ilustraci lze uvést chemickou rovnici tvořenou dvěma následujícími elementárními reakcemi prvního řádu



kde  $k_1$  a  $k_2$  jsou rychlostní koeficienty příslušných dílčích reakcí. V souladu s dříve popsanou teorií lze změnu koncentrace výchozí látky  $A$  a meziproduktu  $B$  vyjádřit pomocí následujících

dvou kinetických rovnic

$$\frac{d[A]}{dt} = -k_1[A], \quad \frac{d[B]}{dt} = k_1[A] - k_2[B]. \quad (2.44)$$

Pro úplnost ještě uvedme příslušnou kinetickou rovnici pro výsledný produkt  $C$

$$\frac{d[C]}{dt} = k_2[B]. \quad (2.45)$$

**2) Paralelní (bočná) reakce** je reakce, při které je reaktant současně spotřebováván na tvorbu dvou nebo více produktů. Pro získání představy o tom, jak typ elementární reakce a jeho řád ovlivňuje podobu kinetických rovnic reaktantů a produktů, je zde uveden výčet několika nejčastějších variant.

a) Pro dvě souběžné **reakce prvního řádu** s rychlostními koeficienty  $k_1$  a  $k_2$



lze při aplikaci vztahu (2.8) pro časový vývoj koncentrace reaktantu  $A$  psát

$$\frac{d[A]}{dt} = -k_1[A] - k_2[A] = -(k_1 + k_2)[A]. \quad (2.47)$$

Pro nárůst koncentrace produktů  $B$  a  $C$  lze odvodit následující kinetické rovnice

$$\frac{d[B]}{dt} = k_1[A], \quad \frac{d[C]}{dt} = k_2[A]. \quad (2.48)$$

b) Máme-li paralelní reakci skládající se ze dvou **reakcí druhého řádu** s rychlostními koeficienty  $k_1$  a  $k_2$



můžeme v souladu s odstavcem 2.3.2 zapsat rychlostní rovnice pro oba reaktanty ve tvaru

$$\frac{d[A]}{dt} = \frac{d[B]}{dt} = -k_1[A][B] - k_2[A][B] = -(k_1 + k_2)[A][B]. \quad (2.50)$$

Podobně jako u předchozího typu paralelní reakce lze kinetické rovnice produktů  $C$  a  $D$  odvodit užití teorie jednoduchých reakcí 2.3.2 jako

$$\frac{d[C]}{dt} = k_1[A][B], \quad \frac{d[D]}{dt} = k_2[A][B]. \quad (2.51)$$

c) V případě paralelní reakce tvořené **reakcemi prvního a druhého řádu** s rychlostními koeficienty  $k_1$  a  $k_2$



mají kinetické rovnice pro reaktanty a produkty tvar

$$\frac{d[A]}{dt} = -k_1[A] - k_2[A][B], \quad (2.53)$$

$$\frac{d[B]}{dt} = -k_2[A][B], \quad (2.54)$$

$$\frac{d[C]}{dt} = k_1[A], \quad \frac{d[D]}{dt} = k_2[A][B]. \quad (2.55)$$

Analogicky k dříve zmíněnému příkladu (2.41) lze obyčejné diferenciální rovnice (2.53), (2.54) pro reaktanty  $A$  a  $B$  přepsat prostřednictvím látkové bilance (2.42) a několika jednoduchých úprav do tvaru

$$\frac{dx}{dt} = k_1([A_0] - x - y), \quad (2.56)$$

$$\frac{dy}{dt} = k_2([A_0] - x - y)([B_0] - y). \quad (2.57)$$

**3) Vratná (protisměrná) reakce** je typ reakce, při kterém funguje nejen přímá reakce, ale i zpětná. Původní produkty se stávají reaktanty a spotřebovávají se na tvorbu produktů (původně reaktantů). Chemická rovnice vratných reakcí je nejčastěji znázorňována následujícím způsobem



kde  $k_1$  je rychlostní koeficient přímé reakce a  $k_2$  je rychlostní koeficient zpětné reakce. Aplikací dříve uvedených poznatků lze kinetické rovnice pro látky  $A$  a  $B$  psát ve tvaru

$$\frac{d[A]}{dt} = -k_1[A] + k_2[B], \quad (2.59)$$

$$\frac{d[B]}{dt} = k_1[A] - k_2[B]. \quad (2.60)$$

## 2.4 Katalýza

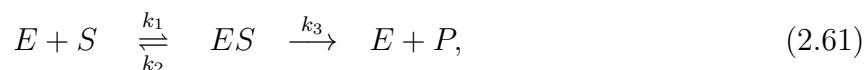
Rychlost probíhající reakce není ovlivňována pouze teplotou, ale i přítomností určitých látek, které už ve velmi malé koncentraci dokáží výrazným způsobem změnit rychlost reakce. Tyto látky se obecně označují jako katalyzátory. Reakce, při níž katalyzátor vystupuje, se nazývá katalýza. Aktivační energie pro zahájení reakce při použití katalyzátoru je menší než při nekatalyzované reakci, a tudíž rychlost katalyzované reakce bude vyšší. Klíčovou vlastností všech katalýz je, že katalyzátor se reakce sice účastní, není ale během ní spotřebováván.

Fyzikální chemie rozlišuje několik typů katalýz: *homogenní*, kdy je skupenství katalyzátoru stejné jako skupenství látek v chemické reakci, a *heterogenní*, kdy katalyzátor nemá stejné skupenství. Jedním z odvětví heterogenní katalýzy je tzv. enzymová katalýza, při které roli katalyzátorů přebírají enzymy neboli biokatalyzátory.

### 2.4.1 Enzymová katalýza

Princip tohoto druhu katalýzy byl poprvé popsán německým biochemikem Leonorem Michaelisem a kanadskou lékařkou Maud Mentenovou na začátku 20. století. Z pohledu reakční kinetiky si v rámci tohoto odstavce si odvodíme základní a asi i nejznámější matematický model pro vyjádření rychlosti enzymové katalýzy – tzv. Michaelisovu-Mentenové rovnici (2.71), jejíž platnost byla potvrzena mnoha experimenty.

Vyjděme z klasického zápisu reakce urychlé přítomností katalyzátoru (enzymu) E,



při níž se tvoří produkt  $P$  ze substrátu (reaktantu)  $S$  za vzniku meziprojektu (komplexu enzym-substrát)  $ES$ . Důležitým předpokladem pro odvození dalších vztahů je fakt, že koncentrace zmíněného komplexu zůstává konstantní v čase.

Pak v souladu s dříve uvedenou teorií pro jednoduché reakce prvního řádu (2.3.2) lze koncentraci produktu  $P$  získat z kinetické rovnice

$$\frac{d[P]}{dt} = k_3[ES]. \quad (2.62)$$

Vzhledem k tomu, že koncentraci komplexu  $[ES]$  není obecně možné experimentálně určit, je nutné ji vyjádřit jiným způsobem. Nejčastěji se vychází z předpokladu, že časová změna  $[ES]$  je během celé reakce neměnná. Neboli kinetická rovnice pro koncentraci komplexu je rovna nule

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_1[E][S] - k_2[ES] - k_3[ES] = 0. \quad (2.63)$$

První člen na pravé straně (2.63) představuje přírůstek komplexu enzym-substrát, zbylé dva záporné členy odpovídají reakcím, při kterých dochází k jeho úbytku. Úpravou vztahu (2.63) získáme koncentraci komplexu substrát-enzym

$$[ES] = \frac{k_1}{k_2 + k_3}[E][S]. \quad (2.64)$$

Zavedením

$$\frac{k_2 + k_3}{k_1} \quad (2.65)$$

kde  $K_M$  je v enzymové katalýze známá jako Michaelisova konstanta, lze (2.64) upravit na následující vztah

$$[ES] = \frac{[E][S]}{K_M}. \quad (2.66)$$

Pro použití (2.66) v kinetické rovnici produktu (2.62) je ovšem nutné znát i koncentraci volného (nevázaného) enzymu  $[E]$  během reakce. Tu sice podobně jako  $[ES]$  nelze stanovit v libovolném čase, ale lze v jejím případě vyjít ze znalosti počáteční koncentrace  $[E_0]$  a faktu, že množství enzymu zůstává v průběhu reakce neměnné, tj. musí platit

$$[E_0] = [E] + [ES], \quad (2.67)$$

čímž pro koncentraci volného enzymu dostáváme

$$[E] = [E_0] - [ES]. \quad (2.68)$$

Dosazením (2.68) do (2.66) a za pomoci několika jednoduchých úprav lze koncentraci volného enzymu zapsat ve tvaru

$$[E] = \frac{[E_0]}{1 + \frac{[S]}{K_M}}. \quad (2.69)$$

Konečně aplikací (2.69) ve vztahu (2.64) a jeho následným užitím v kinetické rovnici pro přírůstek produktu (2.62) získáme předpis

$$\frac{d[P]}{dt} = k_3 \frac{[E_0][S]}{K_M + [S]}, \quad (2.70)$$

kde lze definovat již zmíněnou Michaelisovu-Mentenové rovnici

$$v_0 = \frac{v_{\max}[S]}{K_M + [S]} \quad (2.71)$$

vyjadřující závislost počáteční rychlosti reakce  $v_0$  na známé maximální (mezní) rychlosti  $v_{\max}$  a koncentraci substrátu  $[S]$ .

### 3 Matematické modely srážení krve

Po boku modelů biologických se vyvíjejí i modely matematické, které vycházejí ze soudobých znalostí o procesu vzniku krevních sraženin. Odborná literatura v současnosti nabízí matematické modely zabývající se jak primární, tak i sekundární hemostázou. Vzhledem ke složitosti celého procesu hemostázy bude pozornost v této bakalářské práci upřena především na modely popisující sekundární hemostázy, tj. hemokoagulaci. Tak jak bylo zmíněno v první kapitole této práce, prvotní modely sekundární hemostázy vycházely z předpokladu koagulační kaskády. Ty novější již uvažují princip buněčného modelu, který je v souladu se současným vývojem biologických modelů.

Matematické modely hemokoagulace lze rozdělit mnoha způsoby. Tím nejčastěji voleným je rozdělení podle matematického popisu, tj. podle typu rovnic, které daný proces srážení krve popisují. Jak uvádí např. [9], obvykle se jedná o dvě skupiny modelů – o modely založené buď na systému obyčejných diferenciálních rovnic (ODR), nebo na systému parciálních diferenciálních rovnic (PDR). Obě skupiny si nyní blíže popíšeme.

#### 3.1 Modely založené na ODR

Podstata tohoto typu modelů srážení krve vychází z teorie reakční kinetiky shrnuté v kapitole 2 této bakalářské práce, kde rychlost chemických reakcí a časový vývoj koncentrace účastníků se látek byly vyjádřeny prostřednictvím ODR. Z hlediska zařazení v rámci popisu hemokoagulace slouží tento typ modelů především ke stanovení lokálních změn koncentrací hemokoagulačních faktorů a ke studiu prahových koncentrací, které iniciují spuštění sekundární hemostázy.

Obecný tvar modelů založených na systému ODR se v literatuře označuje jako tzv. systém reakčních rovnic. Konkrétně pro  $i$ -tou látku má matematický model následující tvar

$$\frac{dc_i}{dt} = R_i \quad (3.1)$$

kde  $c_i$  je koncentrace  $i$ -té látky a člen  $R_i$  popisuje, jak  $i$ -tá látka reaguje s ostatními látkami. Je-li k dispozici stechiometrická matice  $\mathbf{S}$  (viz odstavec 2.1), lze soustavu ODR (3.1) přepsat jako

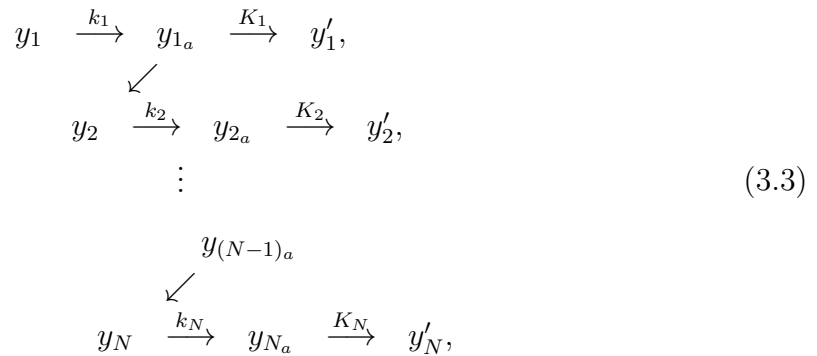
$$\frac{d\mathbf{c}}{dt} = \mathbf{S}\mathbf{r}, \quad (3.2)$$

kde  $\mathbf{c}$  je vektor koncentrací všech látek a  $\mathbf{r}$  je vektor reakčních rychlostí [8].

V roce 1966, tedy krátce po publikování modelu koagulační kaskády, byl představen první matematický model [14] popisující řetězovou aktivaci porenzymů (zymogenů) na aktivní enzymy, tak jak byla hemokoagulace v tehdejší době známa. Schématicky lze takto



uvažovanou řetězovou aktivací zapsat následovně:



kde  $y_i$  je koncentrace  $i$ -tého proenzymu s počáteční koncentrací  $y_{i0}$ ,  $i = 1, \dots, N$ ,  $y_{i_a}$  představuje koncentraci aktivního enzymu a  $y_i'$  koncentraci inhibovaného enzymu. Rychlostní konstanty  $k_i$ ,  $K_i$  vyjadřují rychlosti příbytku a úbytku aktivované formy enzymu příslušné reakce. Tento biologický proces aktivace proenzymů lze matematicky zapsat ve tvaru [14]

$$\begin{aligned}
 \frac{dy_{1a}}{dt} &= k_1 y_1 [U(t) - U(t - a)] - K_1 y_{1a}, \\
 \frac{dy_{2a}}{dt} &= k_2 y_2 y_{1a} - K_2 y_{2a}, \\
 &\vdots \\
 \frac{dy_{na}}{dt} &= k_N y_N y_{(N-1)a} - K_N y_{Na},
 \end{aligned} \tag{3.4}$$

kde  $U(t)$  je funkce jednotkového skoku (Heavisideova funkce), výraz  $[U(t) - U(t - a)]$  představuje jednotkový skok trvající po dobu  $a$  a vyjadřuje dobu, po kterou působí počáteční stimul nutný pro aktivaci enzymu  $y_1$ .

Dalším významným modelem na bázi ODR z roku 1989 je nelineární model popisující koagulační kaskádu aktivovanou prostřednictvím vnější cesty (obr. 1.2), při níž je vývoj koncentrací klíčových hemokoagulačních faktorů reprezentován následující soustavou rovnic [9]

$$\begin{aligned}
 \frac{d[\text{VIIa}]}{dt} &= \alpha k_1 - K_1 [\text{VIIa}], \\
 \frac{d[\text{Xa}]}{dt} &= k_2 [\text{VIIa}] - K_2 [\text{Xa}], \\
 \frac{d[\text{Va}]}{dt} &= k_3 [\text{IIa}] - K_3 [\text{Va}], \\
 \frac{d[\text{IIa}]}{dt} &= \frac{k_4 [\text{Xa}] [\text{Va}]}{K_a + [\text{Va}]} - K_4 [\text{IIa}],
 \end{aligned} \tag{3.5}$$

kde  $\alpha$  je hodnota koncentrace aktivátoru faktoru VII. S ohledem na biochemický úvod uvedený v kapitole 1 této bakalářské práce je zřejmé, že model (3.5) je velmi zjednodušený,

a to nejen malým počtem faktorů, ale i tím, že uvažuje časový vývoj koncentrace pouze aktivovaných faktorů. U těch neaktivovaných předpokládá konstantní koncentrace v průběhu celého procesu srážení krve. Navzdory své jednoduchosti umožnil tento model určit tzv. prahovou hodnotu aktivace  $\alpha_0$

$$\alpha_0 = K_a \frac{K_1 K_2 K_3 K_4}{k_1 k_2 k_3 k_4}. \quad (3.6)$$

Ta ukazuje, že při zvýšení rychlostí koncentrace příbytku rychlostí příbytku  $k_i$ ,  $i = 1, 2, 3, 4$  jednotlivých látek jednotlivých látek se prahová hodnota aktivace sníží, tj. dojde k aktivaci hemokoagulace pro nižší hladinu aktivátoru. Při zvýšení rychlosti inhibice  $K_j$ ,  $j = 1, 2, 3, 4$  se hodnota  $\alpha_0$  naopak zvýší a pro spuštění procesu srážení je tak potřeba vyšší koncentrace aktivátoru.

S novými znalostmi o biologických procesech se i matematické modely, které je popisují, stávají složitějšími, což v mnoha ohledech vede na složité nelineární systémy rovnic, popř. výrazně navyšuje počet neznámých koncentrací hemokoagulačních faktorů. Do této skupiny spadá například jeden z pozdějších modelů – tzv. Hockinův-Mannův model [11], který je tvořen 34 ODR a obsahuje 42 různých rychlostních konstant. Jeho podstatou je modelovat princip vnější aktivace srážení krve, který by rovněž zohledňoval působení inhibitorů, např. antitrombinu III.

Příklad dalšího modelu založeného na systému ODR je uveden a podrobně analyzován v kapitole 5 této práce. Z důvodu porovnání s výše zmíněnými modely zde ještě uvedme, že tento model popsany poprvé v práci [12] a mírně modifikovaný v [8] vychází z 12 chemických reakcí, při nichž dochází k přeměně 18 chemických látek za užití 19 rychlostních konstant.

### 3.2 Modely založené na PDR

Tento druh modelů zkoumá vznik a chování krevní sraženiny v prostoru, při kterém se zohledňuje hlavně vliv protékající krve, případně nerovnoměrné rozložení chemických látek. Jak uvádí např. autoři rešeršní práce [9], modely vycházející ze systému PDR mohou popisovat jak primární, tak sekundární hemostázu. Způsob jejich rozdělení bývá nejčastěji na základě škály, v jejímž rámci je proces vzniku krevní sraženiny matematicky popsán.

#### Nanoškálové modely (molekulární úroveň)

Tyto modely vycházejí z principů tzv. *molekulární dynamiky* zabývající se pohybem vzájemně se ovlivňujících molekul. Jako příklad lze uvést práci [15], která zkoumá vlastnosti jednotlivých fibrinových molekul a vliv jejich struktury na elasticitu krevní sraženiny.

### Mikroškalové modely (buněčná úroveň)

Jak už název napovídá, zabývá se tento typ modelů vyšetřováním pohybu a interakcí jednotlivých krevních buněk a molekul hemokoagulačních faktorů. V rámci dostupných metod existuje celá řada technik pro simulaci pohybu buněk a molekul v krevním řečišti. Většinou se však jedná o variace klasické ELPT metody<sup>8</sup>, metody diskretních částic<sup>9</sup> či obdobu metody vnořené hranice<sup>10</sup>, více viz [9]. Mezi mikroškalové modely popisující primární hemostázy se řadí např. model publikovaný v [19], ve kterém je analyzován vliv červených krvinek na agregaci krevních destiček. Vazba glykoproteinů mezi dvěma krevními destičkami je zde realizována pomocí Voigtova modelu, který se sestává z paralelně řazeného tlumiče a pružiny.

### Mezoškalové modely

Přechod mezi diskretními a spojitými modely představují mezoškalové modely, které srážení krve popisují pomocí principů statistické mechaniky, které k buňkám a molekulám látek nepřístupují jednotlivě, ale jejich pohyb modelují prostřednictvím pravděpodobnostního popisu. Nejčastěji užívanou metodou bývá lattice Boltzmannova metoda. Do této skupiny modelů můžeme např. zařadit model z článku [18], kde se autoři snaží modelovat polymerizační proces, jehož výsledkem je vytvoření nerozpustné fibrinové sítě. Dále je obsahem zmíněného článku i studium vlivu koagulačních faktorů (např. trombinu) na vlastnosti výsledné krevní sraženiny.

### Makroškalové modely

U těchto modelů platí předpoklad, že na systém je pohlíženo jako na kontinuum, a proto proudění krve modelované jako laminární, izotermické proudění nestlačitelné vazké kapaliny může být matematicky popsáno rovnicí kontinuity a Navierovými-Stokesovými rovnicemi. Tento nelineární systém rovnic je při řešení úlohy hemokoagulace propojen s rovnicemi vyjadřujícími časový vývoj koncentrace příslušných látek, které bývají souhrnně označovány jako *konvekčně-difúzně-reakční rovnice* (convection-diffusion-reaction, CDR [8]). Pro  $i$ -tou látku je CDR rovnice makroškalových modelů sekundární hemostázy uváděna v následujícím obecném tvaru [8, 9]

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} + \nabla \cdot (\mathbf{u}c_i - D_i \nabla c_i) = R_i(c_1, c_2, \dots, c_n), \quad (3.7)$$

<sup>8</sup>Euler-Lagrange particle tracking method

<sup>9</sup>v anglickém jazyce Discrete particles method

<sup>10</sup>v anglickém jazyce Immersed boundary (IB) method

kde  $t$  označuje čas,  $c_i$ ,  $i = 1, \dots, N$  je koncentrace  $i$ -té látky,  $D_i$  je difuzivita<sup>11</sup>,  $\mathbf{u}$  je vektor rychlosti proudění krve a  $R_i$  v analogii se vztahem (3.1) vyjadřuje reakční část CDR rovnic, které lze odvodit na základě kinetických rovnic uvedených v kapitole 2 této bakalářské práce.

Pro vytvoření si jisté představy o tom, jak je proces srážení krve ovlivňován přítomností toku krve, je následující kapitola této práce věnována popisu a numerickému řešení jednoho ze základních makroškalových modelů hemokoagulace.

---

<sup>11</sup>Tato konstanta ovlivňuje rychlost difúze částic modelované látky v uvažovaném médiu (krvi). V literatuře (např. [5, 6, 8]) je většinou volena stejná hodnota pro všechny hemokoagulační faktory.

## 4 Model typu aktivátor-inhibitor

Jak uvádí např. [9], jedná se o jeden z prvních a nejjednodušších makroškalových modelů založených na nelineárním systému PDR, který popisuje vzájemnou interakci mezi hlavním aktivátorem a inhibítorem procesu srážení krve. První zmínka o tomto modelu pochází z roku 1994 [5], kdy jej autoři použili pro studium tzv. chemických autovln v 1D trubici (viz dále), později jej v práci [6] rozšířili pro 2D případ v analogii s in-vitro pozorováními realizovanými pro krevní plazmu v Petriho misce.

Jelikož jedním z vytyčených cílů této bakalářské práce je provést numerickou simulaci vzniku krevní sraženiny v idealizovaném modelu cévy, je v rámci této kapitoly uvažována rozšířená varianta výše zmíněného modelu, tj. varianta uvedená v práci [6]. Jejím základem jsou dvě PDR vyjadřující vzájemnou chemickou interakci mezi hlavním koagulačním aktivátorem (trombinem) a jeho nejvýznamnějším inhibítorem (proteinem C). Systém těchto dvou rovnic je dále doplněn o rovnici vyjadřující tvorbu nerozpustné fibrinové krevní sraženiny v závislosti na lokální koncentraci aktivátoru. Celý model, který ve své podstatě zohledňuje vedle chemické interakce pouze difúzi aktivátoru a inhibítora<sup>12</sup> a koresponduje s obecným vztahem (3.1), je dán ve tvaru [6]

$$\begin{aligned}\frac{\partial \theta}{\partial t} &= \frac{\alpha \theta^2}{\theta + \theta_0} - \kappa_1 \theta - \gamma \theta \varphi + D_1 \Delta \theta, \\ \frac{\partial \varphi}{\partial t} &= \beta \theta \left(1 - \frac{\varphi}{C}\right) \left(1 + \frac{\varphi^2}{\varphi_0^2}\right) - \kappa_2 \varphi + D_2 \Delta \varphi, \\ \frac{\partial \psi}{\partial t} &= \kappa \theta,\end{aligned}\tag{4.1}$$

kde  $\theta$ ,  $\varphi$ ,  $\psi$  jsou postupně koncentrace trombinu, proteinu C a fibrinu. Koeficienty  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\kappa$ ,  $\kappa_1$ ,  $\kappa_2$ ,  $\theta_0$ ,  $C$ ,  $\varphi_0$  jsou chemické parametry modelu,  $D_1$ ,  $D_2$  difúzní koeficienty a  $\Delta$  označuje Laplaceův operátor. Hodnoty zmíněných parametrů a koeficientů tak, jak budou uvažovány v této práci, jsou shrnuty v tab. 4.1.

Zaměříme-li se na reakční část prvních dvou rovnic soustavy (4.1), tj. členy na pravé straně obou rovnic vyjma členů reprezentujících difúzi, pak s odkazem na práce [5, 6, 16] si můžeme více přiblížit význam jednotlivých členů z pohledu reakční kinetiky a biochemie. Konkrétně v případě aktivátoru vyjadřuje člen  $\frac{\alpha \theta^2}{\theta + \theta_0}$  přírůstek koncentrace aktivátoru ve smyslu enzymové katalýzy popsané Michaelisem a Mentenovou (odstavec 2.4.1), kde parametr  $\theta_0$  odpovídá Michaelisově konstantě  $K_M$ . Třetí člen  $-\gamma \theta \varphi$  lze v souladu s reakční kinetikou jednoduchých reakcí druhého řádu označit za člen, který zohledňuje vliv inhibítora na produkci aktivátoru a u něhož parametr  $\gamma$  plní úlohu rychlostní konstanty. V případě rovnice pro časový vývoj koncentrace inhibítora je podoba nelineárního

<sup>12</sup>V případě fibrinu je přijat předpoklad, že jeho produkce v daném místě je natolik rychlá, že se u ní nestačí projevit vliv difúze.

reakčního členu  $\beta\theta\left(1 - \frac{\varphi}{C}\right)\left(1 + \frac{\varphi^2}{\varphi_0^2}\right)$  odvozena na základě předpokladu, že přírůstek inhibitoru je přímo úměrný produkci aktivátoru, tj. v místech, kde je koncentrace aktivátoru nulová, nebude docházet k tvorbě inhibitoru. Oproti aktivátoru však produkce inhibitoru není podmíněna jeho nenulovou koncentrací, tj. nevyžaduje přítomnost počátečního stimulu. Zbývající kinetické členy  $-\kappa_1\theta$  a  $-\kappa_2\varphi$  s rychlostními konstantami  $\kappa_1$  a  $\kappa_2$  odpovídají pasivním úbytkům obou látek v důsledku metabolických procesů probíhajících v krevním řečišti

Tabulka 4.1: Parametry modelu s aktivátorem a inhibitorem převzaté z [6]

parametry	hodnota	jednotky
$\alpha$	2,0	$\text{min}^{-1}$
$\beta$	0,0015	$\text{min}^{-1}$
$\gamma$	5	$\text{min}^{-1}\text{nM}^{-1}$
$\varphi_0$	0,05	$\text{nM}^{13}$
$C$	5	$\text{nM}$
$\kappa$	2,8	$\text{min}^{-1}$
$\kappa_1$	0,05	$\text{min}^{-1}$
$\kappa_2$	0,35	$\text{min}^{-1}$
$D_1$	$10^{-5}$	$\text{mm}^2\text{min}^{-1}$
$D_2$	$10^{-5}$	$\text{mm}^2\text{min}^{-1}$

Podle autorů [6] lze v závislosti na prahové hodnotě  $\theta_0$  pozorovat odlišné chování soustavy (4.1), které odpovídá chování pozorovatelné u většiny reakčně-difúzních systémů [5]:

- Pro  $\theta_0 > 2,4$  je počáteční koncentrace aktivátoru rychle inhibována a případný další růst sraženiny je potlačen a omezen pouze na nejbližší okolí. Hustota vzniklé sraženiny (koncentrace fibrinu) se odvíjí od maximální koncentrace aktivátoru v daném místě. Samotná sraženina je obklopena tzv. zónou inhibice, která vzniká v důsledku difúze inhibitoru do prostoru. Rozměry takto vzniklé sraženiny jsou dle [6] téměř nezávislé na hodnotě počátečního stimulu a době jejího působení.
- Je-li  $\theta_0$   $1,3 < \theta_0 < 2,3$  vznikají tzv. stratifikované struktury. Hladina aktivátoru není inhibitorem zcela potlačena, šíří se dále do prostoru s mnohem menší amplitudou a trombin tedy nezpůsobuje významné srážení krve. V určitých místech opět překoná hraniční hodnotu potřebnou pro opětovanou aktivaci, ovšem následné potlačení inhibitorem celý proces opakuje a koncentrace obou látek pravidelně kolísají. Toto kolísání se nazývá tzv. autovlny a nastává v chemických systémech popisující vzájemnou interakci mezi aktivátorem a inhibitorem.

<sup>13</sup>1 nM =  $1 \times 10^{-6} \text{ mol m}^{-3}$

- Pro nízké hodnoty  $\theta_0$  ( $\theta_0 < 1, 2$ ) je počáteční koncentrace aktivátoru potlačena na nižší hodnotu než v předchozí případě. Není však zcela inhibována a opět se šíří do prostoru ve formě autovln s téměř konstantní amplitudou.

Zajímavostí je, že ačkoliv je matematický model (4.1) ve své podstatě velice jednoduchý, neboť místo složitého koagulačního řetězce uvažuje pouze jediný aktivační faktor – trombin, jeho výše popsané chování je plně v souladu s chováním krevní plazmy tak, jak bylo pozorováno při experimentech in-vitro [6], viz obr. 4.4. V případě in-vivo je vznik autovln výrazně omezen, jelikož se na jejich tvorbě a podobě výraznou měrou projevuje vliv protékající krve a přítomnost krevních destiček.

#### 4.1 Numerické řešení v 1D

Jak bylo zmíněno výše, je řešení matematického modelu daného soustavou PDR (4.1) pro určité prahové hodnoty  $\theta_0$  charakterizováno vznikem autovln. Abychom toto tvrzení ověřili a zároveň stanovili vliv počátečního stimulu na podobu vzniklé krevní sraženiny tvořenou nerozpustným fibrinem, budeme v rámci tohoto odstavce uvažovat 1D případ. Na ten podobně jako autoři původních článků [5, 6] můžeme nahlížet jako na případ, kdy se aktivátor a inhibitor hemokoagulace vzájemně ovlivňují uvnitř idealizovaného modelu přímé cévy s nepropustnými stěnami.

Uvažujme tedy 1D trubici o délce  $L = 0, 2$  mm, ve které budeme spojitý matematický model (4.1) řešit v diskrétních bodech pomocí metody konečných diferencí na časovém intervalu  $t \in \langle 0, T \rangle$ . V tomto smyslu aproximujeme časové derivace na levé straně soustavy užitím Eulerovy metody prvního řádu přesnosti v čase jako

$$\begin{aligned}\frac{\partial \theta}{\partial t} &\approx \frac{1}{\Delta t}(\theta^{n+1} - \theta^n), \\ \frac{\partial \varphi}{\partial t} &\approx \frac{1}{\Delta t}(\varphi^{n+1} - \varphi^n), \\ \frac{\partial \psi}{\partial t} &\approx \frac{1}{\Delta t}(\psi^{n+1} - \psi^n),\end{aligned}\tag{4.2}$$

kde horní indexy  $n$  a  $n+1$  označují hodnoty koncentrací v časech  $t^n$  a  $t^{n+1}$  a  $\Delta t = t^{n+1} - t^n$  je časový krok numerického řešení. Pro difúzní členy s Laplaceovým operátorem v 1D aplikujeme centrální schéma druhého řádu přesnosti v prostoru

$$\begin{aligned}\Delta \theta &= \frac{\partial^2 \theta}{\partial x^2} \approx \frac{1}{(\Delta x)^2}(\theta_{i+1}^n - 2\theta_i^n + \theta_{i-1}^n), \\ \Delta \varphi &= \frac{\partial^2 \varphi}{\partial x^2} \approx \frac{1}{(\Delta x)^2}(\varphi_{i+1}^n - 2\varphi_i^n + \varphi_{i-1}^n).\end{aligned}\tag{4.3}$$

kde  $\Delta x = 0,005$  mm je ekvidistantní dělení 1D trubice a dolní indexy  $i + 1$ ,  $i$  a  $i - 1$  označují polohu diskrétních bodů v rámci diskrétní trubice. Výsledný diskretizovaný model aktivátor-inhibitor bude mít následující podobu pro  $i$ -tý bod diskretizované trubice:

$$\begin{aligned}\theta_i^{n+1} &= \theta_i^n + \Delta t \left[ \frac{\alpha(\theta_i^n)^2}{\theta_i^n + \theta_0} - \kappa_1 \theta_i^n - \gamma \theta_i^n \varphi_i^n + \frac{D_1}{(\Delta x)^2} (\theta_{i+1}^n - 2\theta_i^n + \theta_{i-1}^n) \right], \\ \varphi_i^{n+1} &= \varphi_i^n + \Delta t \left[ \beta \theta_i^n \left( 1 - \frac{\varphi_i^n}{C} \right) \left( 1 + \frac{(\varphi_i^n)^2}{\varphi_0^2} \right) - \kappa_2 \varphi_i^n + \frac{D_2}{(\Delta x)^2} (\varphi_{i+1}^n - 2\varphi_i^n + \varphi_{i-1}^n) \right], \\ \psi_i^{n+1} &= \psi_i^n + \Delta t \kappa \theta_i^n.\end{aligned}\tag{4.4}$$

Numerické řešení bylo realizováno v prostředí programu Matlab a vyvinutý program *ceva\_1D.m* je součástí přílohy bakalářské práce.

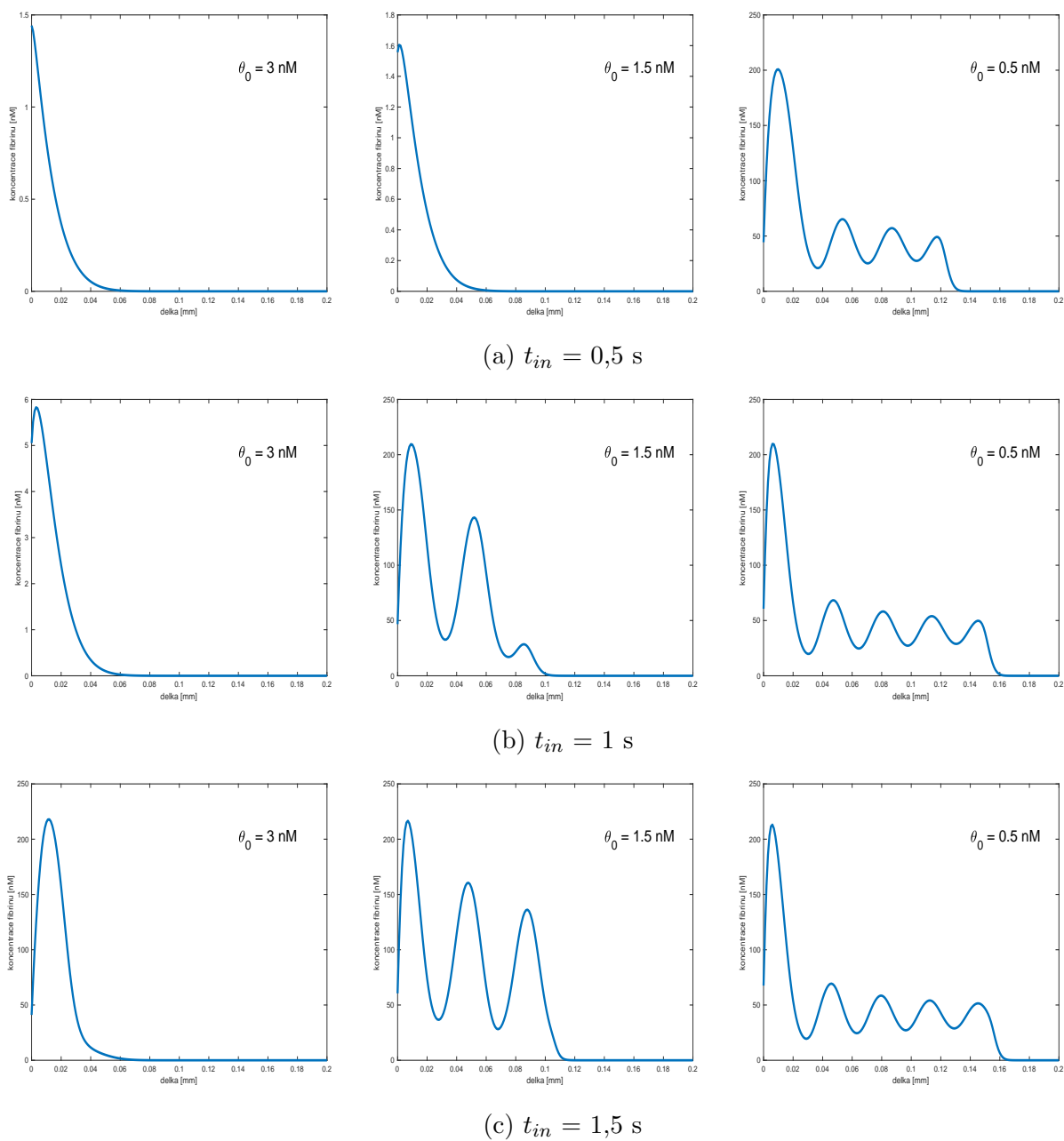
V souladu s informacemi uvedenými v původním článku [5] je počáteční rozložení koncentrací aktivátoru, inhibitoru a fibrinu v celé délce trubice rovné nule, tj.  $\theta_i(t = 0) = 0$ ,  $\varphi_i(t = 0) = 0$  a  $\psi_i(t = 0) = 0$  pro  $i = 1, \dots, N$ , kde index  $i = 1$  odpovídá bodu na vstupu trubice ( $x = 0$ ) a  $i = N$  jejímu výstupu ( $x = L$ ). Samotný proces srážení krve je spuštěn aplikací nenulového počátečního stimulu na vstupu trubice, tj.  $\theta_1(t) = \theta_{in}$  pro  $0 \leq t \leq t_{in}$ , kde  $\theta_{in}$  určuje sílu stimulu (lokální nárůst koncentrace aktivátoru) a  $t_{in}$  je doba jeho působení.

Jelikož články [5, 6] neuvádějí jakékoliv informace o síle a trvání tohoto stimulu, je zbytek tohoto odstavce věnován podrobné analýze chování diskretizovaného modelu (4.4) v závislosti na hodnotě  $\theta_0$  pro tři zvolené počáteční stimuly ( $\theta_{in} = 1; 10; 100$  nM) a tři různě dlouhé doby jeho působení ( $t_{in} = 0,5; 1,0; 1,5$  s). Numerické výsledky získané pro časový krok  $\Delta t = 0,005$  min na časovém intervalu  $t \in \langle 0, T \rangle$ ,  $T = 25$  min jsou znázorněny na obr. 4.1 a 4.2 ve formě grafů. Tyto grafy reprezentují rozložení koncentrace nerozpustného fibrinu na konci časového intervalu pro zvolené prahové hodnoty  $\theta_0$  a počáteční stimuly.

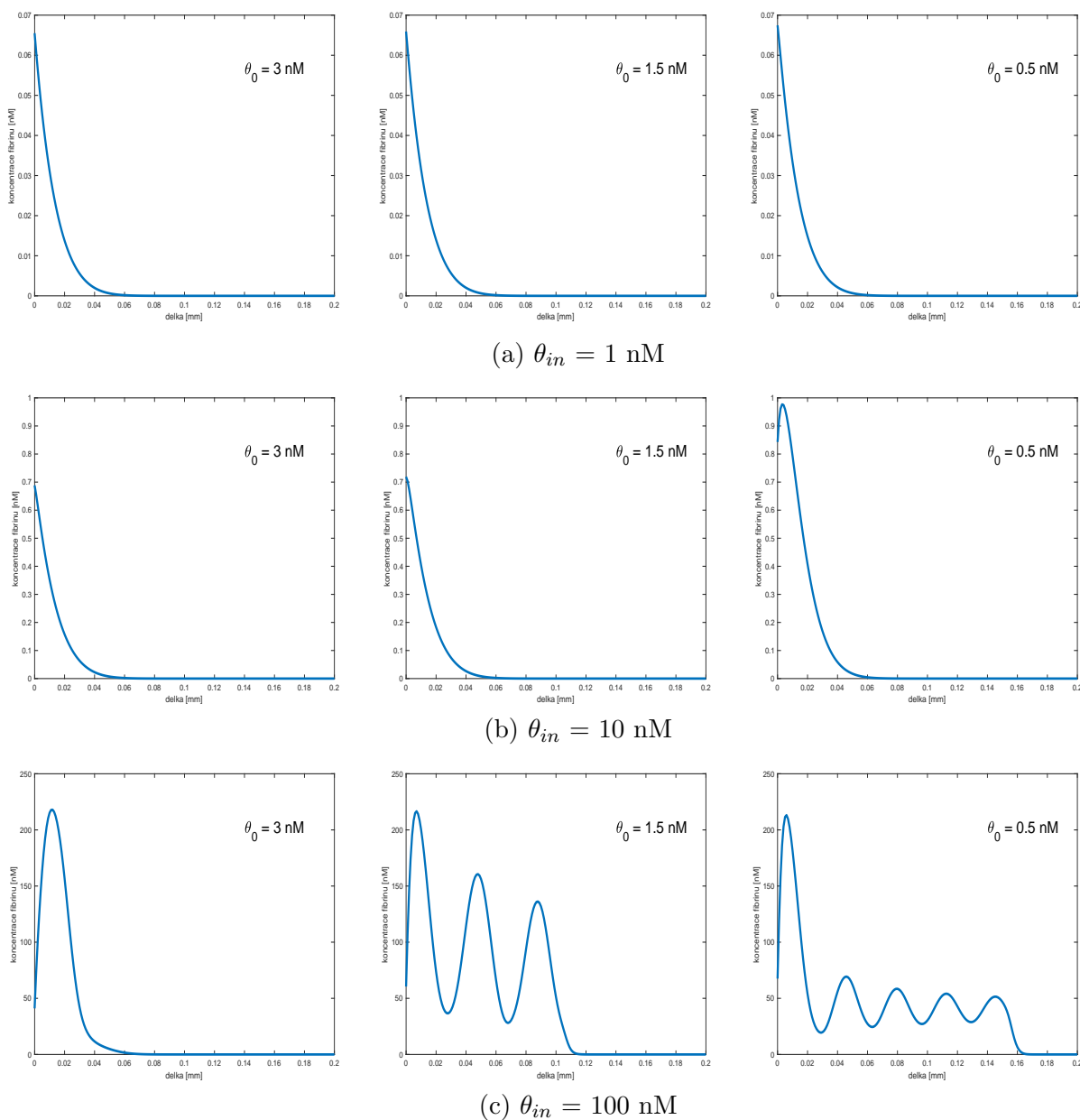
Jak je z obr. 4.1 a 4.2 patrné, závisí chování systému (4.4) nejen na volbě prahové hodnoty  $\theta_0$ , která v souladu s původními články [5, 6] určuje výskyt a podobu autovln, ale i na podobě počátečního stimulu. V případě, že je vstupní koncentrace aktivátoru  $\theta_{in}$  příliš nízká (viz hodnoty 1 nM a 10 nM na obr. 4.1) nebo je doba působení stimulu  $t_{in}$  příliš krátká (viz 0,5 s na obr. 4.2), významné srážení krve<sup>14</sup> nenastane. V opačném případě lze pozorovat chování systému tak, jak bylo popsáno v [6].

<sup>14</sup>Pod pojmem významná krevní sráženina chápeme oblast, v níž koncentrace vytvořeného fibrinu překračuje hodnotu počáteční koncentrace stimulu, např. pro  $\theta_{in} = 100$  nM lze na obr. 4.1 jako významné sráženiny označit ty grafy, kde se maximální koncentrace fibrinu blíží hodnotě 250 nM.





Obr. 4.1: Rozložení výsledné fibrinové sraženiny v čase 25 min v závislosti na různých  $\theta_0$  a na době trvání počátečního stimulu  $t_{in}$



Obr. 4.2: Rozložení výsledné fibrinové sraženiny v čase 25 min v závislosti na různých  $\theta_0$  a na hodnotě koncentrace počátečního stimulu  $\theta_{in}$

## 4.2 Numerické řešení ve 2D

V návazosti na výsledky získané pro 1D model cévy, které byly prezentovány a diskutovány v předchozím odstavci, je obsah tohoto odstavce věnován studiu 2D případu, který lépe koresponduje s experimentálními výsledky z [6]. Ty jsou znázorněny na obr. 4.4 a představují průběh hemokoagulace krevní plazmy v Petriho miskách za vzniku autovln. Pro numerické řešení ve 2D byla zvolena čtvercová výpočtová oblast o délce hrany 0,8 mm, která reprezentuje výřez Petriho misky používané v experimentech [6], v jejímž středu necháme působit počáteční stimul. Ten podle výsledků z předchozího odstavce zvolíme jediný, a to  $\theta_{in} = 100 \text{ nM}$  a  $t_{in} = 1,5 \text{ s}$ .

Pro numerické řešení matematického modelu (4.1) ve 2D opět využijeme metodu konečných diferencí. Pro časovou diskretizaci aplikujeme dříve uvedené vztahy (4.2). Aproximace Laplaceova operátoru ve 2D provedeme ve smyslu centrálního schématu druhého řádu přesnosti v prostoru jako

$$\begin{aligned}\Delta\theta &= \frac{\partial^2\theta}{\partial x^2} + \frac{\partial^2\theta}{\partial y^2} \approx \frac{\theta_{i+1,j} - 2\theta_{i,j} + \theta_{i-1,j}}{\Delta x^2} + \frac{\theta_{i,j+1} - 2\theta_{i,j} + \theta_{i,j-1}}{\Delta y^2}, \\ \Delta\varphi &= \frac{\partial^2\varphi}{\partial x^2} + \frac{\partial^2\varphi}{\partial y^2} \approx \frac{\varphi_{i+1,j} - 2\varphi_{i,j} + \varphi_{i-1,j}}{\Delta x^2} + \frac{\varphi_{i,j+1} - 2\varphi_{i,j} + \varphi_{i,j-1}}{\Delta y^2}.\end{aligned}\tag{4.5}$$

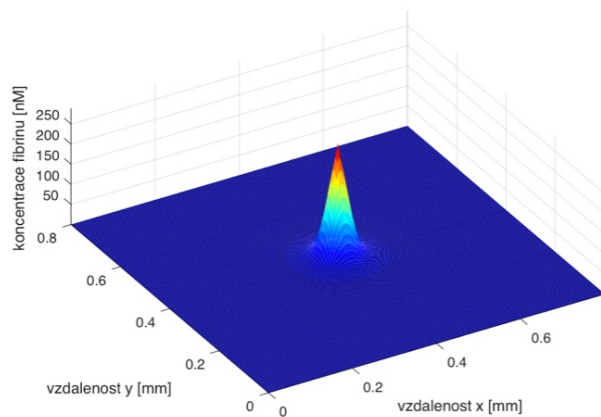
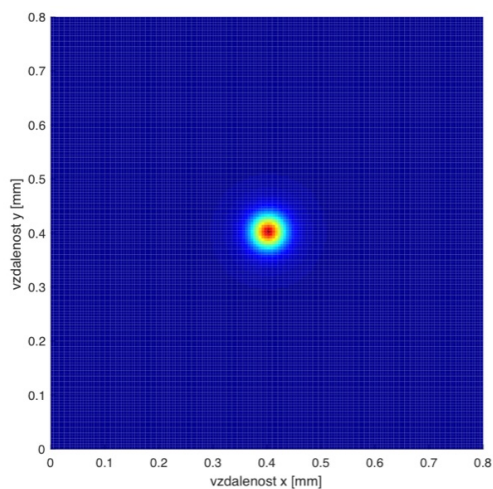
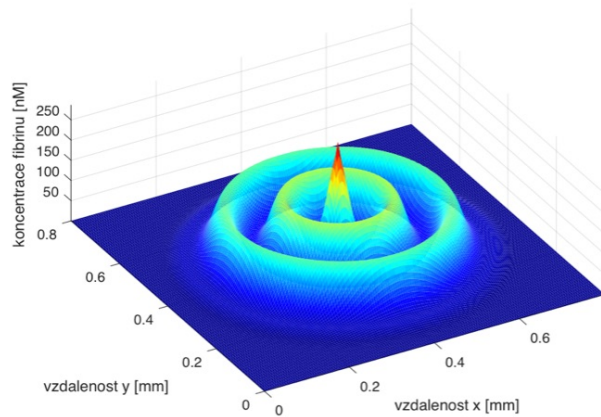
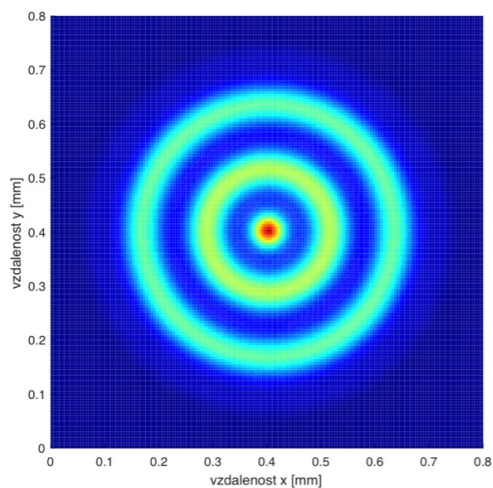
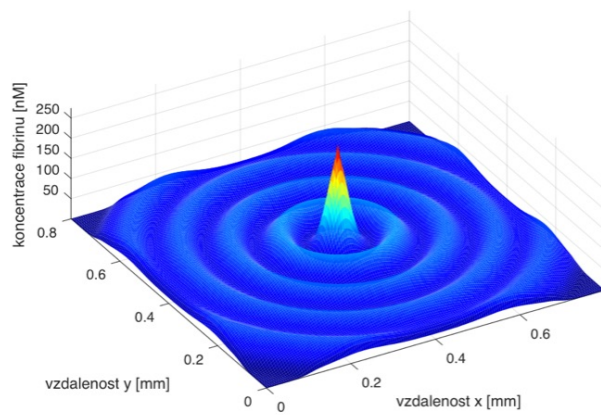
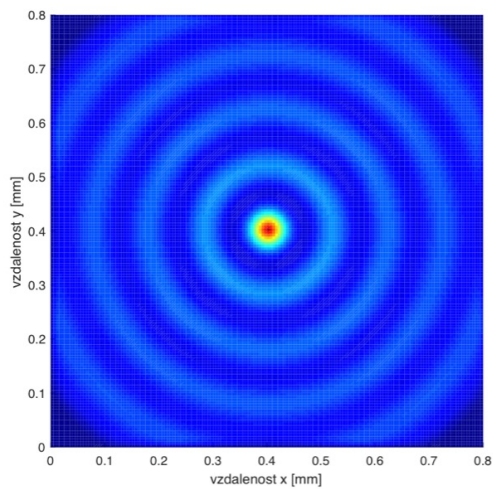
kde  $\Delta x = 0,005 \text{ mm}$  a  $\Delta y = 0,005 \text{ mm}$  jsou ekvidistantní dělení diskretizované 2D oblasti ve směru os  $x$  a  $y$  a dolní indexy  $i, i = 1, \dots, N_x$  a  $j, j = 1, \dots, N_y$  označují polohu diskrétních bodů v těchto směrech. Užitím aproximačních vztahů 4.2 a (4.5) v matematickém modelu aktivátoru-inhibitoru (4.1) obdržíme následující diskretizovaný model pro bod určený indexy  $i, j$

$$\begin{aligned}\theta_{i,j}^{n+1} &= \theta_{i,j}^n + \Delta t \left[ \frac{\alpha(\theta_{i,j}^n)^2}{\theta_{i,j}^n + \theta_0} - \kappa_1\theta_{i,j}^n - \gamma\theta_{i,j}^n\varphi_{i,j}^n + \right. \\ &\quad \left. D_1 \left( \frac{\theta_{i+1,j}^n - 2\theta_{i,j}^n + \theta_{i-1,j}^n}{\Delta x^2} + \frac{\theta_{i,j+1}^n - 2\theta_{i,j}^n + \theta_{i,j-1}^n}{\Delta y^2} \right) \right], \\ \varphi_{i,j}^{n+1} &= \varphi_{i,j}^n + \Delta t \left[ \beta\theta_{i,j}^n \left( 1 - \frac{\varphi_{i,j}^n}{C} \right) \left( 1 + \frac{(\varphi_{i,j}^n)^2}{\varphi_0^2} \right) - \kappa_2\varphi_{i,j}^n + \right. \\ &\quad \left. D_2 \left( \frac{\varphi_{i+1,j}^n - 2\varphi_{i,j}^n + \varphi_{i-1,j}^n}{\Delta x^2} + \frac{\varphi_{i,j+1}^n - 2\varphi_{i,j}^n + \varphi_{i,j-1}^n}{\Delta y^2} \right) \right],\end{aligned}\tag{4.6}$$

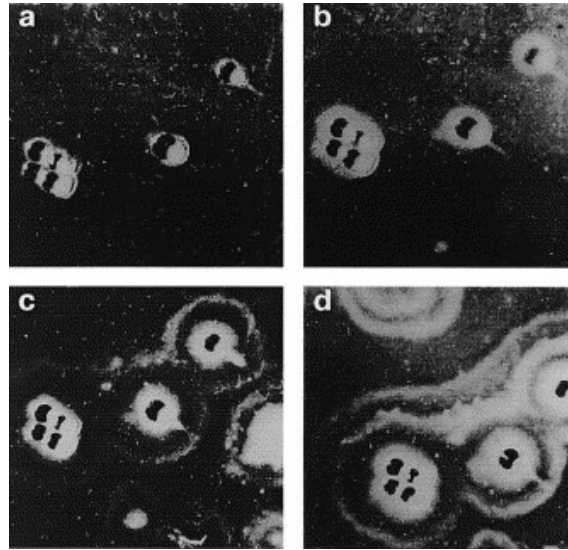
$$\psi_{i,j}^{n+1} = \psi_{i,j}^n + \Delta t \kappa \theta_{i,j}^n.$$

Numerické řešení bylo realizováno v prostředí programu Matlab a příslušný program *ctverec\_2D.m* je součástí přílohy bakalářské práce.

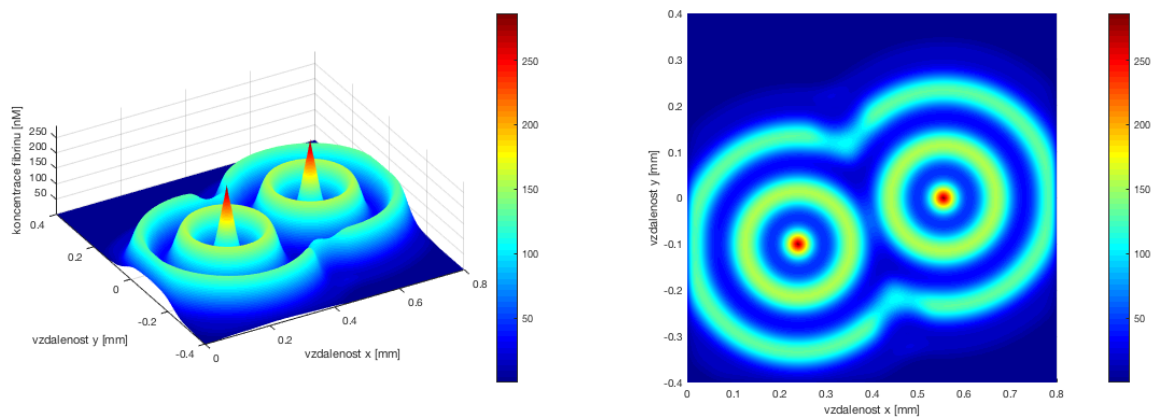
Chování modelu (4.6) se obdobně jako v 1D případě mění v závislosti na zvolené prahové hodnotě  $\theta_0$ . Vzájemná chemická interakce mezi aktivátorem a inhibítorem hemokoagulace může být provázena vznikem autovln, jejich podoba je velice dobře patrná z obr. 4.3b, 4.3c a koresponduje s rozložením fibrinu získaným pro 1D model cévy analyzovaný v předchozím odstavci. Pro úplnost uvedeme, že numerické výsledky na obr. 4.3 byly získány pro časový krok  $\Delta t = 0,005$  s na časovém intervalu  $t \in \langle 0, T \rangle$ ,  $T = 25$  min a představují rozložení koncentrace nerozpustného fibrinu.

(a)  $\theta_0 = 3 \text{ nM}$ (b)  $\theta_0 = 1,5 \text{ nM}$ (c)  $\theta_0 = 0,5 \text{ nM}$ Obr. 4.3: Rozložení koncentrace fibrinu v rámci 2D oblasti v čase 25 min pro tři zvolené hodnoty  $\theta_0$

Jak bylo zmíněno na začátku této kapitoly, vznik autovln v krevní plazmě byl pozorován v experimentech in-vitro, obr 4.4. Zde podobně jako u numerických výsledků docházelo ke střídání oblastí s tekutou plazmou a oblastí vyplněných krevní sraženinou. Čistě pro zajímavost, zda model (4.1) bude i v tomto případě odpovídat pozorováním na obr. 4.4, bylo srážení v rámci čtvercové 2D desky (výřez Petriho misky) iniciováno na dvou místech stejně silnými počátečními stimuly ( $\theta_{in} = 100 \text{ nM}$ ,  $t_{in} = 1,5 \text{ s}$ ). Výsledný tvar autovln a krevní sraženiny na obr. 4.5 kvalitativně koresponduje s chováním systému v in-vitro, obr. 4.4c-d.



Obr. 4.4: Autovlny pozorované in-vitro v časech a) 0 min, b) 12 min, c) 30 min, d) 60 min po lokální iniciaci procesu srážení krve, převzato z [6]



Obr. 4.5: Podoba výsledné fibrinové sraženiny v čase 25 min ( $\theta_0 = 1,5 \text{ nM}$ ) při iniciaci hemokoagulace ve dvou různých místech

### 4.3 Vliv proudění krve

V předchozích dvou odstavcích byla na idealizovaném modelu cévy (1D) a výřezu Petriho misky (2D) demonstrována chemická interakce mezi aktivátorem a inhibítorom s tím, že v obou případech nebyl uvažován vliv protékající krve ( $\mathbf{u} = \mathbf{0}$ ). Jelikož však rozložení koncentrací chemických látek, potažmo průběh chemických reakcí mohou být zásadním způsobem ovlivněny charakterem prostředí a přítomností nenulového rychlostního pole, je zde pro potřeby předložené bakalářské práce uvažována modifikace výchozího modelu (4.1) prezentovaná v článku [16]. Ta je v souladu s obecnou rovnicí (3.7) makroškálových modelů hemokoagulace doplněna o konvektivní členy<sup>15</sup> pro rovnice aktivátoru a inhibitoru

$$\begin{aligned}\frac{\partial \theta}{\partial t} &= \frac{\alpha \theta^2}{\theta + \theta_0} - \kappa_1 \theta - \gamma \theta \varphi + D_1 \Delta \theta - \mathbf{u} \nabla \theta, \\ \frac{\partial \varphi}{\partial t} &= \beta \theta \left(1 - \frac{\varphi}{C}\right) \left(1 + \frac{\varphi^2}{\varphi_0^2}\right) - \kappa_2 \varphi + D_2 \Delta \varphi - \mathbf{u} \nabla \varphi, \\ \frac{\partial \psi}{\partial t} &= \kappa \theta,\end{aligned}\tag{4.7}$$

kde  $\mathbf{u}$  je vektor rychlosti protékající krve. Podobně jako u modelu (4.1) je i v případě soustavy rovnic (4.7) přijat předpoklad, že tvorba nerozpustného fibrinu je nevratná a natolik rychlá, že se u ní neprojevuje jak difúze, tak ani konvekce. Dále oproti studii [16] je v této práci přistoupeno ke zjednodušení, při kterém je zanedbán zpětný vliv rostoucí krevní sraženiny na podobu proudového pole, které tak zůstává neměnné během celého numerického řešení.

Jako příklad je v rámci tohoto odstavce uvažován idealizovaný 2D model přímé cévy o délce  $L = 0,6$  mm a poloměru  $R = 0,1$  mm. Zanedbáme-li pulzační charakter toku krve, můžeme proudění krve v této cévě vyjádřit prostřednictvím parabolického rychlostního profilu

$$u_x(y) = U_{st} \left(1 - \frac{y^2}{R^2}\right),\tag{4.8}$$

kde  $U_{st} = 0,01$  mm/min je průměrná rychlost a  $y$  je vzdálenost od střednice cévy. Výsledný vektor rychlosti vystupující v (4.7) je pak dán ve tvaru  $\mathbf{u} = [u_x(y), 0]^T$ . Srážení krve bylo iniciováno počátečním stimulem  $\theta_{in} = 100$  nM, který působí na levém kraji ve střednici cévy po dobu  $t_{in} = 1,5$  s. Časová a prostorová diskretizace má stejné hodnoty jako v odstavci 4.2.

Gradient lze aproximovat následujícím schématem s druhým řádem přesnosti v prostoru

$$\begin{aligned}\nabla \theta &= \left[ \frac{\partial \theta}{\partial x}, \frac{\partial \theta}{\partial y} \right] \approx \left[ \frac{\theta_{i+1,j} - \theta_{i-1,j}}{2\Delta x}, \frac{\theta_{i,j+1} - \theta_{i,j-1}}{2\Delta y} \right], \\ \nabla \varphi &= \left[ \frac{\partial \varphi}{\partial x}, \frac{\partial \varphi}{\partial y} \right] \approx \left[ \frac{\varphi_{i+1,j} - \varphi_{i-1,j}}{2\Delta x}, \frac{\varphi_{i,j+1} - \varphi_{i,j-1}}{2\Delta y} \right].\end{aligned}\tag{4.9}$$

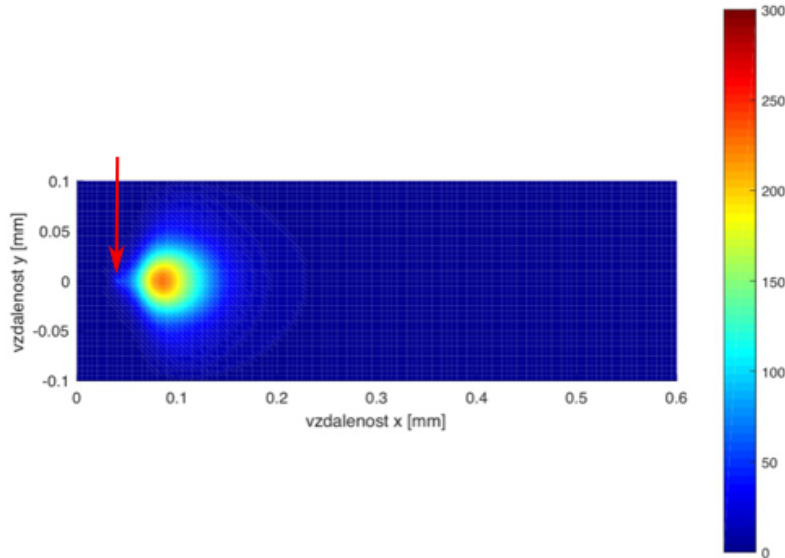
<sup>15</sup>Podoba konvektivních členů v soustavě rovnic (4.7) odvozená z (3.7) plyne z vlastnosti operátoru divergence ( $\nabla \cdot (\mathbf{u}c_i) = c_i \nabla \cdot \mathbf{u} + \mathbf{u} \nabla c_i$ ) a rovnice kontinuity pro proudění nestlačitelné newtonské kapaliny ( $\nabla \cdot \mathbf{u} = 0$ ), jakou je i krev.

Diskrétní model pro vznik krevní sraženiny s ohledem na proudění krve pro 2D případ má tvar

$$\begin{aligned} \theta_{i,j}^{n+1} &= \theta_{i,j}^n + \Delta t \left[ \frac{\alpha(\theta_{i,j}^n)^2}{\theta_{i,j}^n + \theta_0} - \kappa_1 \theta_{i,j}^n - \gamma \theta_{i,j}^n \varphi_{i,j}^n + \right. \\ & D_1 \left( \frac{\theta_{i+1,j}^n - 2\theta_{i,j}^n + \theta_{i-1,j}^n}{\Delta x^2} + \frac{\theta_{i,j+1}^n - 2\theta_{i,j}^n + \theta_{i,j-1}^n}{\Delta y^2} \right) + \mathbf{u} \left( \frac{\theta_{i+1,j}^n - \theta_{i-1,j}^n}{2\Delta x}, \frac{\theta_{i,j+1}^n - \theta_{i,j-1}^n}{2\Delta y} \right) \left. \right], \\ \varphi_{i,j}^{n+1} &= \varphi_{i,j}^n + \Delta t \left[ \beta \theta_{i,j}^n \left( 1 - \frac{\varphi_{i,j}^n}{C} \right) \left( 1 + \frac{(\varphi_{i,j}^n)^2}{\varphi_0^2} \right) - \kappa_2 \varphi_{i,j}^n + \right. \\ & D_2 \left( \frac{\varphi_{i+1,j}^n - 2\varphi_{i,j}^n + \varphi_{i-1,j}^n}{\Delta x^2} + \frac{\varphi_{i,j+1}^n - 2\varphi_{i,j}^n + \varphi_{i,j-1}^n}{\Delta y^2} \right) + \mathbf{u} \left( \frac{\varphi_{i+1,j}^n - \varphi_{i-1,j}^n}{2\Delta x}, \frac{\varphi_{i,j+1}^n - \varphi_{i,j-1}^n}{2\Delta y} \right) \left. \right], \\ \psi_{i,j}^{n+1} &= \psi_{i,j}^n + \Delta t \kappa \theta_{i,j}^n. \end{aligned} \tag{4.10}$$

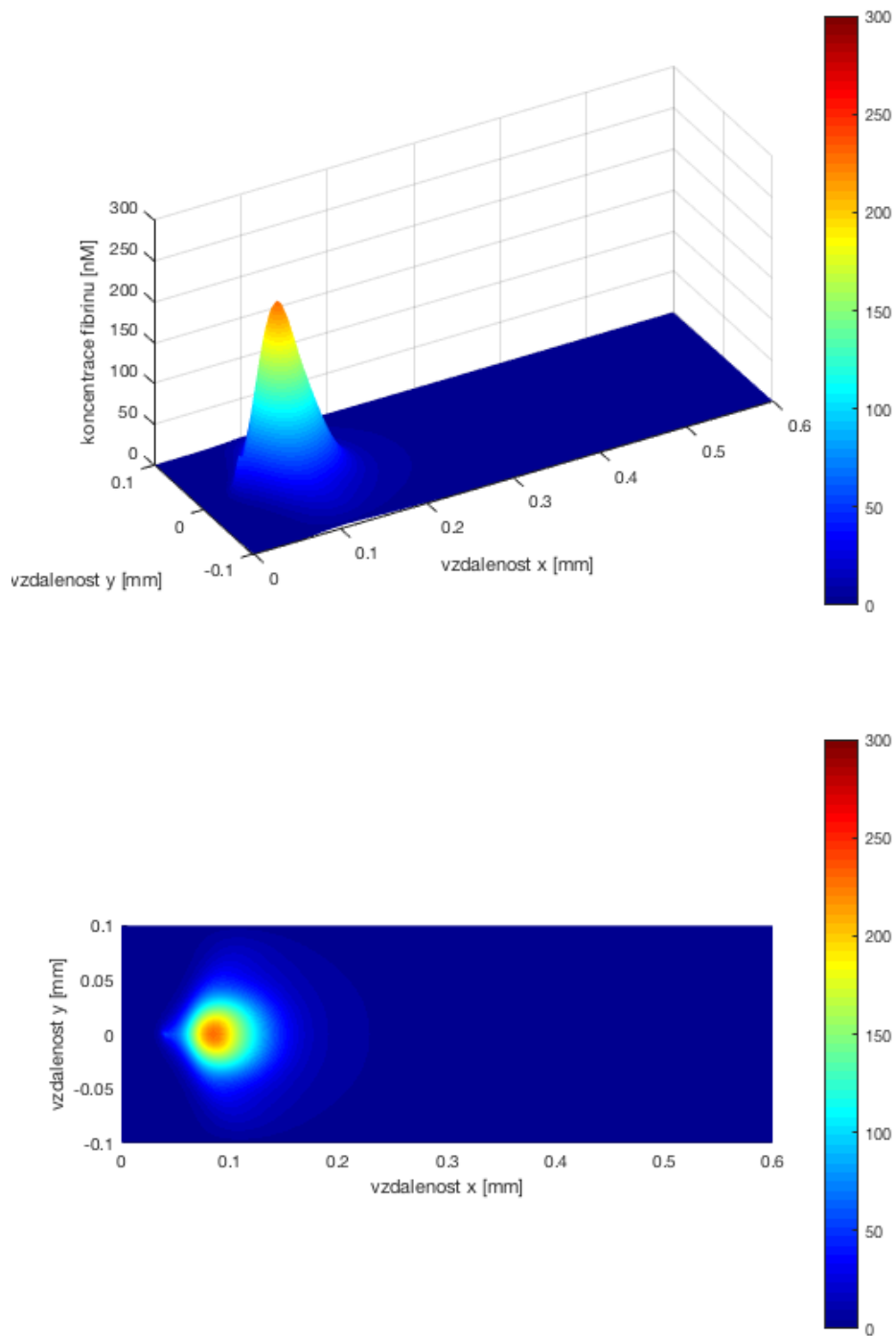
Numerické řešení bylo realizováno v prostředí programu Matlab a vyvinutý program *ceva\_proudeni.m* je součástí přílohy bakalářské práce.

Jak je patrné z obr. 4.7, na výsledném tvaru sraženiny se významně podílí konvektivní člen, který převládá nad difúzním členem. Oproti dřívejším 2D úlohám je vidět, že rozložení koncentrace fibrinu již není symetrické a trombus se šíří převážně po směru toku krve. Nejvyšší koncentrace fibrinu se nenachází v místě aplikace počátečního stimulu [0,04; 0] (na obr. 4.6 znázorněno červenou šipkou), je vlivem konvekce posunuta a navíc disipována. Má tedy nižší koncentraci než v případě bez uvažování proudění krve, viz obr. 4.7, 4.8

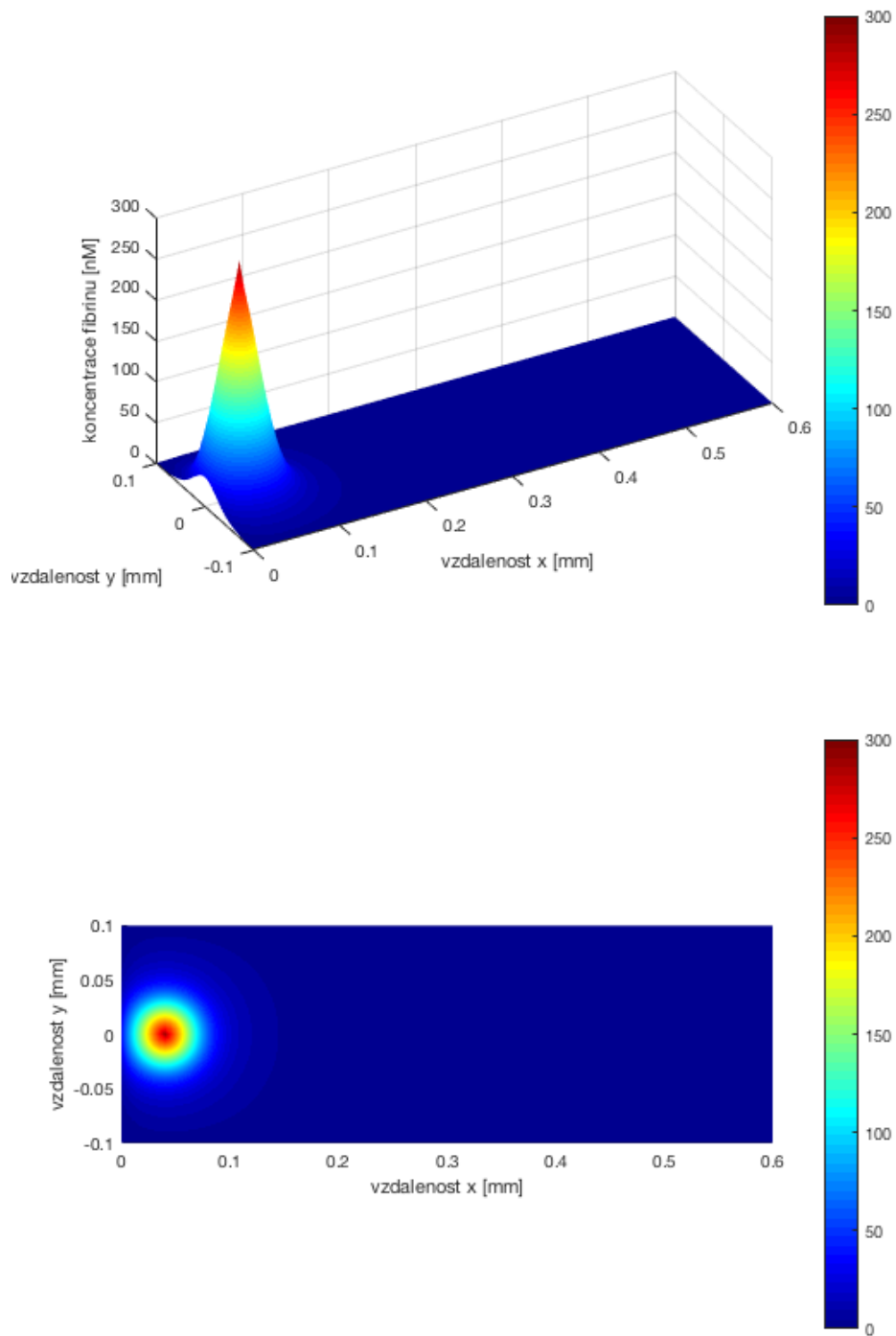


Obr. 4.6: Umístění počátečního stimulu





Obr. 4.7: Výsledná fibrinová sraženina v čase 25 min s uvažováním proudění krve ( $\theta_0 = 3 \text{ nM}$ )



Obr. 4.8: Výsledná fibrinová sraženina v čase 25 min bez uvažování proudění krve ( $\theta_0 = 3 \text{ nM}$ )

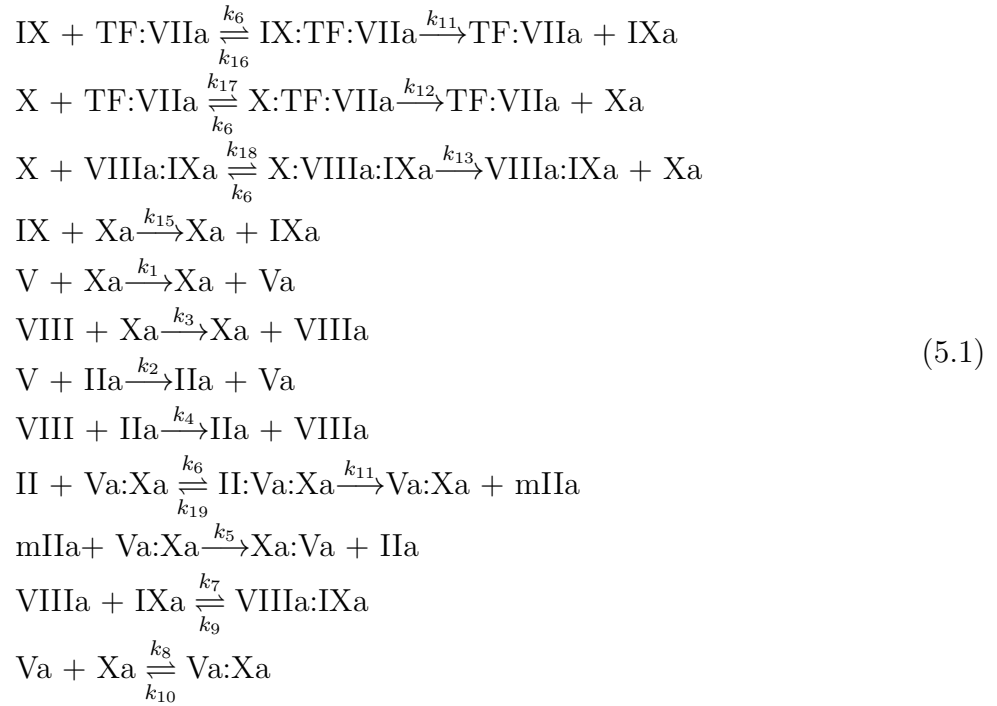
#### 4.4 Další navazující modely

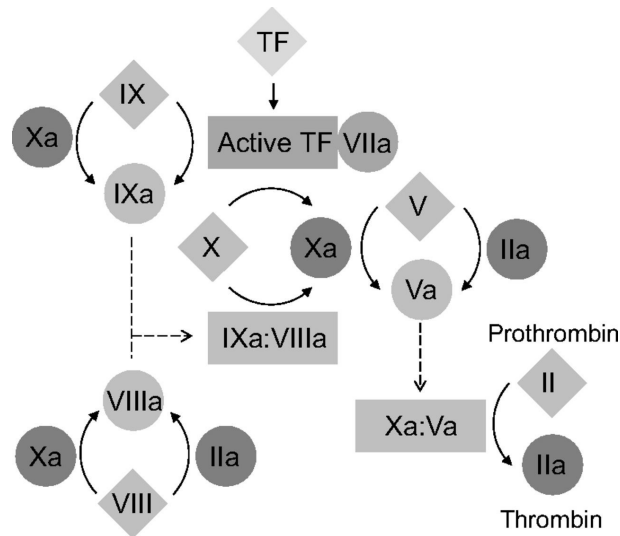
Koagulační model (4.1), resp. (4.7) dále rozšiřuje mnoho dalších autorů. Kromě již uvedené práce [16], můžeme zmínit model prezentovaný v [10], který k původním dvěma rovnicím aktivátoru a inhibitoru přidává podstatně složitější předpis pro tvorbu nerozpustného fibrinu. V jeho rámci rozlišuje jednotlivé fáze v souladu se skutečnými biochemickými procesy, tj. přeměnu od neaktivního fibrinogenu přes nestabilní fibrinové monomery až po nerozpustné fibrinové polymery. S ohledem na celkovou složitost úlohy hemokoagulace je práce [10] věnována především časným fázím tvorby fibrinové sítě, kdy je koncentrace fibrinových polymerů ještě malá. Důvodem k tomuto přístupu je snaha autorů zaznamenat patologické projevy srážení krve co nejdříve.

Poměrně nedávno publikovaný model [21] se zabývá vznikem krevní sraženiny v místech stenózy (zúžení cévy) a popisuje srážení krve v závislosti na průtoku krve a na geometrických charakteristikách aterosklerotického plátu. V modelu je opět složitější matematických popis časového vývoje koncentrace fibrinu. Vznik polymerní sítě z neaktivního fibrinogenu je podobně jako u výše zmíněné studie [10] modelován přes fibrinové monomery a další meziprodukty.

## 5 Model koagulační kaskády

Dalším z modelů popisující vznik a šíření trombu je model publikovaný v roce 2012 [8], který se zabývá vznikem krevní sraženiny v aneurysmatech břišní aorty a oproti modelu analyzovanému v kapitole 4 zohledňuje přítomnost vícero hemokoagulačních faktorů, nejen trombinu. Z pohledu procesu srážení je tento model orientován na popis koagulační kaskády na bázi vnější cesty, viz odstavec 1.4.1. Vzhledem ke složitosti tohoto modelu, který vychází z konvekčně-difúzně-reakční rovnice (3.7) a uvažuje chemické reakce 18 látek, je v této práci řešena pouze soustava ODR. Ta popisuje časový vývoj koncentrací příslušných látek bez uvažování vlivu difúze a konvekce. Základem modelu je princip vnější koagulační kaskády, jejíž schéma je znázorněno na obr. 5.1 a kterou lze popsat následujícími chemickými reakcemi mezi koagulačními faktory [8]



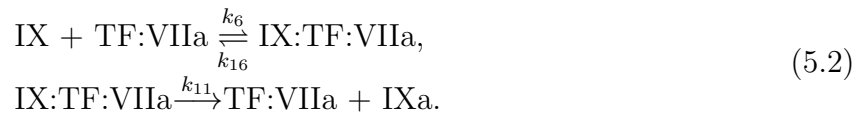


Obr. 5.1: Schéma vnější aktivace kaskády popsané modelem 5.1, převzato z [22]

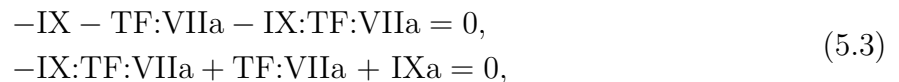
Jak bylo popsáno v odstavci 3.1, lze podstatu chemických reakcí lze přepsat do podoby reakčních rovnic (3.2), které budou vyjadřovat časový vývoj koncentrace jednotlivých látek účastníků se vnější aktivace koagulační kaskády. Jelikož autoři modelu ve své práci [8] uvádějí pouze výslednou podobu stechiometrické matice  $\mathbf{S}$ , která odpovídá chemickým reakcím (5.1), ale nezmiňují již podobu vektoru reakčních rychlostí  $\mathbf{r}$ , bylo nutné tento vektor doodvodit. K tomu byly užity principy reakční kinetiky podrobně popsané v kapitole 2 této práce. Jakým způsobem bylo postupováno, si lze ukázat na příkladu první reakce z (5.1)



Na tuto reakci můžeme pohlížet jako dvě následné reakce, které můžeme analyzovat odděleně, a to jako jednu složitou (vratnou) reakci a druhou jako elementární, tj.



Zapišeme-li je do podoby chemických rovnic tak, jak bylo popsáno v odstavci 2.1,



můžeme na jejich základě získat stechiometrické koeficienty pro první dva sloupce stechiometrické matice, které obě reakce reprezentují. Umístění těchto koeficientů musí korespondovat s pořadím příslušných faktorů a komplexů v rámci vektoru koncentrací  $\mathbf{c}$ .

Zvolíme-li v souladu s prací [8] tento vektor o rozměrech  $18 \times 1$  ve tvaru

$$\mathbf{c} = \begin{bmatrix} c_1 \\ c_2 \\ c_3 \\ c_4 \\ c_5 \\ c_6 \\ c_7 \\ c_8 \\ c_9 \\ c_{10} \\ c_{11} \\ c_{12} \\ c_{13} \\ c_{14} \\ c_{15} \\ c_{16} \\ c_{17} \\ c_{18} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} [\text{IX}] \\ [\text{TF:VIIa}] \\ [\text{IX:TF:VIIa}] \\ [\text{IXa}] \\ [\text{X}] \\ [\text{X:TF:VIIIa}] \\ [\text{Xa}] \\ [\text{VIIIa:IXa}] \\ [\text{X:VIIIa:IXa}] \\ [\text{V}] \\ [\text{Va}] \\ [\text{VIII}] \\ [\text{VIIIa}] \\ [\text{IIa}] \\ [\text{II}] \\ [\text{Va:Xa}] \\ [\text{II:Va:Xa}] \\ [\text{mIIa}] \end{bmatrix},$$

obdržíme z rovnic (5.3) koeficienty pro první čtyři řádky prvního a druhého sloupce matice  $\mathbf{S}$ . Analogickým postupem získáme koeficienty pro zbylé reakce z (5.1), čímž odvodíme

následující stechiometrickou matici o rozměrech  $18 \times 16$

$$\mathbf{S} = \begin{bmatrix}
 -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\
 -1 & 1 & -1 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\
 1 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\
 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & -1 & 0 \\
 0 & 0 & -1 & 0 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\
 0 & 0 & 1 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\
 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & -1 \\
 0 & 0 & 0 & 0 & -1 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 \\
 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\
 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & -1 & 0 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\
 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & -1 \\
 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & -1 & 0 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\
 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & -1 & 0 \\
 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 \\
 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 \\
 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & -1 & 1 & 0 & 0 & 1 \\
 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & -1 & 0 & 0 & 0 \\
 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & -1 & 0 & 0
 \end{bmatrix}.$$

Vektor reakčních rychlostí  $\mathbf{r}$  získáme pomocí vztahů z reakční kinetiky, kdy se budeme řídit především typem a řádem jednotlivých reakcí. Rychlost protisměrné reakce  $(5.2)_1$ , kde přímá reakce odpovídá druhému řádu a ta zpětná prvnímu řádu, můžeme v souladu se vztahem (2.59) určit jako

$$r_1 = k_6[\text{IX}][\text{TF:VIIa}] - k_{16}[\text{IX:TF:VIIa}], \quad (5.4)$$

kde  $r_1$  je první složkou vektoru reakčních rychlostí  $\mathbf{r}$ . Další složku vyplývající z druhé chemické reakce  $(5.2)_2$  stanovíme ze vztahu (2.18) pro reakce prvního řádu

$$r_2 = k_{11}[\text{IX:TF:VIIa}]. \quad (5.5)$$

Obdobným postupem u dalších reakcí z (5.1) získáme zbylé složky vektoru  $\mathbf{r}$ , který bude mít rozměry  $16 \times 1$  a výsledný tvar

$$\mathbf{r} = \begin{bmatrix} r_1 \\ r_2 \\ r_3 \\ r_4 \\ r_5 \\ r_6 \\ r_7 \\ r_8 \\ r_9 \\ r_{10} \\ r_{11} \\ r_{12} \\ r_{13} \\ r_{14} \\ r_{15} \\ r_{16} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} k_6[\text{IX}][\text{TF:VIIa}] - k_{16}[\text{IX:TF:VIIa}] \\ k_{11}[\text{IX:TF:VIIa}] \\ k_6[\text{X}][\text{TF:VIIa}] - k_{17}[\text{X:TF:VIIa}] \\ k_{12}[\text{X:TF:VIIa}] \\ k_6[\text{X}][\text{VIIIa:IXa}] - k_{18}[\text{X:VIIIa:IX:a}] \\ k_{13}[\text{X:VIIIa:IXa}] \\ k_{15}[\text{IX}][\text{Xa}] \\ k_1[\text{V}][\text{Xa}] \\ k_3[\text{VIII}][\text{Xa}] \\ k_2[\text{V}][\text{IIa}] \\ k_4[\text{VIII}][\text{IIa}] \\ k_6[\text{II}][\text{Va:Xa}] - k_{19}[\text{II:Va:Xa}] \\ k_{14}[\text{II:Va:Xa}] \\ k_5[\text{mIIa}][\text{Va:Xa}] \\ k_7[\text{VIIIa}][\text{IXa}] - k_9[\text{VIIIa:IXa}] \\ k_8[\text{Va}][\text{Xa}] - k_{10}[\text{Va:Xa}] \end{bmatrix}.$$

Rozepíšeme-li soustavu ODR (3.2) s odvozenou stechiometrickou maticí a vektorem reakčních rychlostí pro koncentrace jednotlivých faktorů a komplexů, dostaneme následující



matematický model

$$\begin{aligned}
\frac{d}{dt}[\text{IX}] &= k_{16}[\text{IX:TF:VIIa}] - k_{15}[\text{IX}][\text{Xa}] - k_6[\text{IX}][\text{TF:VIIa}], \\
\frac{d}{dt}[\text{TF:VIIa}] &= k_{11}[\text{IX:TF:VIIa}] - k_6[\text{TF:VIIa}][\text{IX}] + k_{16}[\text{IX:TF:VIIa}] \\
&\quad + k_{17}[\text{X:TF:VIIa}] + k_{12}[\text{IX:TF:VIIa}] - k_6[\text{X}][\text{TF:VIIa}], \\
\frac{d}{dt}[\text{IX:TF:VIIa}] &= k_6[\text{IX}][\text{TF:VIIa}] - k_{16}[\text{IX:TF:VIIa}] - k_{11}[\text{IX:TF:VIIa}], \\
\frac{d}{dt}[\text{IXa}] &= k_{11}[\text{IX:TF:VIIa}] + k_{15}[\text{IX}][\text{Xa}] - k_7[\text{VIIIa}][\text{IXa}] + k_9[\text{VIIIa:IXa}], \\
\frac{d}{dt}[\text{X}] &= k_{17}[\text{X:TF:VIIa}] - k_6[\text{X}][\text{VIIIa:IXa}] + k_{18}[\text{X:VIIIa:IXa}] - k_6[\text{X}][\text{TF:VIIa}], \\
\frac{d}{dt}[\text{X:TF:VIIa}] &= k_6[\text{X}][\text{TF:VIIa}] - k_{17}[\text{X:TF:VIIa}] - k_{12}[\text{X:TF:VIIa}], \\
\frac{d}{dt}[\text{Xa}] &= k_{12}[\text{X:TF:VIIa}] + k_{13}[\text{X:VIIIa:IXa}] + k_{10}[\text{Va:Xa}] - k_8[\text{Va}][\text{Xa}], \\
\frac{d}{dt}[\text{VIIIa:IXa}] &= k_{13}[\text{X:VIIIa:IXa}] - k_6[\text{X}][\text{VIIIa:IXa}] - k_{18}[\text{X:VIIIa:IXa}] \\
&\quad + k_7[\text{VIIIa}][\text{IXa}] - k_9[\text{VIIIa:IXa}], \\
\frac{d}{dt}[\text{X:VIIIa:IXa}] &= k_6[\text{X}][\text{VIIIa:IXa}] - k_{18}[\text{X:VIIIa:IXa}] - k_{13}[\text{X:VIIIa:IXa}], \\
\frac{d}{dt}[\text{V}] &= -k_1[\text{V}][\text{Xa}] - k_2[\text{V}][\text{IIa}], \\
\frac{d}{dt}[\text{Va}] &= k_1[\text{V}][\text{Xa}] + k_2[\text{V}][\text{IIa}] + k_{10}[\text{Va:Xa}] - k_8[\text{Va}][\text{Xa}], \\
\frac{d}{dt}[\text{VIII}] &= -k_3[\text{VIII}][\text{Xa}] - k_4[\text{VIII}][\text{IIa}], \\
\frac{d}{dt}[\text{VIIIa}] &= k_3[\text{VIII}][\text{Xa}] + k_4[\text{VIII}][\text{IIa}] - k_7[\text{VIIIa}][\text{IXa}] + k_9[\text{VIIIa:IXa}], \\
\frac{d}{dt}[\text{IIa}] &= k_5[\text{Va:Xa}][\text{mIIa}], \\
\frac{d}{dt}[\text{II}] &= -k_6[\text{II}][\text{Va:Xa}] + k_{19}[\text{II:Va:Xa}] \\
\frac{d}{dt}[\text{Va:Xa}] &= k_{19}[\text{II:Va:Xa}] - k_6[\text{II}][\text{Va:Xa}] + k_{14}[\text{II:Va:Xa}] + k_8[\text{Va}][\text{Xa}] - k_{10}[\text{Va:Xa}], \\
\frac{d}{dt}[\text{II:Va:Xa}] &= k_6[\text{II}][\text{Va:Xa}] - k_{19}[\text{II:Va:Xa}] - k_{14}[\text{II:Va:Xa}], \\
\frac{d}{dt}[\text{mIIa}] &= k_{14}[\text{II:Va:Xa}] - k_5[\text{mIIa}][\text{Va:Xa}].
\end{aligned}$$

(5.6)

## 5.1 Numerické řešení soustavy ODR

Jelikož klasický zápis soustavy (5.6) je pro programové zpracování značně nevhodný, je z důvodu lepší přehlednosti zvolen zápis pomocí stechiometrické matice  $\mathbf{S}$  a vektoru reakčních rychlostí  $\mathbf{r}$ . Pro získání řešení matematického modelu (3.2) budeme podobně jako dříve používat metodu konečných diferencí. Časovou derivaci vektoru koncentrací lze aproximovat pomocí Eulerovy explicitní metody s prvním řádem přesnosti v čase

$$\frac{d\mathbf{c}}{dt} \approx \frac{\mathbf{c}^{n+1} - \mathbf{c}^n}{\Delta t}, \quad (5.7)$$

kde  $\Delta t = 0,008$  s je velikost časového kroku, horní index  $n$ , popř.  $n + 1$  vektoru koncentrace  $\mathbf{c}$  představuje hodnotu této koncentrace v časové hladině  $n$ , popř.  $n + 1$ . Diskrétní model pak bude mít následující podobu

$$\mathbf{c}^{n+1} = \mathbf{c}^n + \Delta t \cdot \mathbf{S}\mathbf{r}(\mathbf{c}^n). \quad (5.8)$$

Numerické řešení bylo realizováno v prostředí programu Matlab a příslušný program *cc\_model.m* je součástí přílohy bakalářské práce.

Počáteční koncentrace jednotlivých faktorů a komplexů a hodnoty rychlostních konstant příslušných reakcí, které byly užity pro numerickou simulaci koagulační kaskády v této práci, jsou převzaty z původního článku [8] a shrnuty v tab. 5.1 a 5.2.

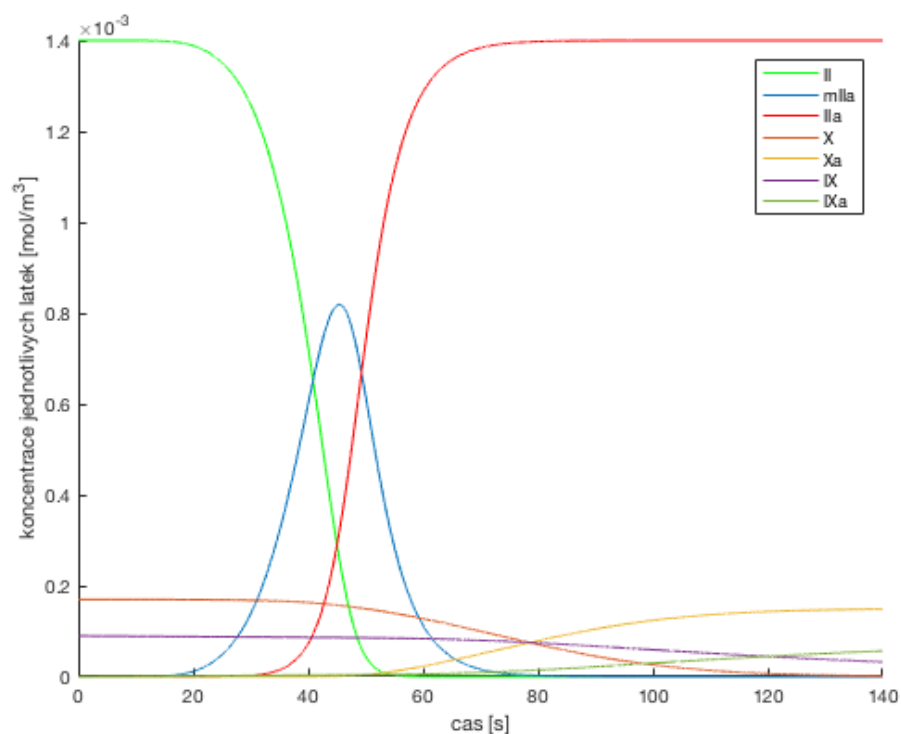
Tabulka 5.1: Počáteční koncentrace jednotlivých látek účastníků se koagulační kaskády [8]

látky účastníci se koagulační kaskády	počáteční koncentrace [mol m <sup>-3</sup> ]
[IX]	$90 \times 10^{-6}$
[TF:VIIa]	$1 \times 10^{-6}$
[IX:TF:VIIa]	0
[IXa]	0
[X]	$170 \times 10^{-6}$
[X:TF:VIIIa]	0
[Xa]	0
[VIIIa:IXa]	0
[X:VIIIa:IXa]	0
[V]	$20 \times 10^{-6}$
[Va]	0
[VIII]	$0,7 \times 10^{-6}$
[VIIIa]	$100 \times 10^{-9}$
[IIa]	0
[II]	$1,4 \times 10^{-3}$
[Xa:Va]	0
[II:Va:Xa]	0
[mIIa]	0

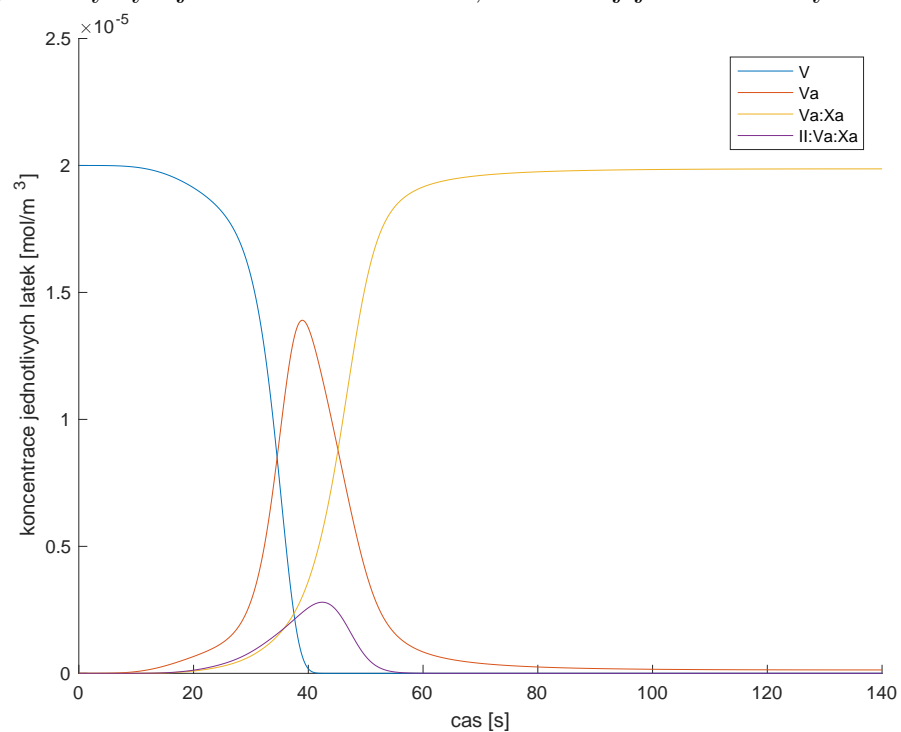
Tabulka 5.2: Rychlostní konstanty jednotlivých reakcí modelu koagulační kaskády [8]

rychlostní konstanta	hodnota	jednotky
$k_1$	$2 \times 10^4$	$[\text{mol}^{-1} \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}]$
$k_2$	$2 \times 10^4$	$[\text{mol}^{-1} \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}]$
$k_3$	$1 \times 10^4$	$[\text{mol}^{-1} \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}]$
$k_4$	$2 \times 10^4$	$[\text{mol}^{-1} \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}]$
$k_5$	$1 \times 10^4$	$[\text{mol}^{-1} \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}]$
$k_6$	$1 \times 10^5$	$[\text{mol}^{-1} \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}]$
$k_7$	$1 \times 10^4$	$[\text{mol}^{-1} \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}]$
$k_8$	$4 \times 10^5$	$[\text{mol}^{-1} \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}]$
$k_9$	0,005	$[\text{s}^{-1}]$
$k_{10}$	0,4	$[\text{s}^{-1}]$
$k_{11}$	0,3	$[\text{s}^{-1}]$
$k_{12}$	1,15	$[\text{s}^{-1}]$
$k_{13}$	8,2	$[\text{s}^{-1}]$
$k_{14}$	32	$[\text{s}^{-1}]$
$k_{15}$	$1 \times 10^2$	$[\text{mol}^{-1} \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}]$
$k_{16}$	24	$[\text{s}^{-1}]$
$k_{17}$	44	$[\text{s}^{-1}]$
$k_{18}$	0,001	$[\text{s}^{-1}]$
$k_{19}$	70	$[\text{s}^{-1}]$

Výsledek numerického řešení soustavy ODR (5.6) je znázorněn na obr. 5.2 znázorňující časový vývoj koncentrace jednotlivých faktorů a komplexů. Jak je patrné z grafu na obr. (5.2a), koncentrace trombinu (faktor IIa) se vyvíjí z protrombinu (faktor II) za vzniku meziprojektu – meizotrombinu (mIIa). Celá tato přeměna v trombin je charakterizována třemi fázemi [8]: časovou prodlevou (time-lag), prudkým nárůstem (accelerated) a stabilizací (plateau). Nejprve je rychlost přírůstku pomalá, pak v určité fázi překoná hraniční koncentraci a náhle prudce vzroste. Nakonec se koncentrace trombinu ustálí na stejné hodnotě, jako byla počáteční koncentrace jeho neaktivní formy (faktoru II). To znamená, že veškeré množství protrombinu bylo přeměněno na svoji aktivní formu. U dalších faktorů, jež jsou během koagulační kaskády součástí komplexů, je časový vývoj podstatněji složitější, viz obr. 5.2b, 5.2c. Koresponduje však se schématem na obr. 5.1, kde faktory aktivované v pozdějších fázích koagulační kaskády začnou působit zpětně na své aktivátory, tj. spustí se pozitivní zpětná vazba. Jako příklad lze uvést trombin (IIa), který se po svém vytvoření začne podílet na aktivaci faktorů V a VIII.

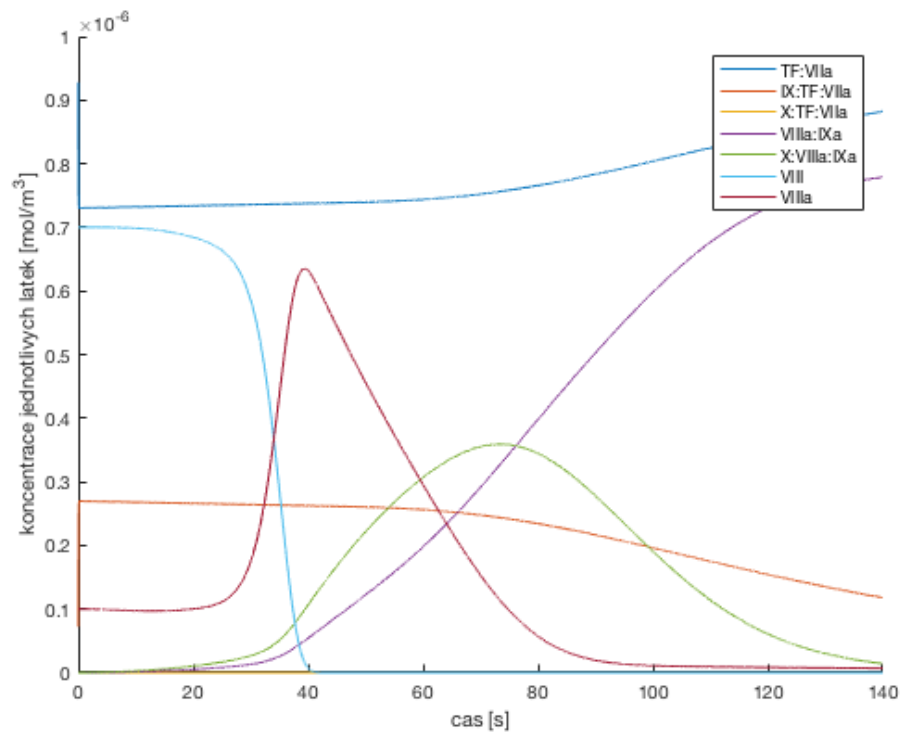


(a) Časový vývoj koncentrací faktorů II, IX a X a jejich aktivovaných forem



(b) Časový vývoj koncentrací faktor V a jeho aktivované formy a příslušných komplexů

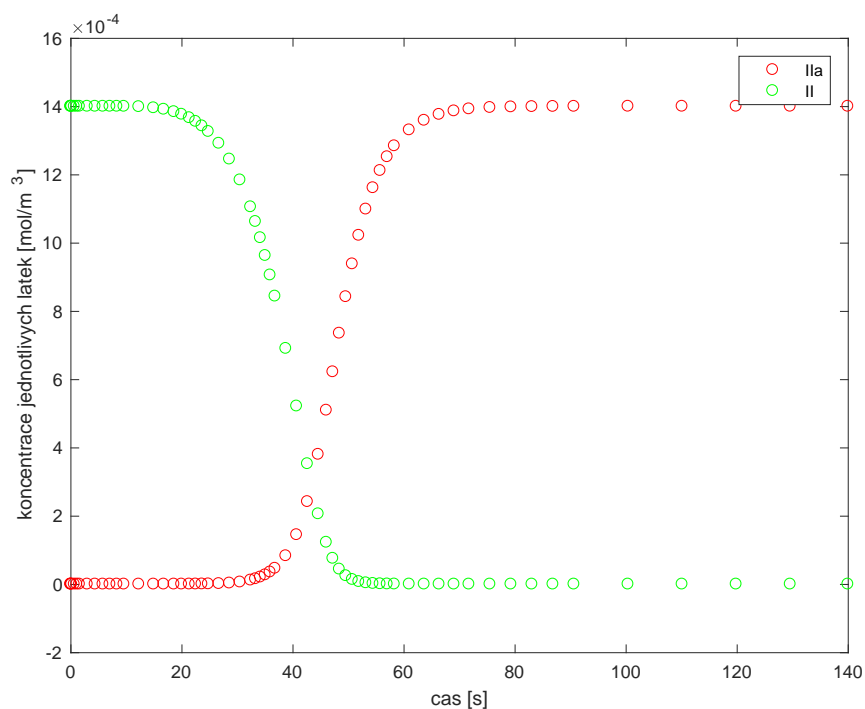
Obr. 5.2: Časová závislost koagulačních faktorů účastnící se vnější aktivace koagulační kaskády



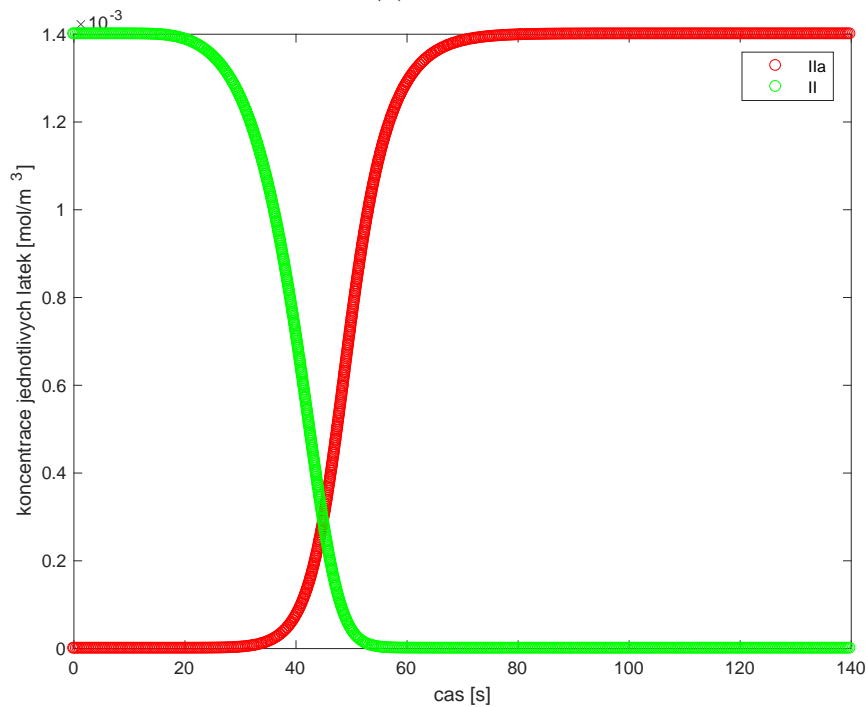
(c) Časový vývoj koncentrací faktor VIII a jeho aktivované formy a příslušných komplexů

Obr. 5.2: (Pokračování z předchozí strany)

Je třeba poznamenat, že rychlosti jednotlivých chemických reakcí se řádově velmi liší, viz rychlostní koeficienty v tab. 5.2. Některé fáze koagulační kaskády probíhají velmi rychle, jiné naopak pomalu. Proto bylo nutné z důvodu stability numerického řešení volit velmi malý časový krok tak, aby nedocházelo k jeho divergenci. Tímto chováním se vyznačují tzv. *stiff* diferenciální rovnice. Pro ověření správnosti realizovaného numerického řešení získaného Eulerovou metodou byla soustava ODR (5.6) rovněž řešena pomocí řešiče ode15s implementovaného v prostředí softwaru Matlab. Srovnání výsledků pro časový vývoj protrombinu (II) a trombinu (IIa) tak, jak byly spočteny oběma algoritmy, je znázorněno na obr. 5.3. V případě řešiče ode15s je velice dobře patrný větší časový krok, který byl potřebný k získání požadovaného řešení.



(a) ode15s



(b) Eulerova explicitní metoda

Obr. 5.3: Srovnání výsledků a časových kroků u řešiče ode15s a Eulerovy metody

## Závěr

V teoretické části předložené bakalářské práce byl nastíněn biologický princip zástavy krvácení, jehož pochopení je důležité pro matematické modely zabývající se zástavou krvácení. Dále byly důkladně popsány dva nejdůležitější biologické modely srážení krve, zabývající se popisem procesu srážení krve v lidském organismu. Dále zde byly podrobněji popsány dva v současnosti nejznámější biologické modely hemokoagulace, na jejichž principech je většina těchto matematických založena.

V druhé kapitole byly popsány principy reakční kinetiky, která se zabývá změnami koncentrace chemických látek účastnící se reakce nebo rychlostí průběhu chemických reakcí a pomocí níž lze přeměnu látek matematicky vyjádřit soustavou obyčejných diferenciálních rovnic.

Obsah třetí kapitoly shrnoval výsledky provedené rešerše prací, které se zaměřují na matematické modelování vzniku krevních sraženin na různých úrovních. Obecně byly tyto modely rozděleny do dvou hlavních skupin: na modely popsané obyčejnými diferenciálními rovnicemi (ODR) a modely, které vycházejí z parciálních diferenciálních rovnic (PDR). Pro lepší představu zde byly rovněž uvedeny příklady modelů z obou skupin.

Ve čtvrté kapitole je podrobně rozebrán základní matematický model ze skupiny PDR, který popisuje chemickou interakci mezi hlavním aktivátorem srážení krve (trombinem) a jeho inhibitorem (proteinem C) při uvažování difúze obou látek do prostoru. Pro 1D případ, jenž představuje nepropustnou cévu, je analyzována síla počátečního stimulu a doba jeho působení na výslednou podobu krevní sraženiny. Obě veličiny se ukázaly být zásadní, neboť nedostatečně silný stimul nevedl k výraznější chemické reakci a hustota a rozsah výsledného trombu byly zanedbatelné. Ve 2D úloze bylo naším cílem posoudit vliv prahového parametru modelu na výsledný charakter krevní sraženiny. Na základě numerických výsledků se nám podařilo ověřit existenci tzv. chemických autovln pozorovaných při experimentech in-vitro v Petriho misce. V neposlední řadě byl do modelu hemokoagulace začleněn konvektivní člen, který reprezentoval působení protékající krve na časový vývoj koncentrace příslušných látek. V rámci získaných výsledků bylo možné pozorovat změny ve tvaru krevní sraženiny. Konkrétně v důsledku nenulového rychlostního pole docházelo k výraznějšímu rozprostření trombu po směru toku krve, přičemž v důsledku této disipace nedosahovala koncentrace fibrinu takové výše jako v případě bez konvekce. Všechny numerické simulace byly realizovány vlastními programy v prostředí softwaru Matlab.

Pátá kapitola byla věnována složitějšímu modelu hemokoagulace, který svou podstatou více koresponduje s biochemickými mechanismy tohoto procesu v podmínkách in-vivo. Tento model byl podrobně odvozen na základě chemických reakcí reprezentujících vnější aktivaci koagulační kaskády a numericky řešen v softwaru Matlab. Ze získaných výsledků bylo možné analyzovat časový vývoj koncentrace konkrétních hemokoagulačních faktorů a jejich komplexů. Bylo ověřeno, že nejvýznamější koagulační faktor – trombin – vzniká

s jistým časovým zpožděním ze své neaktivní formy – protrombinu – za vzniku specifického meziproduktu. Tak, jak byl model srážení krve navržen, zajišťoval přeměnu veškerého protrombinu na jeho aktivní formu, přičemž vznik fibrinových monomerů, popř. polymerů nebyl uvažován.

Na problematiku matematického modelování srážení krve je možno v budoucnu navázat např. uvažováním složitějšího předpisu pro tvorbu fibrinu tak, jak bylo naznačeno v odstavci 4.4. Další možností, jak zde popsaný model vnější aktivace koagulační kaskády (5.6) dále rozšířit, je zohlednit vliv difúze a konvekce, tj. místo soustavy ODR řešit soustavu PDR založenou na obecné rovnici (3.7).



## Použitá literatura

- [1] Platelets and primary haemostasis. *Thrombosis Research*, 129(3):220 – 224, 2012.
- [2] Stefan Silbernagl a Agamemnon Despopoulos. *Atlas fyziologie člověka*. Grada, Praha, 2004.
- [3] Prof. Ing. Anatol Malijevský CSc a kol. *Breviář z fyzikální chemie II*. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 1997.
- [4] Prof. Ing. Josef P. Novák CSc a kol. *Fyzikální chemie II*. 2001.
- [5] FI Ataulakhanov, GT Guria, and AIu Safroshkina. Spatial aspects of the dynamics of blood coagulation. ii. phenomenological model. *Biofizika*, 39(1):97—106, 1994.
- [6] F.I. Ataulakhanov, G.T. Guria, V.I. Sarbash, and R.I. Volkova. Spatiotemporal dynamics of clotting and pattern formation in human blood. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1425(3):453 – 468, 1998.
- [7] Anand Bhaskar, Sukesh Nair, and Thomas TA. Cell based model of haemostasis. 14:53–58, 04 2016.
- [8] Jacopo Biasetti, Pier Giorgio Spazzini, Jesper Swedenborg, and Thomas Gasser. An integrated fluid-chemical model toward modeling the formation of intra-luminal thrombus in abdominal aortic aneurysms. *Frontiers in Physiology*, 3:266, 2012.
- [9] Antonio Fasano and Adelia Sequeira. *Hemomath: The Mathematics of Blood*. Springer International Publishing, 2017.
- [10] G. T. Guria, M. A. Herrero, and K. E. Zlobina. Ultrasound detection of externally induced microthrombi cloud formation: a theoretical study. *Journal of Engineering Mathematics*, 66(1):293–310, Mar 2010.
- [11] MF Hockin, KC Jones, SJ Everse, and KG Mann. A model for the stoichiometric regulation of blood coagulation. *Journal of Biological Chemistry*, 277(21):18322–18333, MAY 24 2002.
- [12] KC Jones and KG Mann. A model for the tissue factor pathway to thrombin. 2. a mathematical simulation. *Journal of Biological Chemistry*, 269(37):23367–23373, SEP 16 1994.
- [13] Otomar Kittnar. *Lékařská fyziologie*. Grada, Praha, 2011.
- [14] Sumner N. Levine. Enzyme amplifier kinetics. *Science*, 152(3722):651–653, 1966.

- [15] Bernard B.C. Lim, Eric H. Lee, Marcos Sotomayor, and Klaus Schulten. Molecular basis of fibrin clot elasticity. *Structure*, 16(3):449 – 459, 2008.
- [16] A. I. Lobanov and T. K. Starozhilova. The effect of convective flows on blood coagulation processes. *Pathophysiology of haemostasis and thrombosis*, 34 2-3:121–34, 2005.
- [17] Maureen McMichael. New models of hemostasis. *Topics in Companion Animal Medicine*, 27(2):40 – 45, 2012. Selected Coagulation Diagnostics and Disorders.
- [18] Gilead Moiseyev, Sefi Givli, and Pinhas Z. Bar-Yoseph. Fibrin polymerization in blood coagulation—a statistical model. *Journal of Biomechanics*, 46(1):26 – 30, 2013.
- [19] Daisuke Mori, Koichiro Yano, Ken ichi Tsubota, Takuji Ishikawa, Shigeo Wada, and Takami Yamaguchi. Computational study on effect of red blood cells on primary thrombus formation. *Thrombosis Research*, 123(1):114 – 121, 2008.
- [20] Stefan Offermanns. Activation of platelet function through g protein–coupled receptors. *Circulation Research*, 99(12):1293–1304, 2006.
- [21] Oleksii S. Rukhlenko, Olga A. Dudchenko, Ksenia E. Zlobina, and Georgy Th. Guria. Mathematical modeling of intravascular blood coagulation under wall shear stress. *PLOS One*, 10(7):1–16, 07 2015.
- [22] Jung Hee Seo, Thura Abd, Richard T. George, and Rajat Mittal. A coupled chemo-fluidic computational model for thrombogenesis in infarcted left ventricles. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 310(11):H1567–H1582, 2016. PMID: 27016582.