

УДК: 577.3

Актуальные проблемы компьютерного моделирования тромбоза, фибринолиза и тромболизиса

М. А. Пантелеев^{1,2,3,a}, Е. С. Бершадский^{1,4}, А. М. Шибeko^{1,3},
Д. Ю. Нечипуренко^{1,2,3}

¹Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН,
Россия, 109029, г. Москва, ул. Средняя Калитниковская, д. 30

²Физический факультет Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова,
Россия, 119991, г. Москва, Ленинские Горы, д. 1, корп. 2

³Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии
им. Д. Рогачева,

Россия, 117997, г. Москва, ул. Саморы Машела, д. 1

⁴Институт биохимической физики им. Н. М. Эмануэля Российской академии наук (ИБХФ РАН),
Россия, 119334, г. Москва, ул. Косыгина, д. 4

E-mail: ^a mapanteleev@yandex.ru

Получено 02.12.2023, после доработки — 20.05.2024.

Принято к публикации 28.05.2024.

Система гемостаза представляет собой одну из ключевых защитных систем организма, которая присутствует практически во всех его жидких тканях, но наиболее важна в крови. Она активируется при различных повреждениях стенки сосуда, и взаимодействие ее специализированных клеток и гуморальных систем приводит сначала к формированию гемостатического сгустка, останавливающего потерю крови, а затем к постепенному растворению этого сгустка. Образование гемостатического тромба — уникальный с точки зрения физиологии процесс, так как за время порядка минуты система гемостаза образует сложные структуры, имеющие пространственный масштаб от микрометров (в случае повреждения микрососудов или стыков между отдельными эндотелиальными клетками) до сантиметра (в случае повреждения крупных магистральных артерий). Гемостатический ответ зависит от множества скоординированных и параллельно идущих процессов, включающих адгезию тромбоцитов, их активацию, агрегацию, секрецию различных гранул, изменение формы, состава внешней части липидного бислоя, контракцию тромба и образование фибриновой сети в результате работы каскада свертывания крови. Компьютерное моделирование представляет собой мощный инструмент для исследования этой сложной системы и решения практических задач в этой области на разных уровнях организации: от внутриклеточной сигнализации в тромбоцитах, моделирования гуморальных систем свертывания крови и фибринолиза и до разработки многомасштабных моделей тромбообразования. Проблемы, связанные с компьютерным моделированием биологических процессов, можно разделить на две основные категории: отсутствие адекватного физико-математического описания имеющихся в литературе экспериментальных данных из-за сложности биологических систем (проблема отсутствия адекватной теоретической модели биологических процессов) и проблема высокой вычислительной сложности некоторых моделей, которая не позволяет применять их для исследования физиологически интересных сценариев. Здесь мы рассмотрим как некоторые принципиальные проблемы в области моделирования свертывания крови, которые до сих пор остаются нерешенными, так и прогресс в экспериментальных исследованиях гемостаза и тромбоза, ведущий к пересмотру многих ранее принятых представлений, что необходимо отразить в новых компьютерных моделях этих процессов. Особое внимание будет уделено нюансам артериального, венозного и микрососудистого тромбоза, а также проблемам фибринолиза и тромболизиса. В обзоре также кратко обсуждаются основные типы используемых математических моделей, их сложность с точки зрения вычислений, а также принципиальные вопросы, связанные с возможностью описания процессов тромбообразования в артериях.

Ключевые слова: гемостаз, тромбоз, компьютерное моделирование, фибринолиз, тромболизис, тромбоциты, тромбин, каскад свертывания

Работа поддержана грантом РФ 23-44-00082.

© 2024 Михаил Александрович Пантелеев, Ефим Сергеевич Бершадский, Алексей Михайлович Шибeko, Дмитрий Юрьевич Нечипуренко

Статья доступна по лицензии Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Unported License.
Чтобы получить текст лицензии, посетите веб-сайт <http://creativecommons.org/licenses/by-nd/3.0/>
или отправьте письмо в Creative Commons, PO Box 1866, Mountain View, CA 94042, USA.

UDC: 577.3

Current issues in computational modeling of thrombosis, fibrinolysis, and thrombolysis

M. A. Pantelev^{1,2,3,a}, E. S. Bershadsky^{1,4}, A. M. Shibeko^{1,3},
D. Yu. Nechipurenko^{1,2,3}

¹Center for Theoretical Problems of Physico-chemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences,
30 Srednyaya Kalitnikovskaya st., Moscow, 109029, Russia

²Faculty of Physics, Lomonosov Moscow State University,
1/2 Leninskiye Gory, Moscow, 119991, Russia

³Dmitry Rogachev National Medical Research Centre of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology,
1 Samory Mashela st., Moscow, 117997, Russia

⁴N. M. Emanuel Institute of Biochemical Physics of Russian Academy of Sciences,
4 Kosygina st., Moscow, 119334, Russia

E-mail: ^a mapantelev@yandex.ru

Received 02.12.2023, after completion — 20.05.2024.

Accepted for publication 28.05.2024.

Hemostasis system is one of the key body's defense systems, which is presented in all the liquid tissues and especially important in blood. Hemostatic response is triggered as a result of the vessel injury. The interaction between specialized cells and humoral systems leads to the formation of the initial hemostatic clot, which stops bleeding. After that the slow process of clot dissolution occurs. The formation of hemostatic plug is a unique physiological process, because during several minutes the hemostatic system generates complex structures on a scale ranging from microns for microvessel injury or damaged endothelial cell-cell contacts, to centimeters for damaged systemic arteries. Hemostatic response depends on the numerous coordinated processes, which include platelet adhesion and aggregation, granule secretion, platelet shape change, modification of the chemical composition of the lipid bilayer, clot contraction, and formation of the fibrin mesh due to activation of blood coagulation cascade. Computer modeling is a powerful tool, which is used to study this complex system at different levels of organization. This includes study of intracellular signaling in platelets, modelling humoral systems of blood coagulation and fibrinolysis, and development of the multiscale models of thrombus growth. There are two key issues of the computer modeling in biology: absence of the adequate physico-mathematical description of the existing experimental data due to the complexity of the biological processes, and high computational complexity of the models, which doesn't allow to use them to test physiologically relevant scenarios. Here we discuss some key unresolved problems in the field, as well as the current progress in experimental research of hemostasis and thrombosis. New findings lead to reevaluation of the existing concepts and development of the novel computer models. We focus on the arterial thrombosis, venous thrombosis, thrombosis in microcirculation and the problems of fibrinolysis and thrombolysis. We also briefly discuss basic types of the existing mathematical models, their computational complexity, and principal issues in simulation of thrombus growth in arteries.

Keywords: hemostasis, thrombosis, computational modeling, fibrinolysis, thrombolysis, platelets, thrombin, coagulation cascade

Citation: *Computer Research and Modeling*, 2024, vol. 16, no. 4, pp. 975–995 (Russian).

This work was supported by Russian Science Foundation grant 23-44-00082.

Введение

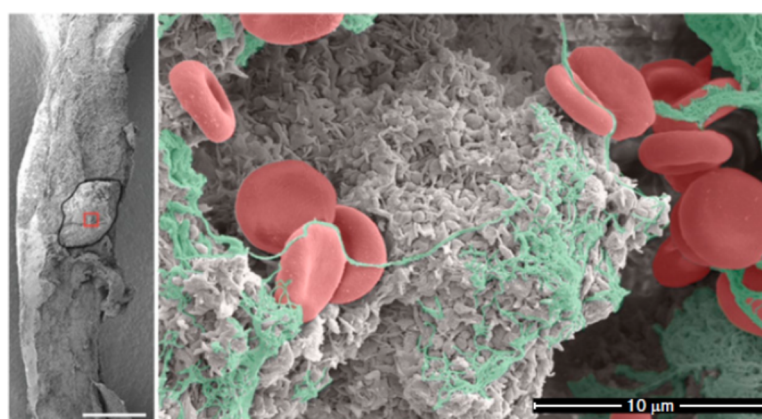
Система гемостаза представляет собой одну из жизненно необходимых защитных систем многоклеточных организмов. Она отвечает за остановку кровотечений при ранениях, а также активно вовлечена в управление проницаемостью сосудистой стенки, ангиогенез, регенерацию повреждений и защиту от патогенов [Kaiser, Escaig, Nicolai, 2023]. С другой стороны, нарушения системы гемостаза играют центральную роль в патофизиологии многочисленных заболеваний и состояний, включая инфаркты, инсульты, сепсис, травмы, онкологические заболевания и многие другие. Система гемостаза включает в себя несколько ключевых звеньев: тромбоциты (или клеточное звено), свертывание крови и фибринолиз (плазменное звено). Несмотря на то что система гемостаза в первую очередь важна для крови, многие компоненты этой системы присутствуют практически во всех биологических жидкостях человека — от слез и лимфы до спинномозговой жидкости, за исключением разве что желудочного сока.

Несмотря на десятилетия исследований, современные научные представления не позволяют дать на ответы на многие важные вопросы, связанные с пространственно-временной динамикой гемостатического ответа в норме и при многочисленных патологиях. Высокая сложность системы гемостаза сделала применение математических моделей важным инструментом для ее исследования, начиная с пионерских работ 1960-х годов [Levine, 1966]. Так как подавляющее большинство соответствующих математических моделей являются крайне сложными с точки зрения возможности получения аналитических решений, в данном обзоре мы будем применять термин «компьютерные модели», подразумевая при этом широкий класс математических моделей, которые анализируются при помощи численных методов на компьютерах. В настоящее время для решения разнообразных задач в данной области применяются разнообразные компьютерные модели, основная функция которых состоит в прояснении представлений, исследовании различных гипотез и генерировании новых идей о ключевых механизмах соответствующих процессов. Некоторые из фундаментальных и прикладных аспектов моделирования гемостаза освещены в недавних обзорах [Nechipurenko et al., 2020; Panteleev et al., 2007; Shibeko, Panteleev, 2016; Sveshnikova et al., 2016; Gutierrez, Mukherjee, Bark, 2023; Anand, Panteleev, Ataullakhanov, 2022; Belyaev et al., 2018]. По причине существования этих работ мы в настоящем обзоре не будем стремиться к детальному историческому или систематическому описанию предыдущих моделей, а сосредоточимся на проблемных аспектах в области. С одной стороны, какие-то из вопросов моделирования за десятилетия работы так и не были разрешены. С другой стороны, из-за быстрого развития экспериментальных подходов и появления новых данных модели достаточно быстро теряют свою актуальность или же требуют существенного пересмотра, развития и уточнения. Цель данного обзора — отразить наиболее значимые и актуальные проблемы в моделировании процессов, связанных со свертыванием крови и лизисом сгустков.

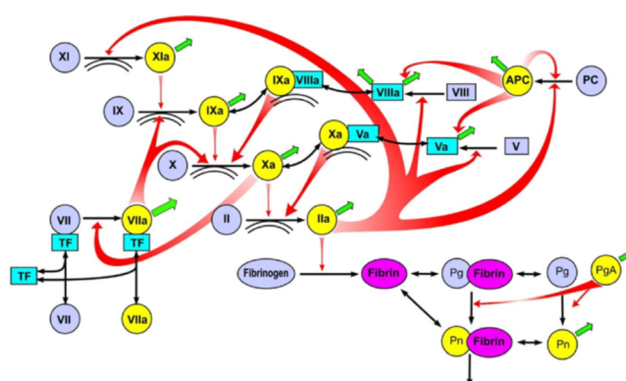
В начале обзора дается краткое общее описание устройства системы гемостаза, после чего рассматриваются основные сценарии тромбоза и гемостаза и, наконец, ключевые актуальные проблемы, связанные с моделированием тромбообразования и тромболизиса.

Система гемостаза

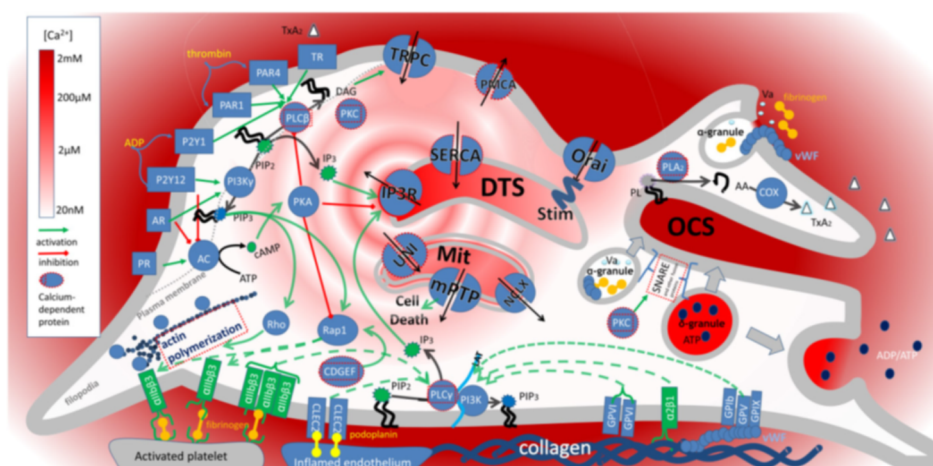
Одним из первых и наиболее важных для выживания физиологических ответов на внутренние и внешние повреждения организма является гемостатический ответ, реализующийся благодаря системе гемостаза. Данная система в норме обеспечивает быструю и надежную остановку кровопотери в случае проникающих сосудистых повреждений путем формирования так называемых гемостатических пробок (рис. 1). Основным строительным материалом для образования таких пробок являются тромбоциты — небольшие клеточные фрагменты, циркулирующие в кровотоке вблизи сосудистых стенок. Тромбоциты обладают уникальной способностью быстро



(a)



(б)



(в)

Рис. 1. Система гемостаза: а) электронная микрофотография гемостатического сгустка при проколе стенки сосуда у мыши [Yakusheva et al., 2022]; б) упрощенная схема основных реакций свертывания крови и фибринолиза [Zhalyalov et al., 2017]; в) пути активации тромбоцитов крови [Пантелеев и др., 2022]

прикрепляться к белкам внеклеточного матрикса в условиях высоких скоростей сдвига, а также способностью к агрегации, необходимой для образования первичной гемостатической пробки. Воздействие разнообразных биомеханических и биохимических стимулов приводит к активации тромбоцитов [Пантелеев, Степанян, Свешникова, 2022]. Эти клеточные фрагменты могут за доли секунды менять состояния поверхностных интегринов, значительно изменять свою фор-

му, сокращать, выбрасывать несколько типов гранул, а также экспонировать отрицательно заряженные молекулы фосфатидилсерина на внешнюю сторону плазматической мембраны, тем самым влияя на реакции каскада свертывания, о которых пойдет речь дальше [Podoplelova et al., 2021].

Другим важнейшим участником гемостатического ответа является каскад свертывания крови, который реализуется благодаря многочисленным биохимическим реакциям, происходящим в плазме крови и на поверхности различных клеток (рис. 1, б). Он представляет собой сеть протеолитических реакций, в которой ферменты активируют друг друга посредством частичного протеолиза [Panteleev, Dashkevich, Ataullakhanov, 2015]. Важным событием в реакциях плазменного звена свертывания является наработка тромбина — центрального фермента каскада, который осуществляет превращение растворимого фибриногена в нерастворимый полимеризующийся фибрин. Фибриновые волокна стабилизируют первичный гемостатический агрегат из тромбоцитов, выполняя роль прочного связующего компонента для клеток и структур внеклеточного матрикса. Тромбин также способствует необратимой активации тромбоцитов за счет взаимодействия с так называемыми PAR-рецепторами, а также служит важным медиатором реакций воспаления — в первую очередь за счет активации схожих PAR-рецепторов на поверхности эндотелия и лейкоцитов.

Внутриклеточная сигнализация тромбоцитов представляет собой большую сеть реакций, сложность которой превышает сложность свертывания крови (рис. 1, в). Тромбоциты располагают большим арсеналом рецепторов, которые управляют ответом на адгезионные взаимодействия и растворимые активаторы, а также ингибиторы. Системы ферментов и вторичных мессенджеров внутри клетки фильтруют эти сигналы, учитывают их взаимодействие и вырабатывают совокупность динамических функциональных ответов в зависимости от концентрации и комбинации агонистов [Sveshnikova et al., 2016; Martyanov et al., 2020a; Martyanov et al., 2020b; Shakhidzhanov et al., 2015; Sveshnikova, Ataullakhanov, Panteleev, 2015].

Сценарии гемостаза и тромбоза

Ответ системы гемостаза на повреждение зависит не только от ее состояния, но и от тяжести сосудистой травмы (рис. 2). В норме обеспечивается образование неокклюзивного тромба в случае повреждений I типа — непроникающих повреждений, не приводящих к вскрытию просвета сосуда. В случае повреждений II типа, приводящих к появлению раневого просвета в стенке сосуда, нормальный ответ системы гемостаза подразумевает формирование гемостатического тромба, не влияющего на кровоток в сосудах, но останавливающего потерю крови. В случае повреждений III типа — полного рассечения сосуда — в норме формируется окклюзивный тромб, закрывающий просвет сосуда в области ранения и останавливающий кровопотерю. Механизмы, обуславливающие такую гибкость системы гемостаза, не до конца изучены, и для их выяснения необходимо создание новых подходов, как экспериментальных, так и теоретических.

В силу большой клинической значимости особое внимание в современных теоретических и экспериментальных моделях тромбообразования уделено двум основным сценариям: непроникающему повреждению сосудистой стенки в условиях высоких скоростей сдвига (так как подобная ситуация имеет место в случае артериального тромбоза [Panteleev et al., 2021; Receveur et al., 2020]) и непроникающему повреждению вены в условиях минимальных или нулевых скоростей сдвига (что соответствует венозному тромбозу [Lehmann et al., 2018]). В первом случае основу тромба составляют тромбоциты, в то время как во втором случае формируется так называемый красный тромб, по большей части состоящий из запутавшихся в фибриновой сети эритроцитов. Надо отметить, что, хотя венозный тромб физически непосредственно создается фибриновой сетью, регуляция формирования этой сети, по современным представлениям, полностью определяется взаимной активацией тромбоцитов и нейтрофилов [von Brühl et al., 2012; Brill et al., 2012].

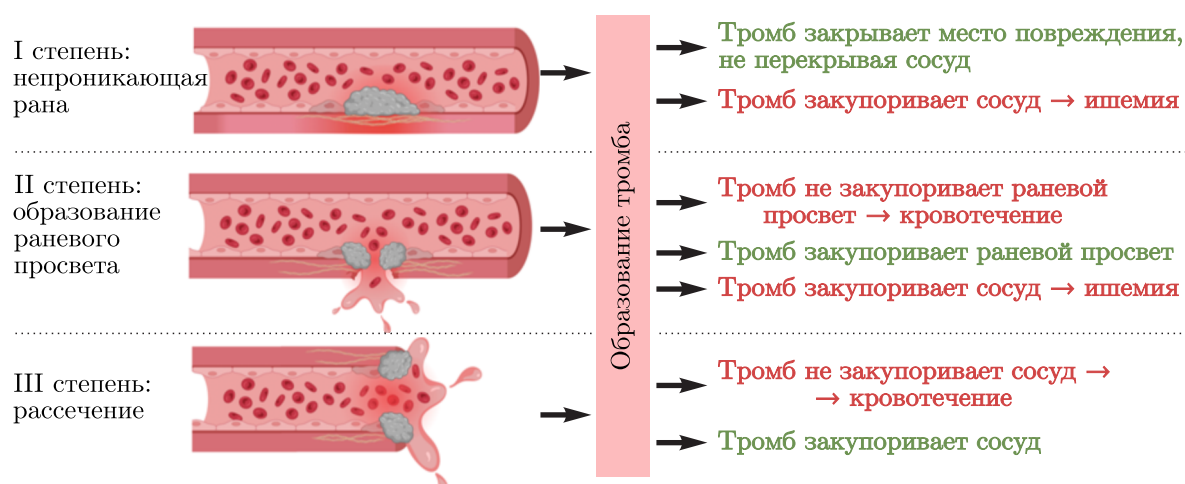


Рис. 2. Основные сценарии гемостатического ответа при повреждении сосуда. Зеленым цветом обозначены физиологически оптимальные ответы системы, красным цветом — нежелательные

Таким образом, оба сценария связаны с тромбозом — образованием крупного внутрисосудистого сгустка, который может нарушить кровоток в сосуде. В связи с этим ключевыми вопросами, ответ на которые помогают найти модели тромбообразования, являются вопросы о механизмах, ограничивающих рост тромба, а также вопросы механической и биохимической стабильности тромбов [Belyaev et al., 2018; Masalceva et al., 2022; Kaneva et al., 2021; Tosenberger et al., 2016; Tosenberger et al., 2013; Bershadsky et al., 2024].

Однако важно понимать, что многочисленные сценарии работы системы гемостаза не исчерпываются этим. Минимальный список сценариев, которые представляют интерес и требуют разработки компьютерных моделей (и для которых сейчас модели крайне мало развиты), также включает в себя:

- 1) собственно гемостаз — формирование сгустка в ране с проколом или разрывом сосуда [Stalker et al., 2013; Tomaiuolo et al., 2014; Yakusheva et al., 2022];
- 2) специальные ситуации тромбоза — системное внутрисосудистое свертывание, тромбоз аневризмы [Mountrakis, Lorenz, Hoekstra, 2013], тромбирование протезов в клапанах сердца [Zhang et al., 2023], образование тромбов в полостях сердца в случае фибрилляции предсердий [Qureshi et al., 2023; Qureshi et al., 2020];
- 3) естественный фибринолиз тромбов и гемостатических сгустков, а также тромболизис сгустков при тромболитической терапии [Shibeko et al., 2020; Zhalyalov et al., 2017];
- 4) математические модели лабораторных диагностических тестов гемостаза, прежде всего агрегации тромбоцитов [Garzon Dasgupta et al., 2020], генерации тромбина [Panteleev, Andreeva, Lobanov, 2020; Mitrophanov et al., 2020; Ratto et al., 2020; Panteleev et al., 2010] и тромбодинамики [Panteleev, Dashkevich, Ataullakhanov, 2015; Parunov et al., 2011].

Поскольку свертывание крови представляет собой химический процесс, то основой его моделирования является использование дифференциальных уравнений, основанных на законах химической и ферментативной кинетики [Anand, Panteleev, Ataullakhanov, 2022; Panteleev et al., 2006]. В том случае, когда рассматривается распространение свертывания в пространстве, то уравнения в частных производных дополнительно используют законы диффузии и конвекции,

в комбинации (в случае потока крови) с уравнениями Навье – Стокса или иным вариантом описания текущей крови или плазмы. Альтернативные способы отображения реакций свертывания, моделирование на основе стохастических уравнений или частиц, используются достаточно редко для специальных задач. Внутриклеточная сигнализация [Shakhidzhanov et al., 2015; Sveshnikova et al., 2016] и метаболизм [Shepelyuk, Panteleev, Sveshnikova, 2016] тромбоцита также в подавляющем большинстве случаев описываются обыкновенными дифференциальными уравнениями.

Напротив, возможность тромбоцита находиться в нескольких состояниях и его сложная механика делают математические модели на основе частиц распространенными при моделировании динамики тромбообразования в условиях потока. Однако ограничения вычислительных возможностей и потребность в анализе ведут также к развитию непрерывных вариантов представления роста тромбоцитарного тромба [Babushkina et al., 2015; Lobanov, Starozhilova, 2006].

Одной из простейших непрерывных моделей стационарного проницаемого тромба является модель [Tomaiuolo et al., 2014], которая описывает гетерогенный тромб как среду, состоящую из двух однородных компартментов (соответствующих ядру и оболочке тромба), со своими значениями пористости и проницаемости. Для расчета потоков крови в модели решаются уравнения Бринкмана внутри тромба и уравнения Стокса в сосуде. С этими уравнениями сопряжены уравнения конвекции – диффузии – реакции, которые позволяют рассчитывать локальные концентрации активаторов тромбоцитов (тромбина и АДФ). Другая предложенная непрерывная модель формирования тромба описывает динамику тромбообразования при использовании уравнения типа конвекции – диффузии – реакции (в том числе для локальных концентраций тромбоцитов) [Du et al., 2020] и учитывает взаимодействие тромбоцитов посредством фактора Виллебранда и интегринов, а также активацию тромбоцитов в ответ на АДФ и механическое воздействие потока крови на тромб. Такого рода модели имеют относительно небольшую вычислительную сложность и могут в будущем позволить анализировать тромбы, растущие в крупных сосудах (например, тромбы, вырастающие на атеросклеротической бляшке в коронарных артериях человека).

Для описания динамики жидкости в моделях формирования тромба, помимо классических подходов [Masalceva et al., 2022], также активно применяется формализм частиц, который органично сочетается с описанием динамики тромбоцитов и эритроцитов, например метод гладких частиц (smooth particles hydrodynamics) [Al-Saad et al., 2020] и метод диссипативной динамики частиц (dissipative particle dynamics) [Tosenberger et al., 2013]. Также в таких задачах иногда применяются методы решеточного уравнения Больцмана (Lattice Boltzman) [Shankar et al., 2022], которые органично сочетаются с решеточными кинетическими моделями Монте-Карло (Lattice kinetic Monte Carlo, LKMC), используемыми для описания динамики клеток в жидкости.

Проблемы предыдущих моделей

Формирование гемостатической пробки включает множество процессов различного масштаба, что существенным образом усложняет компьютерное моделирование гемостаза. В силу того, что регуляция каждого из этих процессов по отдельности плохо понятна, их оказывается не так просто реализовать в составе крупной модели. В результате практически ни одна из современных моделей гемостаза или его части не отражает их корректно.

Один из наиболее ярких примеров — мембранные реакции свертывания. Большинство ключевых реакций этой системы являются поверхностно-зависимыми и происходит на отрицательно заряженных фосфолипидных поверхностях [Podoplelova et al., 2021]. Часть реакций происходят в объеме плазмы, однако в случае их протекания внутри тромбоцитарного агрегата необходимо учитывать множество процессов, связанных с обменом молекулами между двумя фазами — объемной и поверхностной. Основным источником прокоагулянтной поверхности являются активированные тромбоциты, причем лишь часть тромбоцитов при активации переходит

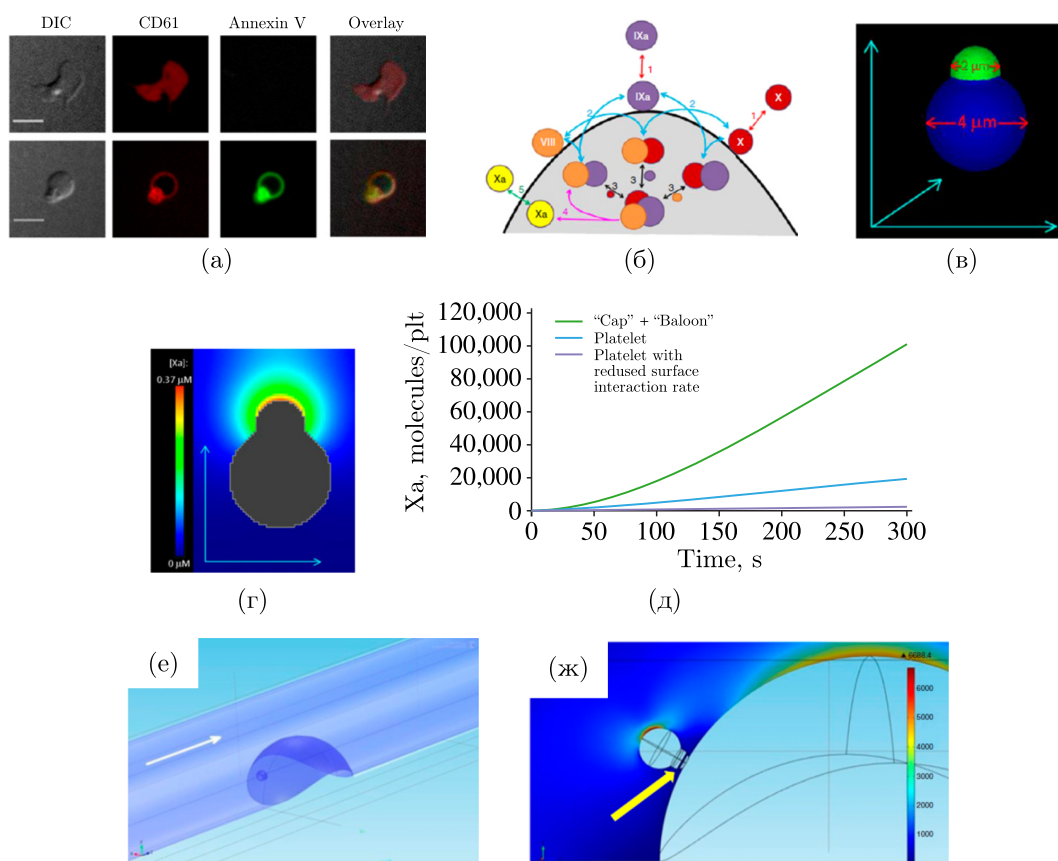


Рис. 3. Некоторые из проблем мембранных реакций свертывания: использование компьютерных моделей. а) Только часть тромбоцитов при активации связывает факторы свертывания, причем связывание идет преимущественно на части поверхности — «шапке». б) Схема реакций внутренней теназы в компьютерной модели. в) Пространственная организация реакции в модели. г) Пространственная генерация фактора свертывания Xa в модели. д) Вклады «шапки» и «основного тела». е) Геометрическая схема компьютерной модели гемодинамики в районе тромба с прокоагулянтным тромбоцитом. ж) Распределение скоростей сдвига. Адаптировано из [Podoplelova et al., 2016a]

в прокоагулянтное состояние [Sveshnikova, Ataullakhanov, Panteleev, 2015; Panteleev et al., 2005; Topalov et al., 2012].

Буквально считанные математические модели — в тесте генерации тромбина [Susree, Panteleev, Anand, 2018] или тромбодинамике [Panteleev et al., 2006] — учитывают этот критический феномен. Еще более впечатляет [Podoplelova et al., 2016a], что лишь часть поверхности этих тромбоцитов хорошо связывает факторы свертывания (рис. 3, а). Мы разработали математическую модель, в которой учли все этапы активации фактора X на поверхности разных частей тромбоцита (рис. 3, б, в), и показали, что концентрация факторов на «шапке» на порядки ускоряет реакции (рис. 3, г, д). Кроме того, математическое моделирование показало вторую возможную значимость «шапки»: поскольку именно она отвечает за связывание тромбоцита с артериальным тромбом [Abaeva et al., 2013], в этой примыкающей к тромбу области создается регион пониженных скоростей сдвига, позволяющих прохождение процессов свертывания (рис. 3, е, ж). Как было показано ранее, также с помощью математического моделирования, свертывание крови сильно ингибируется артериальными потоками [Tosenberger et al., 2016; Shibeko et al., 2010]. Возможно, однако, что мультимеризация белков свертывания на поверхности мембраны позволяет им избежать уноса потоком: этот механизм также был обнаружен путем анализа экспериментальных данных с помощью математического моделирования [Podoplelova et al., 2016b].

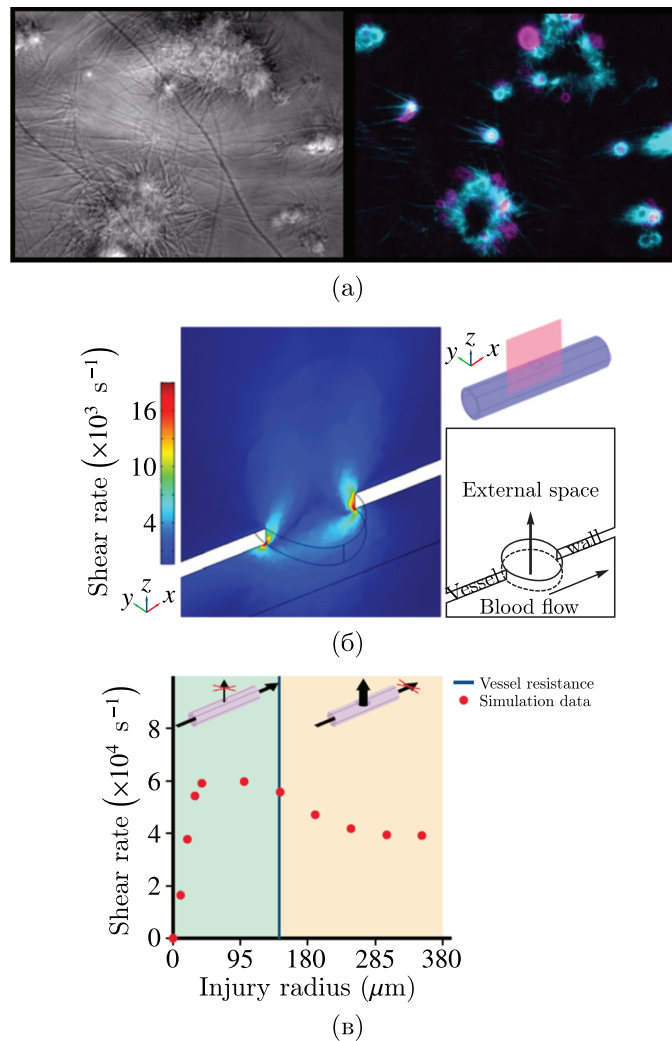


Рис. 4. Загадки на уровне тромбообразования. а) Неравномерное распределение прокоагулянтных тромбоцитов и фибрина в тромбе. Изображения тромбов, образовавшихся в микрофлюидной камере при прокачивании рекальцифицированной цельной крови через фибриллярный коллаген первого типа и тканевый фактор. Микрофотографии получены при помощи метода дифференциально-интерференционного контраста (слева), а также в двух каналах флуоресценции (справа). На левой микрофотографии видны два тромбоцитарных тромба, а также сеть фибриновых волокон в основании (толстые темные нити относятся к фибриллам коллагена). На правой микрофотографии та же самая область проточной камеры отснята в каналах флуоресценции: на поверхности агрегатов видны области, богатые фибриногеном (голубой цвет), а также прокоагулянтные тромбоциты (фиолетовый цвет). б) Распределение скоростей сдвига при травматическом проколе сосуда [Yakusheva et al., 2022]. в) Немонотонная зависимость скорости сдвига на границе раны от радиуса раны связана с тем, что при малых ранах поток через рану управляется сопротивлением раны, а при больших — сопротивлением подводящих сосудов [Podoplelova et al., 2016a]

Пространственное распределение прокоагулянтных тромбоцитов в тромбе крайне неоднородно и может изменяться с течением времени. Образование и перераспределение прокоагулянтных тромбоцитов в результате сильной активации могут существенным образом влиять на пространственное распределение наработки тромбина: мы ранее показали феномен вытеснения этих тромбоцитов на периферию артериального тромба вследствие контракции (рис. 4, а), что приводит к появлению повышенной концентрации фибрина в периферической части тромба [Nechipurenko et al., 2019]. Интересно, что в «венозных» тромбах также наблюдается уплот-

нение фибрина на периферии вследствие контракции, однако механизм иной: математическая модель контракции указывает на то, что сближение периферических тромбоцитов (и связанного с ними фибрина) происходит вследствие асимметричности сил, действующих на них около границы [Kovalenko et al., 2021].

Кроме загадки мембранных реакций к традиционным проблемам, связанным с физико-химическим описанием гемостатического ответа, можно отнести полимеризацию фибрина, которая инициируется появлением мономеров фибрина — яркий пример многомасштабного и многостадийного процесса, при котором из наноразмерных объектов могут появляться сложные микроскопические структуры. Данный процесс обладает большой чувствительностью к величине потока [Shibeko et al., 2010]. В настоящее время, как и для мембранных реакций свертывания, есть специализированные математические модели этого процесса [Weisel, Nagaswami, 1992; Андреева, Николаев, Лобанов, 2017], но предстоит большая работа по их инкорпорации в многомасштабные модели различных сценариев тромбообразования: сейчас есть лишь отдельные работы на эту тему [Xu et al., 2012; Tosenberger et al., 2016]. Детальный обзор подходов к компьютерному моделированию полимеризации фибрина можно найти в недавнем обзоре [Nelson et al., 2021]. Среди подходов к полимеризации фибрина можно выделить биохимическое моделирование [Pancaldi et al., 2022], статистические подходы [Moiseyev, Givli, Bar-Yoseph, 2013], рассмотрение полимеризации как волны фазового перехода [Лобанов, 2016], методы диссипативной динамики частиц [Yesudasan, Wang, Averett, 2018b], подходы молекулярной динамики [Yesudasan, Wang, Averett, 2018a].

Моделирование фибринолиза и тромболизиса (процесса, обратного свертыванию) сталкивается с несколько другими вызовами. Запросы на моделирование фибринолиза хотя бы *in vitro* возникли еще в 1960-е годы [Liniger, Rueggsegger, 1967], и это кинетическое и стохастическое моделирование продолжает развиваться до сих пор в разных вариантах [LaCroix, 2012; Bannish, Keener, Fogelson, 2014; LeCover et al., 2019], но мало выходит за пределы пробирки. Если процесс гемостаза нам примерно понятен, то регуляция естественного фибринолиза является крайне загадочной: мы до сих пор плохо понимаем, откуда берутся активаторы фибринолиза и как их производство регулируется параллельно с заживлением раны. Скорее всего, компьютерное моделирование фибринолиза *in vivo* невозможно в отрыве от моделирования заживления раны и каскада протеиназ внеклеточного матрикса. Напротив, компьютерное моделирование тромболизиса (процесса, когда в плазму крови вводят экзогенный активатор) является активно развиваемым направлением. Первые механизменные модели этого процесса были разработаны коллективом Скотта Даймонда [Anand, Diamond, 1996]. В настоящее время продолжают работы, посвященные как фундаментальному исследованию регуляции тромболизиса [Shibeko et al., 2020; Petkantchin et al., 2023], так и клиническим применениям [Piebalgs et al., 2018; Lahr et al., 2013]. Обзор по этой тематике можно найти в [Bannish et al., 2017].

Новые проблемы последнего десятилетия

За последнее десятилетие экспериментальных исследований тромбоза и гемостаза был накоплен большой объем данных, которые не только существенно развили представления о механизмах разнообразных процессов, но и позволили сформулировать ряд вопросов, для ответа на которые необходимо применять широкий арсенал новых подходов, в том числе компьютерного моделирования.

Так, недавно было показано, что в ряде случаев начальные этапы образования гемостатических тромбов при проколе сосуда (рис. 4, б) происходят в условиях экстремально больших скоростей сдвига, которые раньше относили к патологическим [Yakusheva et al., 2022]. При этом в большинстве случаев реалистичного повреждения контролирующим этапом является сопротивление сосудов, подходящих к ране, а не самой раны (рис. 4, в). Эти данные свидетельствуют

о том, что адекватное моделирование гемостатического ответа должно учитывать широкий круг биомеханических процессов, связанных с взаимодействием фактора фон Виллебранда с поврежденной сосудистой стенкой и тромбоцитами, и, возможно, процессы биомеханической активации тромбоцитов. Таким образом, анализ конформационной динамики и процессов активации фактора фон Виллебранда в условиях высокоградиентных течений крови приобретает новый смысл в контексте именно гемостаза.

Гемостатические сгустки и пристеночные тромбы обладают существенной пространственной неоднородностью. Первые намеки на это существовали уже к концу 2000-х годов [Katoska et al., 2010], но решающим прорывом считается цикл работы из лаборатории Лоренса Брасса, которые с 2013 года сформулировали концепцию ядра и оболочки для артериальных тромбов и гемостатических сгустков при проколе сосуда. Обнаружение сильной пространственной гетерогенности пристеночных тромбов в микро- и макроциркуляции [Stalker et al., 2013; Marar et al., 2022; Welsh et al., 2017] диктует необходимость не только учета данного явления в соответствующих моделях, но и важность поиска физико-химических механизмов такой гетерогенности. Наблюдаемая гетерогенность, по всей видимости, вызвана совокупностью взаимовлияющих эффектов, адекватное описание которых на сегодняшний день представляет серьезный вызов для компьютерных моделей:

- 1) изначальной гетерогенностью распределения важных активаторов гемостатического ответа при повреждении (в первую очередь коллагена и тканевого фактора), а также фосфолипидов, способных резко ускорять соответствующие реакции плазменного звена свертывания [Nechipurenko et al., 2019; Mangin et al., 2020];
- 2) сильной зависимостью реакций как плазменного, так и тромбоцитарного звена гемостаза от потока крови [Shibeko et al., 2010; Mangin et al., 2020];
- 3) ярко выраженным нелинейным характером зависимости функционального ответа тромбоцитов от концентрации различных активаторов, в первую очередь тромбина, тромбоксана A₂ и АДФ [Sveshnikova et al., 2016; Shakhidzhanov et al., 2015; Masalceva et al., 2022; Obyednyy et al., 2016; Свешникова, Степанян, Пантелеев, 2022; Болдова, Василевская, Свешникова, 2023];
- 4) способностью тромбоцитов к выбросу разнообразных гранул, изменению формы и конформации; данные функциональные ответы могут сильно влиять не только на соседние тромбоциты, но и на процессы транспорта веществ в тромбе: локальные параметры упаковки тромбоцитов в тромбе определяют как скорости конвекционного транспорта, так и скорость диффузии молекул-участников [Tomaiuolo et al., 2014];
- 5) внешняя часть растущего тромба обладает рядом особенностей: в связи с низким уровнем активации тромбоцитов и минимальной активностью тромбина данная область тромба, которую часто называют оболочкой (англ. “shell”), обладает высокой подвижностью; динамичность внешних слоев тромба в условиях потока может существенно влиять на его размер, однако адекватное описание физики взаимодействия потока с такой динамичной структурой требует использования соответствующих вычислительно сложных моделей [Masalceva et al., 2022; Kaneva et al., 2021; Ahmed et al., 2020; Trifanov et al., 2018].

Одним из возможных механизмов, ограничивающих распространение процесса сильной активации тромбоцитов во внешние области тромба, является потенциально высокая эффективность конвекционного транспорта веществ в оболочке тромба за счет ее высокой пористости. Данный эффект может иметь еще большее значение в контексте образования гемостатической пробки, где большой перепад давлений между сосудистым руслом и внешней частью раневого

просвета может приводить к резкому увеличению потоков крови [Yakusheva et al., 2022], в том числе потоков плазмы через формирующуюся первичную пробку. Другим механизмом может быть сам снос первичной оболочки (защищающей свертывание от потока) и стабилизация оставшегося участка ингибирующим свертывание действием потока [Kaneva et al., 2021; Tosenberger et al., 2016; Tosenberger et al., 2013].

Моделирование транспорта веществ в артериальном тромбе или гемостатической пробке, помимо сложности адекватного описания течения на границе между кровью и проницаемым для плазмы тромбом [Lobanov, Starozhilova, 2006], также сталкивается с наличием большой неопределенности в проницаемости различных областей тромба. Имеющиеся в литературе данные указывают на колоссальный разброс в измерениях проницаемости тромбов в зависимости от условий проведения эксперимента [Du et al., 2020]. Представленные в литературе значения проницаемости различаются на шесть порядков, что, по-видимому, отражает большое разнообразие реализующихся структур. В случае богатых фибрином плотных тромбов значения могут составлять порядка 10^{-6} – $10^{-2} \mu^2$, в то время как рыхлые тромбоцитарные агрегаты, образующиеся в условиях высоких скоростей сдвига (с низкой степенью контракции и без фибрина), по всей видимости, обладают проницаемостью $0,1$ – $10 \mu^2$ [Du et al., 2020]. Учитывая существенное влияние потока на разнообразные процессы при тромбообразовании, а также сильную гетерогенность тромбов *in vivo*, крайне актуальной становится задача построения адекватной теоретической зависимости локальной проницаемости как от пористости артериального тромба (на которую главным образом влияет степень активации тромбоцитов), так и от концентрации фибрина. И та и другая величина существенным образом зависят от локальной активности тромбина.

Важным направлением современных исследований в области гемостаза является изучение особенностей молекулярных процессов, происходящих на так называемых скаффолдах — двумерных и трехмерных матрицах, обеспечивающих специальные условия протекания разнообразных реакций [Пантелеев и др., 2022]. Среди основных таких скаффолдов можно выделить обогащенные фосфатидилсерином фосфолипидные мембраны (на них происходят ключевые реакции свертывания крови), комплекс фибрина и белков внеклеточного матрикса (служит матрицей про- и антифибринолитических процессов) и, наконец, полимеры фосфатов, включая тромбоцитарные полифосфаты и внеклеточные ловушки нейтрофилов (участвуют в большом количестве процессов, в том числе в контактной активации свертывания крови).

Другими примерами новых проблем, которые высветились в ходе экспериментальных и теоретических работ последних лет и для которых практически отсутствуют компьютерные модели:

- 1) ДНК-ловушки нейтрофилов и контактный путь в венозном тромбообразовании [Brill et al., 2012];
- 2) гетерогенный лизис сгустков (рис. 5), содержащих не только фибрин [Staessens et al., 2020; Staessens et al., 2021];
- 3) металлопротеиназы матрикса как развитие фибринолиза;
- 4) метаболизм тромбоцитов и его влияние на функциональность [Shepelyuk, Panteleev, Sveshnikova, 2016];
- 5) проблемы кровоизлияний и миграции тромбоцитов в стыки между эндотелием [Kaiser, Escaig, Nicolai, 2023].

Несмотря на длительную историю моделирования свертывания крови и тромбоцитарного гемостаза (и во многом благодаря ей), мы сегодня находимся в стадии решительного пересмотра базовых представлений об этих процессах и, соответственно, компьютерных моделей. Можно

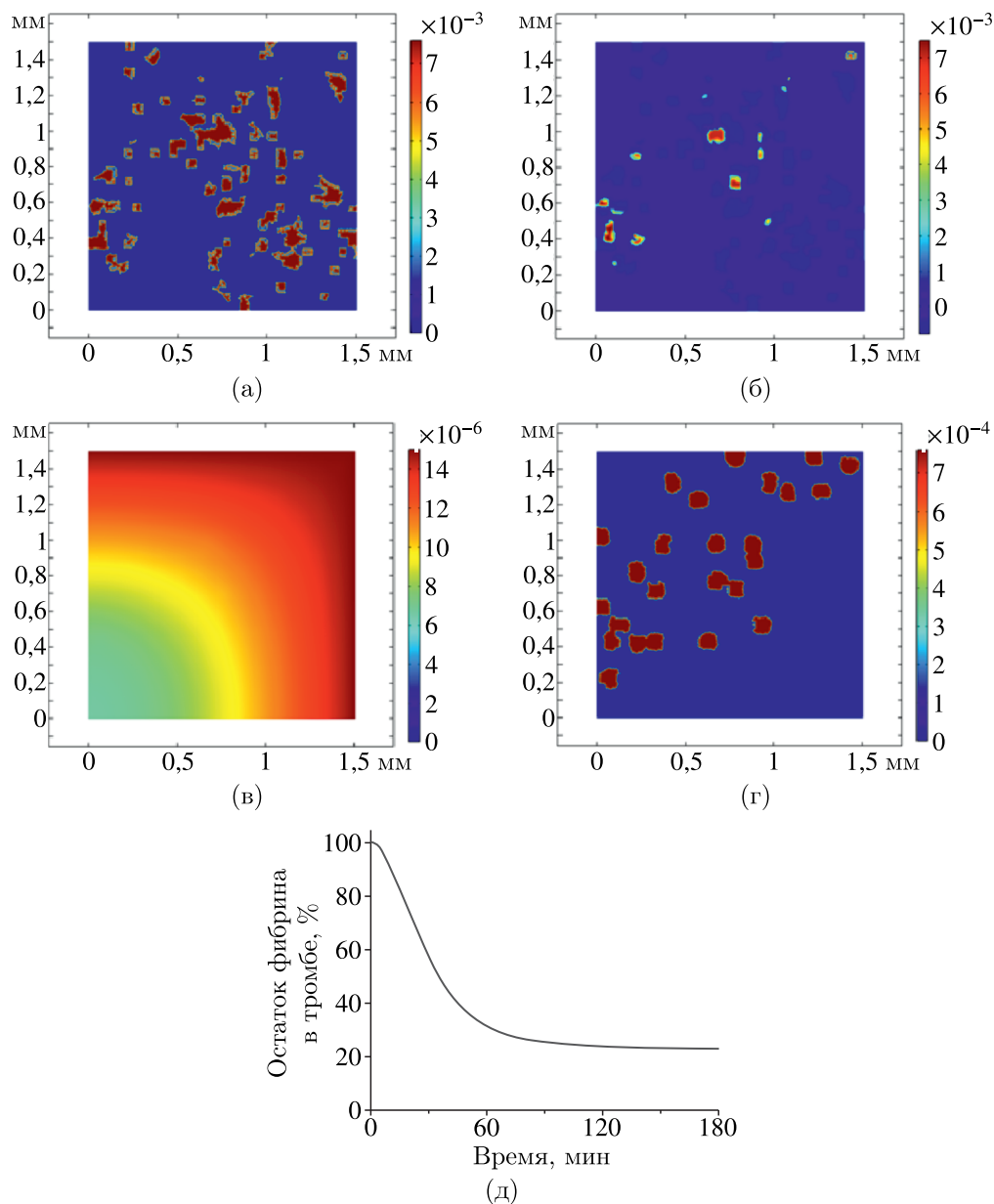


Рис. 5. Растворение фибрина в гетерогенном тромбе, богатом тромбоцитами и фактором фон Виллебранда (эритроциты — 10 %, фибрин — 20 %, тромбоциты — 70 %, фактор фон Виллебранда — 60 %, лейкоциты — 20 %, ДНК — 10 %), под действием ТПА. Расчет выполнен с помощью модифицированной модели из [Shibeko et al., 2020]. а) Начальное распределение фибрина в тромбе. б) Распределение фибрина в тромбе через 180 минут лизиса. в) Распределение ТПА в тромбе через 180 минут лизиса. г) Распределение ДНК в тромбе. д) Кинетика растворения фибрина в тромбе

ожидать, что в ближайшее время появятся новые поколения моделей, открывающие путь к новому пониманию.

Наряду с необходимостью расширения существующих моделей в связи с новыми экспериментальными данными исследователи сталкиваются и с другими проблемами: в первую очередь с необходимостью разработки новых физико-математических подходов к описанию сложных биологических процессов. В качестве примеров можно привести следующие нерешенные проблемы: адекватное описание внутриклеточных биохимических каскадов, где отдельная молекула

фермента может иметь более десятка сайтов фосфорилирования (и, следовательно, находиться более чем в 1000 возможных состояний); проблема адекватного описания мембранных реакций в случае высокой концентрации молекул-участников (где из-за так называемого эффекта краудинга перестает хорошо работать закон действующих масс); проблема редукции детальных моделей свертывания крови для возможности описания процессов в пространственно неоднородных ситуациях и при наличии потока; создание континуальных моделей артериального тромба, учитывающих как пластичность внешних слоев тромба, так и возможность отрыва отдельных кусков (то есть эмболизацию).

Другой важной проблемой является вычислительная сложность многих детальных моделей тромбообразования, которая не позволяет использовать их для описания интересных с точки зрения физиологии сценариев. В качестве примеров можно привести модели микрососудистого тромбообразования с разрешением в отдельный тромбоцит [Masalceva et al., 2022; Kaneva et al., 2021; Tosenberger et al., 2016; Tosenberger et al., 2013], которые даже с применением мощнейших современных суперкомпьютеров не могут быть использованы для исследования тромбообразования в крупных артериях. В связи с этим возникает задача создания адекватных континуальных моделей, что также сопряжено с существенными техническими сложностями, описанными выше. Аналогичная ситуация имеет место при попытке переноса детальных моделей каскада свертывания [Panteleev et al., 2005] в условия пространственно неоднородных задач с потоком, что диктует необходимость создания редуцированных моделей свертывания крови.

Другим примером процесса, который на сегодняшний день крайне сложно исследовать при помощи компьютерного моделирования в силу технических сложностей, является образование красных тромбов в полостях сердца при фибрилляции предсердий: большой пространственный масштаб данной задачи, а также необходимость учета подвижных границ приводят к крайне высокой вычислительной сложности моделей даже в случае упрощенного описания реакций свертывания крови [Qureshi et al., 2023; Qureshi et al., 2020].

При решении широкого круга пространственно неоднородных нестационарных задач, связанных с описанием потока крови и реакций свертывания крови, которые зачастую формулируются в виде задач типа «реакция – диффузия – конвекция», возникают технические сложности, связанные с применяемыми численными подходами. Так, например, наш опыт моделирования в пакете программ Comsol Multiphysics показал, что при расчетах профилей концентрации факторов свертывания и активаторов тромбоцитов (таких как тромбин и АДФ) в условиях потока зачастую возникают большие технические трудности, связанные с расчетами на однородной стационарной расчетной сетке. При использовании относительно грубых сеток точность численного решения оказывается слишком низкой, а использование мелких сеток сопряжено со значительным увеличением времени расчета (которое обычно растет как минимум пропорционально числу узлов расчетной сетки). Для решения данной проблемы сегодня активно применяются так называемые адаптивные сетки. Адаптивная сетка [Berger, Oliger, 1984] — неоднородная сетка, в которой расстояние между узлами зависит от локальных значений рассчитываемых величин и их градиентов, — позволяет совместить адекватную точность расчетов и относительно небольшое число элементов сетки, а значит, вычислительную сложность задачи.

С точки зрения используемых подходов моделирование роста пристеночного тромба в условиях потока, пожалуй, является примером задачи, в которой зачастую сочетается самый внушительный арсенал методов: в случае высокого пространственного разрешения задачи необходимость описывать динамику отдельных клеток в структуре тромба во многих моделях приводит к различным математическим формализмам, используемым для описания жидкой фазы (крови или плазмы крови) и твердых частиц (тромбоцитов). В данном обзоре мы не касаемся нюансов такого описания, но хотели бы подчеркнуть, что на сегодняшний день каждая из опубликованных моделей роста тромба является фактически уникальным способом описания

тромбообразования, зачастую сочетающим множество различных подходов. Такая ситуация, увы, не позволяет провести какого-то адекватного сравнения этих моделей, так как в подавляющем большинстве случаев они являются уникальным продуктом отдельных лабораторий, зачастую использующих свой программный код, который далеко не всегда представлен в открытом доступе. В этом смысле, к сожалению, данная область исследований в целом находится на более низкой ступени развития, если сравнивать ее, например, с традиционным молекулярным моделированием, для которого сегодня существует несколько широко используемых и валидированных программных решений и четких протоколов, позволяющих говорить о принципиальной воспроизводимости получаемых результатов.

Благодарности

Авторы выражают благодарность А. А. Масальцевой за помощь в оформлении рисунков.

Список литературы (References)

- Андреева А. А., Николаев А. В., Лобанов А. И. Исследование точечной математической модели полимеризации фибрина // Компьютерные исследования и моделирование. — 2017. — Т. 9, № 2. — С. 247–258.
- Andreeva A. A., Nikolaev A. V., Lobanov A. I. Issledovanie tochechnoi matematicheskoi modeli polimerizatsii fibrina [Analysis of point model of fibrin polymerization] // Computer Research and Modeling. — 2017. — Vol. 9, No. 2. — P. 247–258 (in Russian).*
- Болдова А. Е., Василевская В. Д., Свешникова А. Н. Математическая модель рецептора 3 типа к инозитол-3-фосфату (IP_3R_3) // Системная биология и физиология. — 2023. — Т. 2, № 1. — С. 3–10.
- Boldova A. E., Vasilevskaya V. D., Sveshnikova A. N. Matematicheskaya model' receptora 3 tipa k inozitol-3-fosfatu (IP_3R_3) // Sistemnaya biologiya i fiziologiya. — 2023. — Vol. 2, No. 1. — P. 3–10 (in Russian).*
- Лобанов А. И. Полимеризация фибрина как волна фазового перехода. Математическая модель // Журнал вычислительной математики и математической физики. — 2016. — Т. 56, № 6. — С. 1138–1148.
- Lobanov A. I. Fibrin polymerization as a phase transition wave: A mathematical model // Comput. Math. and Math. Phys. — 2016. — Vol. 56. — P. 1118–1127. (Original Russian paper: Lobanov A. I. Polimerizatsiya fibrina kak volna fazovogo perexoda. Matematicheskaya model' // Zhurnal vychislitel'noj matematiki i matematicheskoy fiziki. — 2016. — Vol. 56, No. 6. — P. 1138–1148.)*
- Пантелеев М. А., Степанян М. Г., Свешникова А. Н. Функциональные ответы тромбоцитов и внутриклеточная сигнализация: молекулярные связи. Часть 1: ответы // Системная биология и физиология. — 2022. — Т. 1, № 3. — С. 14–23.
- Panteleev M. A., Stepanyan M. G., Sveshnikova A. N. Funktsional'nye otvety trombocitov i vnutrikletchnaya signalizatsiya: molekulyarnye svyazi. Chast' 1: otvety // Sistemnaya biologiya i fiziologiya. — 2022. — Vol. 1, No. 3. — P. 14–23 (in Russian).*
- Пантелеев М. А., Шибeko А. М., Нечипуренко Д. Ю., Береснева Е. А., Подоплелова Н. А., Свешникова А. Н. Гемостаз и тромбоз. Пространственная организация биохимических процессов на микроуровне // Биологические мембраны. — 2022. — Т. 39, № 3. — С. 163–171. — DOI: 10.31857/S0233475522030094
- Panteleev M. A., Shibeko A. M., Nechipurenko D. Yu., Beresneva E. A., Podoplelova N. A., Sveshnikova A. N. Gemostaz i tromboz. Prostranstvennaya organizatsiya biohimicheskikh processov na mikrourovne [Hemostasis and thrombosis. Spatial organization of the biochemical processes at microscale] // Biologicheskie membrany. — 2022. — Vol. 39, No. 3. — P. 163–171 (in Russian).*
- Свешникова А. Н., Степанян М. Г., Пантелеев М. А. Функциональные ответы тромбоцитов и внутриклеточная сигнализация: молекулярные связи. Часть 1: ответы // Системная биология и физиология. — 2022. — Т. 1, № 1. — С. 14–23.
- Sveshnikova A. N., Stepanyan M. G., Panteleev M. A. Funktsional'nye otvety trombocitov i vnutrikletchnaya signalizatsiya: molekulyarnye svyazi. Chast' 1: otvety // Sistemnaya biologiya i fiziologiya. — 2022. — Vol. 1, No. 1. — P. 14–23 (in Russian).*

- Abaeva A.A., Canault M., Kotova Y.N., Obydenny S.I., Yakimenko A.O., Podoplelova N.A., Panteleev M.A. et al.* Procoagulant platelets form an α -granule protein-covered “cap” on their surface that promotes their attachment to aggregates // *Journal of Biological Chemistry*. — 2013. — Vol. 288, No. 41. — P. 29621–29632.
- Ahmed M.U., Kaneva V., Loyau S., Nechipurenko D., Receveur N., Le Bris M., Mangin P.H. et al.* Pharmacological blockade of glycoprotein VI promotes thrombus disaggregation in the absence of thrombin // *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. — 2020. — Vol. 40, No. 9. — P. 2127–2142.
- Al-Saad M., Suarez C.A., Obeidat A., Bordas S.P.A., Kulasegaram S.* Application of smooth particle hydrodynamics method for modelling blood flow with thrombus formation // *Computer Modeling in Engineering & Sciences*. — 2020. — Vol. 122, No. 3. — P. 831–862.
- Anand S., Diamond S.L.* Computer simulation of systemic circulation and clot lysis dynamics during thrombolytic therapy that accounts for inner clot transport and reaction // *Circulation*. — 1996. — Vol. 94, No. 4. — P. 763–774.
- Anand M., Panteleev M.A., Ataullakhanov F.I.* Computational models of hemostasis: Degrees of complexity // *Applications in Engineering Science*. — 2022. — Vol. 10. — P. 100103.
- Babushkina E.S., Bessonov N.M., Ataullakhanov F.I., Panteleev M.A.* Continuous modeling of arterial platelet thrombus formation using a spatial adsorption equation // *PloS one*. — 2015. — Vol. 10, No. 10. — P. e0141068.
- Bannish B.E., Chernysh I.N., Keener J.P., Fogelson A.L., Weisel J.W.* Molecular and physical mechanisms of fibrinolysis and thrombolysis from mathematical modeling and experiments // *Scientific reports*. — 2017. — Vol. 7, No. 1. — P. 6914.
- Bannish B.E., Keener J.P., Fogelson A.L.* Modelling fibrinolysis: a 3D stochastic multiscale model // *Mathematical medicine and biology: a journal of the IMA*. — 2014. — Vol. 31, No. 1. — P. 17–44.
- Belyaev A.V., Dunster J.L., Gibbins J.M., Panteleev M.A., Volpert V.* Modeling thrombosis in silico: Frontiers, challenges, unresolved problems and milestones // *Physics of life reviews*. — 2018. — Vol. 26. — P. 57–95.
- Berger M.J., Oliger J.* Adaptive mesh refinement for hyperbolic partial differential equations // *Journal of computational Physics*. — 1984. — Vol. 53, No. 3. — P. 484–512.
- Bershadsky E.S., Ermokhin D.A., Kurattsev V.A., Panteleev M.A., Nechipurenko D. Yu.* Force balance ratio is a robust predictor of arterial thrombus stability // *Biophysical Journal*. — 2024.
- Brill A., Fuchs T.A., Savchenko A.S., Thomas G.M., Martinod K., De Meyer S.F., Wagner D. et al.* Neutrophil extracellular traps promote deep vein thrombosis in mice // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. — 2012. — Vol. 10, No. 1. — P. 136–144.
- von Brühl M.L., Stark K., Steinhart A., Chandraratne S., Konrad I., Lorenz M., Massberg S. et al.* Monocytes, neutrophils, and platelets cooperate to initiate and propagate venous thrombosis in mice in vivo // *Journal of Experimental Medicine*. — 2012. — Vol. 209, No. 4. — P. 819–835.
- Du J., Kim D., Alhawael G., Ku D.N., Fogelson A.L.* Clot permeability, agonist transport, and platelet binding kinetics in arterial thrombosis // *Biophysical journal*. — 2020. — Vol. 119, No. 10. — P. 2102–2115.
- Garzon Dasgupta A.K., Martyanov A.A., Filkova A.A., Panteleev M.A., Sveshnikova A.N.* Development of a simple kinetic mathematical model of aggregation of particles or clustering of receptors // *Life*. — 2020. — Vol. 10, No. 6. — P. 97.
- Gutierrez N.G., Mukherjee D., Bark D. Jr.* Decoding thrombosis through code: a review of computational models // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. — 2023. — DOI: 10.1016/j.jtha.2023.08.021
- Kaiser R., Escaig R., Nicolai L.* Hemostasis without clot formation — how platelets guard the vasculature in inflammation, infection, and malignancy // *Blood*. — 2023. — Vol. 142, No. 17. — P. 1413–1425. — DOI: 10.1182/blood.2023020535

- Kamocka M. M., Mu J., Liu X., Chen N., Zollman A., Sturonas-Brown B. Rosen E. D. et al. Two-photon intravital imaging of thrombus development // *Journal of biomedical optics*. — 2010. — Vol. 15, No. 1. — P. 016020.
- Kaneva V. N., Dunster J. L., Volpert V., Ataullahanov F., Panteleev M. A., Nechipurenko D. Yu. Modeling thrombus shell: linking adhesion receptor properties and macroscopic dynamics // *Biophysical journal*. — 2021. — Vol. 120, No. 2. — P. 334–351.
- Kovalenko T. A., Giraud M. N., Eckly A., Ribba A. S., Proamer F., Fraboulet S. Sadoul K. et al. Asymmetrical forces dictate the distribution and morphology of platelets in blood clots // *Cells*. — 2021. — Vol. 10, No. 3. — P. 584.
- LaCroix D. A reduced equation mathematical model for blood coagulation and fibrinolysis in quiescent plasma // *The International Journal of Structural Changes in Solids*. — 2012. — Vol. 4. — P. 23–35.
- Lahr M. M., van der Zee D. J., Luijckx G. J., Vroomen P. C., Buskens E. A simulation-based approach for improving utilization of thrombolysis in acute brain infarction // *Medical care*. — 2013. — Vol. 51, No. 12. — P. 1101–1105.
- LeCover R., Orfeo T., Brummel-Ziedins K., Bravo M., Pusateri A., Varner J. Kinetic modeling of coagulation and fibrinolysis // *IFAC-PapersOnLine*. — 2019. — Vol. 52, No. 26. — P. 94–100.
- Lehmann M., Schoeman R. M., Krohl P. J., Wallbank A. M., Samaniuk J. R., Jandrot-Perrus M., Neeves K. B. Platelets drive thrombus propagation in a hematocrit and glycoprotein VI-dependent manner in an in vitro venous thrombosis model // *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. — 2018. — Vol. 38, No. 5. — P. 1052–1062.
- Levine S. N. Enzyme amplifier kinetics // *Science*. — 1966. — Vol. 152, No. 3722. — P. 651–653.
- Liniger W., Rueggsegger P. Fibrinolysis: mathematical and experimental studies // *Thrombosis and Haemostasis*. — 1967. — Vol. 17, No. 03/04. — P. 412–417.
- Lobanov A. I., Starozhilova T. K. The effect of convective flows on blood coagulation processes // *Pathophysiology of haemostasis and thrombosis*. — 2006. — Vol. 34, No. 2–3. — P. 121–134.
- Mangin P. H., Gardiner E. E., Nesbitt W. S., Kerrigan S. W., Korin N., Lam W. A., Panteleev M. A. In vitro flow based systems to study platelet function and thrombus formation: recommendations for standardization: communication from the SSC on Biorheology of the ISTH // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. — 2020. — Vol. 18, No. 3. — P. 748–752.
- Marar T. T., Matzko C. N., Wu J., Esmon C. T., Sinno T., Brass L. F., Tomaiuolo M. et al. Thrombin spatial distribution determines protein C activation during hemostasis and thrombosis // *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. — 2022. — Vol. 139, No. 12. — P. 1892–1902.
- Martyanov A. A., Balabin F. A., Dunster J. L., Panteleev M. A., Gibbins J. M., Sveshnikova A. N. Control of platelet CLEC-2-mediated activation by receptor clustering and tyrosine kinase signaling // *Biophysical journal*. — 2020a. — Vol. 118, No. 11. — P. 2641–2655.
- Martyanov A. A., Morozova D. S., Sorokina M. A., Filkova A. A., Fedorova D. V., Uzueva S. S., Sveshnikova A. N. et al. Heterogeneity of integrin $\alpha\text{IIb}\beta 3$ function in pediatric immune thrombocytopenia revealed by continuous flow cytometry analysis // *International Journal of Molecular Sciences*. — 2020b. — Vol. 21, No. 9. — P. 3035.
- Masalceva A. A., Kaneva V. N., Panteleev M. A., Ataullakhanov F., Volpert V., Afanasyev I., Nechipurenko D. Yu. Analysis of microvascular thrombus mechanobiology with a novel particle-based model // *Journal of Biomechanics*. — 2022. — Vol. 130. — P. 110801.
- Mitrophanov A. Y., Szlam F., Sniecinski R. M., Levy J. H., Reifman J. Controlled multifactorial coagulopathy: effects of dilution, hypothermia, and acidosis on thrombin generation in vitro // *Anesthesia & Analgesia*. — 2020. — Vol. 130, No. 4. — P. 1063–1076.
- Moiseyev G., Givli S., Bar-Yoseph P. Z. Fibrin polymerization in blood coagulation — A statistical model // *Journal of biomechanics*. — 2013. — Vol. 46, No. 1. — P. 26–30.

- Mountrakis L., Lorenz E., Hoekstra A. G. Where do the platelets go? A simulation study of fully resolved blood flow through aneurysmal vessels // *Interface Focus*. — 2013. — Vol. 3, No. 2. — P. 20120089.
- Nechipurenko D. Yu., Receveur N., Yakimenko A. O., Shepelyuk T. O., Yakusheva A. A., Kerimov R. R., Pantelev M. A. et al. Clot contraction drives the translocation of procoagulant platelets to thrombus surface // *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. — 2019. — Vol. 39, No. 1. — P. 37–47.
- Nechipurenko D. Yu., Shibeko A. M., Sveshnikova A. N., Pantelev M. A. In silico hemostasis modeling and prediction // *Hämostaseologie*. — 2020. — Vol. 40, No. 04. — P. 524–535.
- Nelson A. C., Kelley M. A., Haynes L. M., Leiderman K. Mathematical models of fibrin polymerization: past, present, and future // *Current Opinion in Biomedical Engineering*. — 2021. — Vol. 20. — P. 100350.
- Obydeny S. I., Sveshnikova A. N., Ataullakhanov F. I., Pantelev M. A. Dynamics of calcium spiking, mitochondrial collapse and phosphatidylserine exposure in platelet subpopulations during activation // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. — 2016. — Vol. 14, No. 9. — P. 1867–1881.
- Pancaldi F., Kim O. V., Weisel J. W., Alber M., Xu Z. Computational biomechanical modeling of fibrin networks and platelet-fiber network interactions // *Current opinion in biomedical engineering*. — 2022. — Vol. 22. — P. 100369.
- Pantelev M. A., Ananyeva N. M., Ataullakhanov F. I., Saenko E. L. Mathematical models of blood coagulation and platelet adhesion: clinical applications // *Current pharmaceutical design*. — 2007. — Vol. 13, No. 14. — P. 1457–1467.
- Pantelev M. A., Ananyeva N. M., Greco N. J., Ataullakhanov F. I., Saenko E. L. Two subpopulations of thrombin-activated platelets differ in their binding of the components of the intrinsic factor X-activating complex // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. — 2005. — Vol. 3, No. 11. — P. 2545–2553.
- Pantelev M. A., Andreeva A. A., Lobanov A. I. Differential drug target selection in blood coagulation: What can we get from computational systems biology models? // *Current Pharmaceutical Design*. — 2020. — Vol. 26, No. 18. — P. 2109–2115.
- Pantelev M. A., Balandina A. N., Lipets E. N., Ovanesov M. V., Ataullakhanov F. I. Task-oriented modular decomposition of biological networks: trigger mechanism in blood coagulation // *Biophysical journal*. — 2010. — Vol. 98, No. 9. — P. 1751–1761.
- Pantelev M. A., Dashkevich N. M., Ataullakhanov F. I. Hemostasis and thrombosis beyond biochemistry: roles of geometry, flow and diffusion // *Thrombosis Research*. — 2015. — Vol. 136, No. 4. — P. 699–711.
- Pantelev M. A., Korin N., Reesink K. D., Bark D. L., Cosemans J. M., Gardiner E. E., Mangin P. H. Wall shear rates in human and mouse arteries: Standardization of hemodynamics for in vitro blood flow assays: Communication from the ISTH SSC subcommittee on biorheology // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. — 2021. — Vol. 19, No. 2. — P. 588–595.
- Pantelev M. A., Ovanesov M. V., Kireev D. A., Shibeko A. M., Sinauridze E. I., Ananyeva N. M., Ataullakhanov F. I. et al. Spatial propagation and localization of blood coagulation are regulated by intrinsic and protein C pathways, respectively // *Biophysical journal*. — 2006. — Vol. 90, No. 5. — P. 1489–1500.
- Parunov L. A., Fadeeva O. A., Balandina A. N., Soshitova N. P., Kopylov K. G., Kumskova M. A., Pantelev M. A. et al. Improvement of spatial fibrin formation by the anti-TFPI aptamer BAX499: changing clot size by targeting extrinsic pathway initiation // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. — 2011. — Vol. 9, No. 9. — P. 1825–1834.
- Petkantchin R., Rousseau A., Eker O., Zouaoui Boudjeltia K., Raynaud F., Chopard B. A simplified mesoscale 3D model for characterizing fibrinolysis under flow conditions // *Scientific reports*. — 2023. — Vol. 13, No. 1. — P. 13681.

- Piebalgs A., Gu B., Roi D., Lobotesis K., Thom S., Xu X. Y.* Computational simulations of thrombolytic therapy in acute ischaemic stroke // *Scientific reports*. — 2018. — Vol. 8, No. 1. — P. 15810.
- Podoplelova N. A., Nechipurenko D. Yu., Ignatova A. A., Sveshnikova A. N., Pantelev M. A.* Procoagulant platelets: mechanisms of generation and action // *Hämostaseologie*. — 2021. — Vol. 41, No. 02. — P. 146–153.
- Podoplelova N. A., Sveshnikova A. N., Kotova Y. N., Eckly A., Receveur N., Nechipurenko D. Yu., Pantelev M. A. et al.* Coagulation factors bound to procoagulant platelets concentrate in cap structures to promote clotting // *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. — 2016a. — Vol. 128, No. 13. — P. 1745–1755.
- Podoplelova N. A., Sveshnikova A. N., Kurasawa J. H., Sarafanov A. G., Chambost H., Vasil'ev S. A., Pantelev M. et al.* Hysteresis-like binding of coagulation factors X/Xa to procoagulant activated platelets and phospholipids results from multistep association and membrane-dependent multimerization // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*. — 2016b. — Vol. 1858, No. 6. — P. 1216–1227.
- Qureshi A., Darwish O., Dillon-Murphy D., Chubb H., Williams S., Nechipurenko D., De Vecchi A.* Modelling left atrial flow and blood coagulation for risk of thrombus formation in atrial fibrillation // *2020 Computing in Cardiology*. — IEEE, 2020. — P. 1–4.
- Qureshi A., Lip G. Y., Nordsletten D. A., Williams S. E., Aslanidi O., De Vecchi A.* Imaging and biophysical modelling of thrombogenic mechanisms in atrial fibrillation and stroke // *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. — 2023. — Vol. 9. — P. 1074562.
- Ratto N., Tokarev A., Chelle P., Tardy-Poncet B., Volpert V.* Clustering of thrombin generation test data using a reduced mathematical model of blood coagulation // *Acta Biotheoretica*. — 2020. — Vol. 68. — P. 21–43.
- Receveur N., Nechipurenko D., Knapp Y., Yakusheva A., Maurer E., Denis C. V., Mangin P. H. et al.* Shear rate gradients promote a bi-phasic thrombus formation on weak adhesive proteins, such as fibrinogen in a von Willebrand factor-dependent manner // *Haematologica*. — 2020. — Vol. 105, No. 10. — P. 2471.
- Shakhidzhanov S. S., Shaturny V. I., Pantelev M. A., Sveshnikova A. N.* Modulation and pre-amplification of PAR1 signaling by ADP acting via the P2Y12 receptor during platelet subpopulation formation // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – General Subjects*. — 2015. — Vol. 1850, No. 12. — P. 2518–2529.
- Shankar K. N., Zhang Y., Sinno T., Diamond S. L.* A three-dimensional multiscale model for the prediction of thrombus growth under flow with single-platelet resolution // *PLoS computational biology*. — 2022. — Vol. 18, No. 1. — P. e1009850.
- Shepelyuk T. O., Pantelev M. A., Sveshnikova A. N.* Computational modeling of quiescent platelet energy metabolism in the context of whole-body glucose turnover // *Mathematical Modelling of Natural Phenomena*. — 2016. — Vol. 11, No. 6.
- Shibeko A. M., Chopard B., Hoekstra A. G., Pantelev M. A.* Redistribution of TPA fluxes in the presence of PAI-1 regulates spatial thrombolysis // *Biophysical journal*. — 2020. — Vol. 119, No. 3. — P. 638–651.
- Shibeko A. M., Lobanova E. S., Pantelev M. A., Ataullakhanov F. I.* Blood flow controls coagulation onset via the positive feedback of factor VII activation by factor Xa // *BMC systems biology*. — 2010. — Vol. 4, No. 1. — P. 1–12.
- Shibeko A. M., Pantelev M. A.* Untangling the complexity of blood coagulation network: use of computational modelling in pharmacology and diagnostics // *Briefings in Bioinformatics*. — 2016. — Vol. 17, No. 3. — P. 429–439.
- Staessens S., Denorme F., Francois O., Desender L., Dewaele T., Vanacker P., De Meyer S. F. et al.* Structural analysis of ischemic stroke thrombi: histological indications for therapy resistance // *Haematologica*. — 2020. — Vol. 105, No. 2. — P. 498.

- Staessens S., François O., Desender L., Vanacker P., Dewaele T., Sciot R., De Meyer S. F. et al.* Detailed histological analysis of a thrombectomy-resistant ischemic stroke thrombus: a case report // *Thrombosis Journal*. — 2021. — Vol. 19. — P. 1–7.
- Stalker T. J., Traxler E. A., Wu J., Wannemacher K. M., Cermignano S. L., Voronov R., Brass L. F. et al.* Hierarchical organization in the hemostatic response and its relationship to the platelet-signaling network // *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. — 2013. — Vol. 121, No. 10. — P. 1875–1885.
- Susree M., Panteleev M. A., Anand M.* Coated platelets introduce significant delay in onset of peak thrombin production: Theoretical predictions // *Journal of theoretical biology*. — 2018. — Vol. 453. — P. 108–116.
- Sveshnikova A. N., Ataullakhanov F. I., Panteleev M. A.* Compartmentalized calcium signaling triggers subpopulation formation upon platelet activation through PAR1 // *Molecular BioSystems*. — 2015. — Vol. 11, No. 4. — P. 1052–1060.
- Sveshnikova A. N., Balatskiy A. V., Demianova A. S., Shepelyuk T. O., Shakhidzhanov S. S., Balatskaya M. N., Panteleev M. A. et al.* Systems biology insights into the meaning of the platelet's dual-receptor thrombin signaling // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. — 2016. — Vol. 14, No. 10. — P. 2045–2057.
- Tomaiuolo M., Stalker T. J., Welsh J. D., Diamond S. L., Sinno T., Brass L. F.* A systems approach to hemostasis: 2. Computational analysis of molecular transport in the thrombus microenvironment // *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. — 2014. — Vol. 124, No. 11. — P. 1816–1823.
- Topalov N. N., Yakimenko A. O., Canault M., Artemenko E. O., Zakharova N. V., Abaeva A. A., Panteleev M. A. et al.* Two types of procoagulant platelets are formed upon physiological activation and are controlled by integrin $\alpha\text{IIb}\beta 3$ // *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. — 2012. — Vol. 32, No. 10. — P. 2475–2483.
- Tosenberger A., Ataullakhanov F., Bessonov N., Panteleev M., Tokarev A., Volpert V.* Modelling of platelet–fibrin clot formation in flow with a DPD–PDE method // *Journal of mathematical biology*. — 2016. — Vol. 72. — P. 649–681.
- Tosenberger A., Ataullakhanov F., Bessonov N., Panteleev M., Tokarev A., Volpert V.* Modelling of thrombus growth in flow with a DPD–PDE method // *Journal of theoretical biology*. — 2013. — Vol. 337. — P. 30–41.
- Trifanov P. V., Kaneva V. N., Strijhak S. V., Panteleev M. A., Ataullakhanov F. I., Dunster J., Nechipurenko D. Yu. et al.* Developing quasi-steady model for studying hemostatic response using supercomputer technologies // *Supercomputing Frontiers and Innovations*. — 2018. — Vol. 5, No. 4. — P. 67–72.
- Weisel J. W., Nagaswami C.* Computer modeling of fibrin polymerization kinetics correlated with electron microscope and turbidity observations: clot structure and assembly are kinetically controlled // *Biophysical journal*. — 1992. — Vol. 63, No. 1. — P. 111–128.
- Welsh J. D., Poventud-Fuentes I., Sampietro S., Diamond S. L., Stalker T. J., Brass L. F.* Hierarchical organization of the hemostatic response to penetrating injuries in the mouse macrovasculature // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. — 2017. — Vol. 15, No. 3. — P. 526–537.
- Xu Z., Christley S., Lioi J., Kim O., Harvey C., Sun W., Alber M. et al.* Multiscale model of fibrin accumulation on the blood clot surface and platelet dynamics // *Methods in cell biology*. — Academic Press, 2012. — Vol. 110. — P. 367–388.
- Yakusheva A. A., Butov K. R., Bykov G. A., Závodszy G., Eckly A., Ataullakhanov F. I., Mangin P. H. et al.* Traumatic vessel injuries initiating hemostasis generate high shear conditions // *Blood Advances*. — 2022. — Vol. 6, No. 16. — P. 4834–4846.

- Yesudasan S., Wang X., Averett R.D.* Coarse-grained molecular dynamics simulations of fibrin polymerization: effects of thrombin concentration on fibrin clot structure // *Journal of molecular modeling*. — 2018a. — Vol. 24. — P. 1–14.
- Yesudasan S., Wang X., Averett R.D.* Fibrin polymerization simulation using a reactive dissipative particle dynamics method // *Biomechanics and modeling in mechanobiology*. — 2018b. — Vol. 17. — P. 1389–1403.
- Zhalyalov A.S., Panteleev M.A., Gracheva M.A., Ataulakhanov F.I., Shibeko A.M.* Co-ordinated spatial propagation of blood plasma clotting and fibrinolytic fronts // *PLoS One*. — 2017. — Vol. 12, No. 7. — P. e0180668.
- Zhang Z., Zhu J., Wu M., Neidlin M., Wu W.T., Wu P.* Computational modeling of hemodynamics and risk of thrombosis in the left atrial appendage using patient-specific blood viscosity and boundary conditions at the mitral valve // *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*. — 2023. — Vol. 22, No. 4. — P. 1447–1457.