

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В. ЛОМОНОСОВА

На правах рукописи

Салихова Татьяна Юрьевна

**Гидродинамическая активация тромбообразования
в интенсивном кровотоке
в сосудах со сложной геометрией**

Специальность 1.5.2 – Биофизика (биол. науки)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Москва – 2024

Диссертация подготовлена на кафедре физики живых систем в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)»

- Научный руководитель** – *Гурия Георгий Теодорович, доктор физико-математических наук, профессор*
- Официальные оппоненты** – *Плюснина Татьяна Юрьевна, кандидат физико-математических наук, кафедра биофизики биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, доцент*
- Агладзе Константин Игоревич, доктор биологических наук, Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, руководитель лаборатории молекулярной и клеточной диагностики*
- Ройтман Евгений Витальевич, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник, Научный центр неврологии, ведущий научный сотрудник отдела лабораторной диагностики*

Защита диссертации состоится «20» июня 2024 г. в 14 часов 00 минут на заседании диссертационного совета МГУ.015.5 Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова по адресу: 119991 Москва, Ленинские горы, д.1, стр. 24, ауд. «Новая».

E-mail: fursova@biophys.msu.ru

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки МГУ имени М.В. Ломоносова (Ломоносовский просп., д. 27) и на портале: <https://dissovet.msu.ru/dissertation/3000>

Автореферат разослан « ____ » _____ 2024 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат физико-математических наук



П.В. Фурсова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы и степень её разработанности

Процессы тромбообразования в сосудах активно изучаются в рамках современной биологической физики (Гурия, 2002; Qiu et al., 2015; Domingues et al., 2022). Как известно, **система свертывания крови (ССК)** относится к числу важнейших биологических систем, срабатывание которой призвано обеспечивать остановку кровотоков при нарушении целостности сосудов. ССК обеспечивает регуляцию вязкости крови и контролирует функциональное состояние форменных элементов крови при её движении в крупных сосудах (Левтов и др., 1982). В этой связи важную роль играют элементы крови – тромбоциты (Мазуров, 2011; van der Meijden, Heemskerk, 2019). Публикация известных работ (Ruggeri, 1997; Goto et al., 1998) вызвала активное развитие исследований, направленных на изучение способности тромбоцитов к взаимной агрегации в **интенсивных течениях** крови.

Ключевым фактором гидродинамической активации тромбоцитов в интенсивных течениях крови является **фактор фон Виллебранда (VWF)** (Zlobina, Guria, 2016; Slepian et al., 2017; Löf et al., 2018; Rahman et al., 2018; Rana et al., 2019). VWF является мультимерным гликопротеином, состоящим из отдельных субъединиц (Avdonin et al., 2021) и имеющим форму глобулы и способным в интенсивном кровотоке разворачиваться на поверхности тромбоцита (Qiu et al., 2015; Gogia, Neelamegham, 2015). В крови существуют мультимеры VWF различной длины, содержащие до 100 субъединиц (Springer, 2014). Разворачивание их на полную длину и приводит к активации тромбоцита.

Физиологическую функцию VWF в активации тромбоцитов определяет его способность к переходам из глобулярного в развернутое состояние в интенсивных потоках крови под действием **напряжения сдвига** между её слоями (сила, прикладываемая к верхнему слою текущей жидкости, вызывающая смещение нижележащих слоев относительно друг друга в направлении прикладываемой силы). При **низких напряжениях сдвига** в кровотоке мультимеры VWF имеют компактную глобулярную форму, при этом часть из них связана с мембранными рецепторами GPIb на поверхности тромбоцитов одним мономером. В таких ситуациях активация тромбоцитов не должна иметь место. При **увеличении напряжения сдвига** выше некоторой критической величины молекулы VWF способны разворачиваться, за счёт этого увеличивается количество сайтов связывания с рецепторами GPIb на поверхности тромбоцита (Di Stasio, De Cristofaro, 2010; Vergauwe et al., 2014; Lancellotti et al., 2019). В итоге это приводит к активации тромбоцитов и последующему тромбообразованию.

Активация тромбообразования может происходить как на поверхности сосудов (**контактная**), так и вдали от стенок (**объемная**). Механизмы контактной активации ССК подробно изучались последние десятилетия (Атауллаханов, Гурия, 1994; Davie, 1995; Гурия, 2002; Hemker et al., 2006; Vogler, Siedlecki, 2009; Гурия, 2011; Zhu, Diamond, 2014; Guria K.G., Guria G.Th., 2015). Основное внимание в этих работах уделялось взаимодействию системы свертывания крови с поврежденными стенками сосудов, приводящего к формированию пристеночных «красных» тромбов. Не менее актуальным является изучение объемной активации тромбоцитов в интенсивных течениях крови в сосудах, имеющих **сложную геометрию**: зоны, где значительно меняется просвет, кривизна сосуда (Casa et al., 2014; Rana et al., 2019). Такого рода ситуации часто наблюдаются в сосудах с высокой степенью стенозирования, в сосудах, сопряженных с аппаратами вспомогательного кровообращения, а также в хирургически модифицированных сосудах (Casa, Ku, 2017; Long et al., 2019; Gameiro, Ibeas, 2020). В этих ситуациях образуются области с высокими напряжениями сдвига, что увеличивает риск тромбообразования. В связи с этим актуальной становится задача нахождения гидродинамических условий активации тромбоцитов в сосудах со сложной геометрией.

Уровень гидродинамической активации тромбоцитов у человека может регулироваться двумя способами: биохимическим, за счёт медикаментозного изменения длины мультимеров (длина молекул VWF влияет на уровень активации и агрегации тромбоцитов: мелкие мультимеры менее активно стимулируют тромбообразование, чем крупные) фактора фон Виллебранда (VWF) (Reininger, 2015; Sadler, 2017) и биомеханическим, направленным на изменение характера течения крови за счёт изменения геометрии сосудов (для хирургически модифицированных сосудов).

В сосудах со сложной геометрией течение крови становится **нестационарным**, то есть тромбоцит находится под действием сдвигового напряжения некоторое **конечное время**. По существующим представлениям в качестве характеристики сдвиговых напряжений в условиях нестационарного потока принято считать **кумулятивное напряжение сдвига (CSS)**, которое учитывает не только величину, но и длительность его действия (Bluestein et al., 1997; Hansen et al., 2015). Важно отметить, что вопрос о влиянии нестационарных сдвиговых воздействий на гидродинамическую активацию тромбоцитов ранее не рассматривался.

В данной работе проводится исследование процессов гидродинамической активации тромбоцитов в условиях нестационарного кровотока в сосудах с различной конфигурацией.

Цели и задачи исследования

Основная цель работы – исследовать влияние динамики разворачивания макромолекул VWF на объемную активацию тромбоцитов в нестационарном интенсивном кровотоке с учетом сложной геометрии сосудов.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Построить модель разворачивания макромолекул фактора фон Виллебранда (VWF) на поверхности тромбоцитов под действием нестационарных сдвиговых напряжений в интенсивном кровотоке.
2. Проанализировать динамику разворачивания VWF в нестационарном кровотоке. Найти условия разворачивания VWF на полную длину.
3. Разработать модель для оценки гидродинамической активации тромбоцитов в сосудах со сложной геометрией.
4. Проанализировать влияние геометрии сосудов, интенсивности кровотока, мультимерности VWF на гидродинамическую активацию тромбоцитов.
5. Выработать практические рекомендации по уменьшению уровня гидродинамической активации тромбоцитов в сосудах со сложной геометрией.

Научная новизна работы

Выявлен механизм разворачивания макромолекул фактора фон Виллебранда (VWF) на поверхности тромбоцитов под действием нестационарных сдвиговых напряжений.

Найдена зависимость критического значения напряжения сдвига и кумулятивного напряжения сдвига (CSS) от количества мономеров в мультимере VWF, превышение которых приводит к разворачиванию макромолекул на полную длину.

Установлена зависимость уровня гидродинамической активации от скорости кровотока через сосуд.

Определена зависимость критической скорости кровотока от количества мономеров в VWF.

Теоретическая и практическая значимость работы

Найденные условия разворачивания VWF по поверхности тромбоцита на полную длину могут быть использованы для оценки уровня гидродинамической активации тромбоцитов в сосудах со сложной геометрией.

К практически значимым приложениям результатов работы можно отнести полученную на основании моделирования информацию о месте запуска (локализации) гидродинамической активации тромбоцитов и её величине в сосудах со сложной геометрией, а также рекомендации по хирургической установке артериовенозных

фистул (АВФ). Среди типов сшивки сосудов в АВФ наиболее безопасным является соединение «конец вены в конец артерии». Расчеты показали, что тупые углы сшивки сосудов в АВФ должны представлять меньшую опасность с точки зрения запуска гидродинамической активации тромбоцитов, чем острые.

Методология и методы исследования

В работе были использованы традиционные и современные методы биофизики сложных систем. Сочетание биофизических подходов для описания гидродинамической активации тромбоцитов с методами вычислительной гидродинамики, приспособленными к описанию течений крови в реальных сосудистых системах, и с принятыми методами медицинской визуализации позволило изучать активацию тромбоцитов с участием фактора фон Виллебранда в сосудах со сложной геометрией.

Положения, выносимые на защиту

1. Уровень гидродинамической активации тромбоцитов определяется комплексным влиянием критической скорости кровотока (Q_{cr}), количества мономеров в факторе фон Виллебранда (N) и геометрией сосуда.

2. Разворачивание фактора фон Виллебранда (VWF) на полную длину в интенсивном, нестационарном кровотоке происходит, если величина кумулятивного напряжения сдвига больше критической величины (CSS_{cr}). Критические значения напряжения сдвига (τ_{cr}) и кумулятивного напряжения сдвига (CSS_{cr}), при которых происходит разворачивание мультимера VWF, зависят от количества мономеров (N) в нем.

3. Величина критической скорости кровотока (Q_{cr}), при которой происходит гидродинамическая активация тромбоцитов в сосудах со сложной геометрией, зависит от количества мономеров (N) в макромолекулах фактора фон Виллебранда.

4. Учет этих факторов в комплексе позволяет выработать практические рекомендации по уменьшению уровня гидродинамической активации тромбоцитов.

Степень достоверности и апробация результатов

Работа докладывалась автором и обсуждалась на семинарах лаборатории математического моделирования биологических процессов ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России. Результаты работы докладывались на следующих российских и международных конференциях: VI Съезд биофизиков России (2019), международная конференция «Математика. Компьютер. Образование» (2018, 2019, 2020, 2021, 2023), International Society on Thrombosis and Haemostasis Congress (2020),

61 Научная конференция МФТИ (2018), International online workshop «Mathematical Modelling in Biomedicine» (2021), Российская конференция с международным участием «Экспериментальная и компьютерная биомедицина памяти члена-корреспондента РАН В.С. Мархасина» (2021). Опубликовано 18 тезисов докладов. Получено свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ (№ 2022611543) «Программа для расчета уровня гидродинамической активации тромбоцитов в интенсивных течениях крови».

Публикации

По теме диссертации опубликовано 4 статьи в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в базах данных Web of Science, Scopus, Russian Science Citation Index (RSCI).

Объем и структура диссертации

Диссертация состоит из введения, трех глав основного текста, заключения, выводов, списка сокращений и списка литературы. Диссертация изложена на 150 страницах машинописного текста и содержит 40 рисунков и 3 таблицы. Список литературы включает в себя 284 источника, из них 251 на иностранном языке.

Основное содержание работы

Во Введении приводится обоснование актуальности выбранной проблемы, формулируется цель исследования и ставятся задачи, перечисляются положения, выносимые на защиту.

В **Главе 1** анализируются современные представления о механизмах гидродинамической активации тромбоцитов. Обсуждаются стационарные и нестационарные воздействия со стороны кровотока, делается вывод о перспективности использования теоретических результатов для оценки гидродинамической активации тромбоцитов в сосудах со сложной геометрией. Во второй части **Главы 1** описывается использование артериовенозных фистул (АВФ) для проведения процедур гемодиализа. В АВФ формируются зоны с высокими напряжениями сдвига, в которых может происходить гидродинамическая активация тромбоцитов, ведущая к последующему образованию тромбов. Делается вывод о необходимости разработки математической модели гидродинамической активации тромбоцитов в нестационарных течениях крови в сосудах со сложной геометрией (в частности, в артериовенозных фистулах).

В **Главе 2** описывается модель разворачивания макромолекул фактора фон Виллебранда (VWF) на поверхности тромбоцитов под действием нестационарных сдвиговых напряжений в интенсивном кровотоке. Проводится анализ динамики

разворачивания VWF под действием напряжения сдвига в нестационарном кровотоке. Определяются условия разворачивания VWF на полную длину.

В **Главе 3** формулируется математическая модель для оценки гидродинамической активации тромбоцитов в сосудах со сложной геометрией, результатом которой является определение уровня гидродинамической активации тромбоцитов в сосуде. Установлено, что гидродинамическая активация тромбоцитов в сосудах со сложной геометрией может иметь место только в течениях, в которых скорость кровотока выше критического уровня. Зависимость критического значения кровотока от количества мономеров в VWF подчиняются степенному закону, параметры которого определяются геометрией сосуда. Уровень активации тромбоцитов определяется комплексным влиянием скорости кровотока, количества мономеров в VWF и геометрией сосуда.

В **Главе 4** описывается характер гидродинамической активации тромбоцитов в сосудах со сложной геометрией. Приводятся результаты для сосудов с различной сложной геометрией (в частности, для АВФ). Показаны этапы разработки практических рекомендаций по уменьшению уровня гидродинамической активации тромбоцитов. Во второй части главы проведено исследование гидродинамической активации тромбоцитов в модельных АВФ (моделируются различные типы соединения сосудов и различные углы сшивки в АВФ), а также в катетерах, используемых для гемодиализа.

В **Заключении** дается перечень полученных в результате выполнения работы выводов, обсуждаются возможные пути их практического использования.

Основные результаты работы

Модель разворачивания VWF на поверхности тромбоцитов под действием нестационарных сдвиговых напряжений в интенсивном кровотоке

Известно, что гидродинамические условия в кровотоке регулируют динамику разворачивания VWF на поверхности тромбоцитов в нестационарных сдвиговых течениях крови. В кровотоке на молекулу VWF, присоединенную одной субъединицей к поверхности тромбоцита, действует две силы (рисунок 1): сила разворачивания F_{un} , вызванная действием напряжения сдвига со стороны потока, стремящегося развернуть молекулу из глобулярного в полностью развернутое состояние, и сила сворачивания F_f , стремящаяся вернуть VWF в глобулярное состояние (по сути, сила поверхностного натяжения).

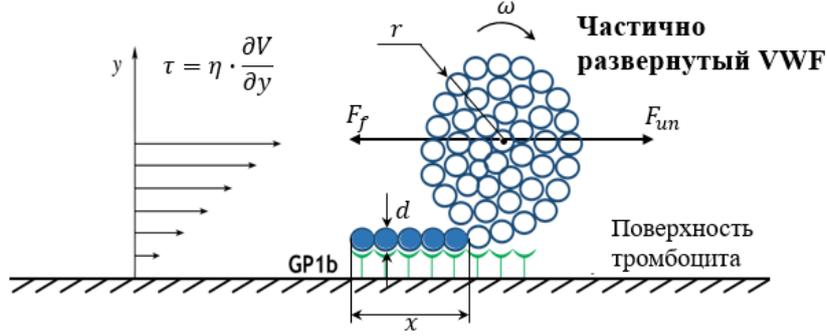


Рисунок 1 — Частично развернутая молекула VWF в нестационарном сдвиговом кровотоке. r – радиус глобулярной части VWF, x – длина развернутой части VWF на поверхности тромбоцита, d – характерный размер мономера VWF, F_{un} – сила, которая разворачивает VWF под действием напряжения сдвига τ , F_f – сила сворачивания, стремящаяся вернуть VWF в глобулярное состояние, η – вязкость крови, ω – скорость вращения глобулярной части VWF, $\partial V/\partial y$ – градиент скорости V , перпендикулярный направлению кровотока.

Для описания динамики разворачивания VWF было использовано уравнение моментов:

$$\frac{d}{dt}(J_r \omega) = (F_{un} - F_f) \cdot r \quad (1)$$

где J_r обозначает момент инерции глобулярной части молекулы VWF.

После подстановки соответствующих значений в данное уравнение получаем уравнение разворачивания VWF по поверхности тромбоцита:

$$\frac{4m_0}{15\sigma\pi} \left[\left(\frac{2r}{d} \right)^7 \right]'' = -\frac{k\tau(t)d}{4\sigma} \left(\frac{2r}{d} \right)^3 + \left(\frac{2r}{d} \right) - 1 \quad (2)$$

Уравнение (2) позволяет ввести обобщенную координату $q = (2r/d)^7$, $\tilde{\tau} \equiv k\tau d/4\sigma$ – безразмерное напряжение сдвига. Соответственно уравнение (2) принимает следующую безразмерную форму:

$$q'' = -\tilde{\tau}q^{\frac{3}{7}} + q^{\frac{1}{7}} - 1 \quad (3)$$

где $0 \leq q \leq q_n$. $q = 0$ соответствует полностью развернутому VWF, а $q = q_n = (3N/2)^{7/3}$ – глобулярному VWF, N – количество мономеров в VWF. Уравнение описывает переход VWF из глобулярного состояния в полностью развернутое под действием сдвигового напряжения.

На рисунке 2 приведены фазовые портреты системы при изменении величины действующего напряжения сдвига τ . В начальный момент времени система находится в точке $(q_n; 0)$, соответствующей VWF в глобулярном состоянии с нулевым импульсом.

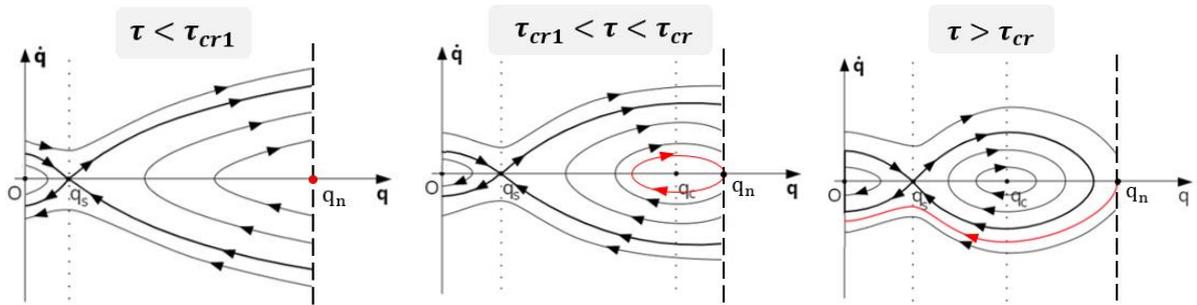


Рисунок 2 — Фазовые портреты системы при изменении напряжения сдвига τ . τ_{cr1} — критическая величина τ , выше которой начинается разворачивание VWF, τ_{cr} — критическая величина τ , выше которой начинается разворачивание VWF на полную длину. Начальные условия: $q = q_n, \dot{q} = 0$ (VWF в глобулярной форме).

Существует τ_{cr1} — критическая величина τ , выше которой начинается разворачивание VWF. Если $\tau < \tau_{cr1}$, то VWF всегда находится в глобулярном состоянии (даже за бесконечно длительное время не происходит разворачивания VWF). Кроме того, существует τ_{cr} — критическая величина τ , выше которой начинается разворачивание VWF на полную длину. Если $\tau_{cr1} < \tau < \tau_{cr}$, то VWF может разворачиваться частично по поверхности тромбоцита, а при $\tau > \tau_{cr}$ становится возможным разворачивание VWF на полную длину (достижение границы $q = 0$, соответствующей полностью развернутому VWF).

В нестационарных условиях необходимо учитывать как величину (амплитуду), так и длительность действия напряжения сдвига. Характеристикой интенсивности сдвигового действия в условиях нестационарного кровотока является кумулятивное напряжение сдвига (CSS) (Bluestein et al., 1997; Hansen et al., 2015):

$$CSS \equiv \int_{t_{in}}^{t_{out}} \tau(t) dt \quad (4)$$

где $(t_{out} - t_{in})$ — длительность действия напряжения сдвига. В случае действия прямоугольного импульса напряжения сдвига (рисунок 3) амплитудой τ_m и длительностью Δt кумулятивное напряжение сдвига вычисляется по простой формуле:

$$CSS = \tau_m \cdot \Delta t.$$

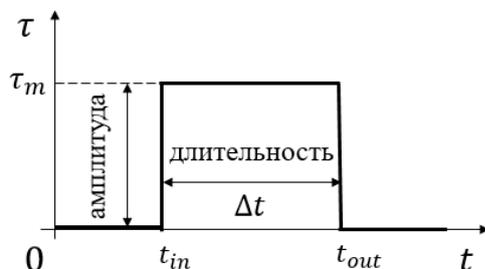


Рисунок 3 — Действие прямоугольного импульса напряжения сдвига. τ_m — амплитуда (величина) напряжения сдвига τ , $\Delta t = t_{out} - t_{in}$ — длительность действия напряжения сдвига.

На рисунке 4 показано поведение системы (VWF) под действием нестационарного напряжения $\tau > \tau_{cr}$ одинаковой амплитуды τ_m , но различной длительности ($\Delta t_1 < \Delta t_2$). Фазовый портрет системы в случае отсутствия действия

напряжения сдвига выделен черным цветом. Под действием прямоугольного импульса напряжения сдвига длительностью Δt_1 фазовая траектория, начинающаяся из точки $(q_n; 0)$ (зеленая точка на рисунке 4), не достигает сепаратрисы и в момент прекращения действия τ возвращается обратно на правую границу $q = q_n$ (VWF остается в глобулярной форме). При большей величине длительности действия τ (Δt_2) фазовая траектория пересекает сепаратрису и в момент отсутствия действия прямоугольного импульса достигает левой границы $q = 0$ (VWF разворачивается на полную длину). Глядя на фазовый портрет системы, становится ясно, что для разворачивания VWF на полную длину изображающая точка, представляющая состояние системы, должна в определенный момент оказаться ниже сепаратрисы. Таким образом, достаточное условие полного разворачивания VWF имеет вид: $|\dot{q}| > |\dot{q}_{cr}|$, который соответствует условию $CSS > CSS_{cr}$, CSS_{cr} – критическое значение кумулятивного напряжения сдвига. После подстановки значений в полученное неравенство удалось найти зависимость CSS_{cr} от количества мономеров в VWF (N).

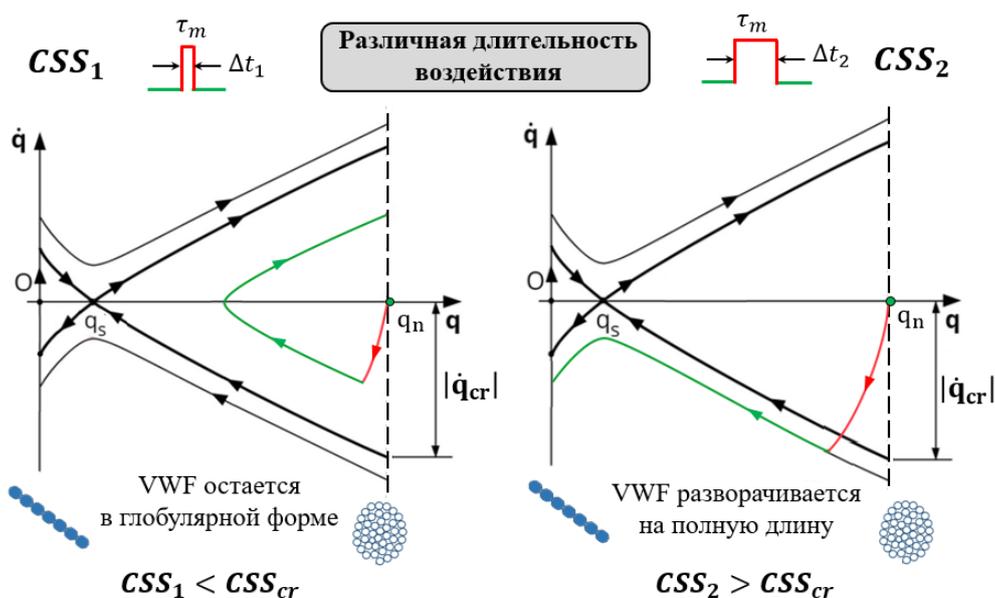


Рисунок 4 — Разворачивание VWF под действием нестационарного сдвигового напряжения $\tau > \tau_{cr}$ различной длительности ($\Delta t_1 < \Delta t_2$). Начальные условия: $q = q_n, \dot{q} = 0$ (VWF в глобулярной форме). $|\dot{q}_{cr}|$ – модуль критического импульса напряжения сдвига. CSS_{cr} – критическая величина кумулятивного напряжения сдвига. $CSS_1 = \tau_m \cdot \Delta t_1$, $CSS_2 = \tau_m \cdot \Delta t_2$ ($CSS_1 < CSS_2$).

Условия разворачивания VWF на полную длину в зависимости от числа мономеров

При исследовании динамики разворачивания VWF по поверхности тромбоцита под действием нестационарного сдвигового напряжения было показано, что кумулятивное напряжение сдвига должно превышать критическое значение CSS_{cr} , величина которого зависит от количества мономеров в VWF, N ($CSS > CSS_{cr}(N)$).

Причем при вычислении CSS должны учитываться только те напряжения сдвига τ , которые приводят к полному разворачиванию VWF с количеством мономеров N ($\tau > \tau_{cr}(N)$). Соответствующие степенные зависимости выглядят следующим образом (рисунок 5):

$$\tau_{cr} \sim N^{-2/3} \quad (5)$$

$$CSS_{cr} \sim N^{1/3} \quad (6)$$

Графики иллюстрируют тот факт, что для разворачивания на полную длину больших мультимеров VWF требуются меньшие по величине напряжения сдвига (то есть большие мультимеры VWF легче разворачиваются). В случае действия одинакового по величине напряжения сдвига для разворачивания больших по размеру VWF требуется более длительное воздействие со стороны кровотока, чем для маленьких VWF.

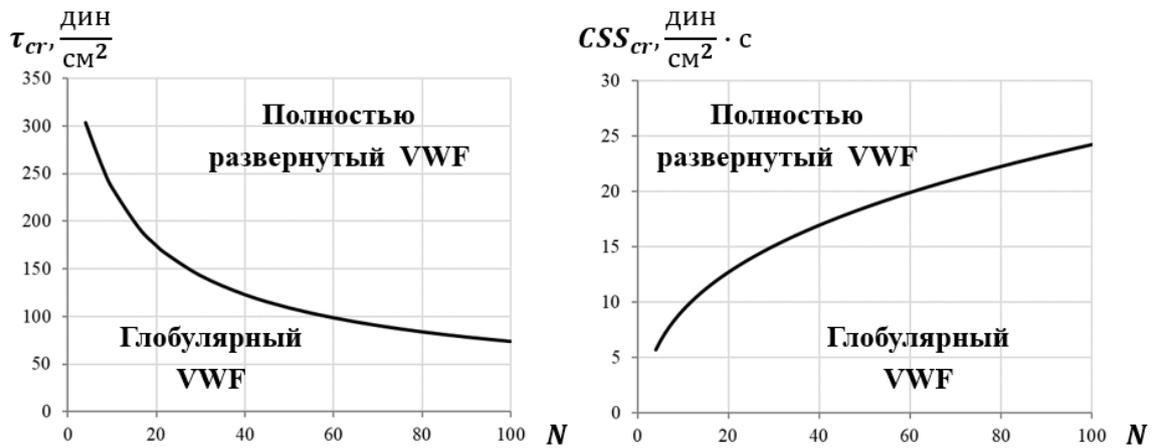


Рисунок 5 — Зависимость критических значений CSS_{cr} и τ_{cr} от количества мономеров N .

Математическая модель для оценки гидродинамической активации тромбоцитов в сосудах со сложной геометрией

Расчет уровня гидродинамической активации тромбоцитов в сосудах со сложной геометрией выполнялся в несколько шагов. На первом шаге для определения скорости и давления в каждой ячейке сосуда решались нестационарные уравнения Навье-Стокса. Далее по найденным скоростям вычислялась величина напряжения сдвига (τ). Затем напряжение сдвига использовалось для вычисления распределения кумулятивного напряжения сдвига (CSS) в сосуде согласно уравнению:

$$\frac{\partial CSS}{\partial t} + \left(V_x \frac{\partial}{\partial x} + V_y \frac{\partial}{\partial y} + V_z \frac{\partial}{\partial z} \right) CSS = \tau \cdot \theta(\tau - \tau_{cr}(N)) \quad (7)$$

где t – время, V_i – компоненты скорости, $\theta(\tau - \tau_{cr})$ – функция Хевисайда. В соответствии с формулой (7) при расчете кумулятивного напряжения сдвига учитывались только те напряжения сдвига, значение которых превышало пороговое значение τ_{cr} . При решении уравнения (7) на входном сечении сосуда ставилось условие

равенства CSS нулю. На выходном сечении задавалось условие равенства нулю градиента CSS . На стенках полагалось выполненным условие непроницаемости.

На втором шаге полученное распределение CSS в сосуде использовалось для расчета концентрации активированных тромбоцитов (P_a):

$$\frac{\partial P_a}{\partial t} + \left(V_x \frac{\partial}{\partial x} + V_y \frac{\partial}{\partial y} + V_z \frac{\partial}{\partial z} \right) P_a = k \cdot P \cdot \theta(CSS - CSS_{cr}(N)) \quad (8)$$

где P – концентрация неактивированных тромбоцитов с закрепленными на их поверхности мультимерами VWF в глобулярном состоянии, P_0 – начальная концентрация тромбоцитов, $P_0 = P + P_a$, k – константа скорости, $P_0 = 2 \cdot 10^5 \text{мкл}^{-1}$. При решении уравнения (8) на входном сечении сосуда ставилось условие $P_a = 0$. На выходном сечении сосуда задавалось условие равенства нулю градиента концентрации активированных тромбоцитов. На стенках полагалось выполненным условие непроницаемости.

На третьем шаге проводился расчет величины, характеризующей уровень гидродинамической активации тромбоцитов в сосуде, PAL (Platelet Activation Level):

$$PAL = \left(\frac{1}{\Delta t} \int_{t_0}^{t_0 + \Delta t} \frac{J_a}{J_\Sigma} dt \right) \cdot 100\% \quad (9)$$

где t_0 – время начала сердечного цикла, Δt – длительность сердечного сокращения, J_a – поток активированных тромбоцитов через сечение сосуда на выходе, а J_Σ – общий поток тромбоцитов через сечение сосуда на выходе. По смыслу PAL – это доля активированных тромбоцитов, усредненная за сердечный цикл, на выходе из сосуда.

Зависимость уровня активации тромбоцитов от скорости кровотока для сосуда со сложной геометрией

Для оценки влияния скорости кровотока через сосуд со сложной геометрией (артериовенозная фистула) на гидродинамическую активацию тромбоцитов выполнялась серия расчетов, в ходе которой варьировалась средняя за сердечный цикл величина скорости кровотока (Q) через сосуд. Расчеты проводились при значениях N из диапазона от 10 до 100 мономеров. На рисунке 6 приведены результаты расчетов для количества мономеров в VWF $N = 10$ и $N = 100$. $\tau_{cr}^{10} = 235 \frac{\text{дин}}{\text{см}^2}$ и $\tau_{cr}^{100} = 74 \frac{\text{дин}}{\text{см}^2}$ – критические величины напряжения сдвига, а $CSS_{cr}^{10} = 9,3 \frac{\text{дин}}{\text{см}^2} \cdot \text{с}$ и $CSS_{cr}^{100} = 24,3 \frac{\text{дин}}{\text{см}^2} \cdot \text{с}$ – критические величины кумулятивного напряжения сдвига для $N = 10$ и $N = 100$ соответственно, использованные в вычислительных экспериментах. Найдены критические скорости кровотока через сосуд (Q_{cr}^{10} и Q_{cr}^{100}), ниже которых гидродинамическая активация тромбоцитов не запускается для количества мономеров в VWF $N = 10$ и $N = 100$: $Q_{cr}^{100} = 397 \text{мл/мин}$, $Q_{cr}^{10} = 736 \text{мл/мин}$. Кроме того, были

найлены критические скорости кровотока и для промежуточных величин N . Оказалось, что для больших мультимеров критическая скорость кровотока ниже, чем для маленьких. Это иллюстрирует тот факт, что тромбоциты с крупными мультимерами VWF будут при прочих равных условиях активироваться легче. Из рисунка 6 также следует, что чем больше размер мультимера VWF, тем выше уровень гидродинамической активации тромбоцитов при одинаковой скорости кровотока. Следовательно, более крупные мультимеры VWF могут представлять более высокий риск гидродинамической активации тромбоцитов в исследованном диапазоне скоростей кровотока для рассмотренного сосуда со сложной геометрией.

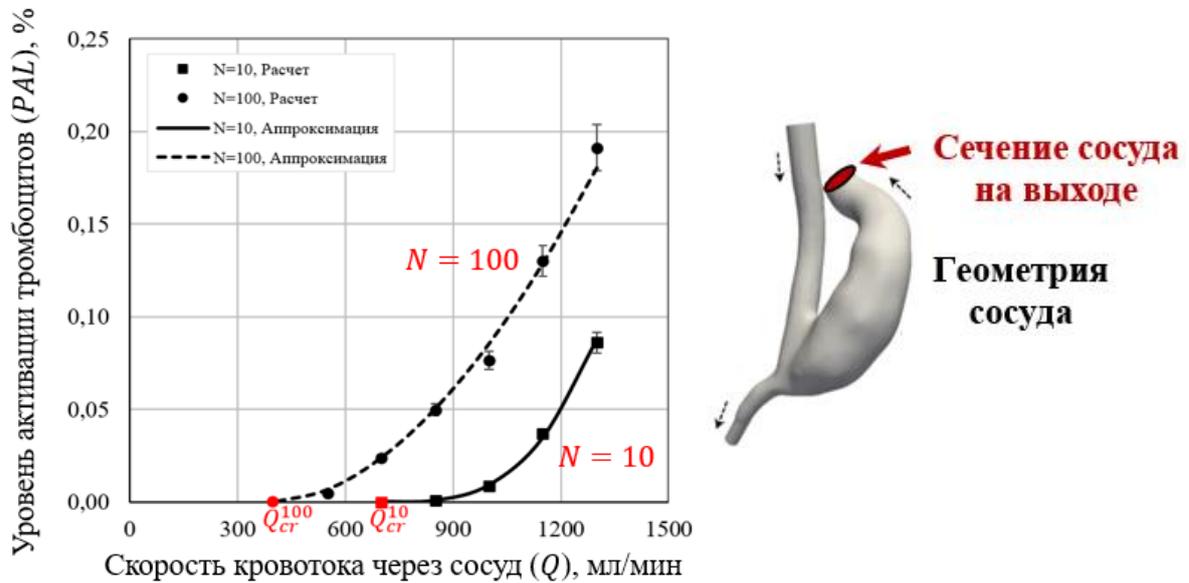


Рисунок 6 — Зависимость уровня активации тромбоцитов (PAL) от скорости кровотока (Q) для сосуда со сложной геометрией. Расчетные точки получены при количестве мономеров в VWF (N), равных 10 и 100. Кривые, аппроксимирующие результаты вычислительных экспериментов при $N = 10$ и $N = 100$, показаны сплошной и пунктирной линиями соответственно. Символами Q_{cr}^{10} и Q_{cr}^{100} обозначены критические значения скорости кровотока через сосуд, ниже которых гидродинамическая активация тромбоцитов не наблюдается, для количества мономеров в VWF 10 и 100 соответственно.

Зависимости уровня активации тромбоцитов от скорости кровотока для различных N были аппроксимированы уравнением следующего вида:

$$PAL = \alpha(Q - Q_{cr})^\beta \quad (10)$$

где α , Q_{cr} и β – параметры аппроксимации.

Определение области активации тромбоцитов в зависимости от критической скорости кровотока и количества мономеров VWF для сосуда со сложной геометрией

В ходе проведения вычислительных экспериментов удалось определить области гидродинамической активации тромбоцитов в зависимости от критической скорости

кровотока и количества мономеров VWF для сосуда со сложной геометрией (рисунок 7). Для построения зависимости использовались полученные в расчетах критические скорости кровотока для различных мультимеров VWF (рисунок 6).

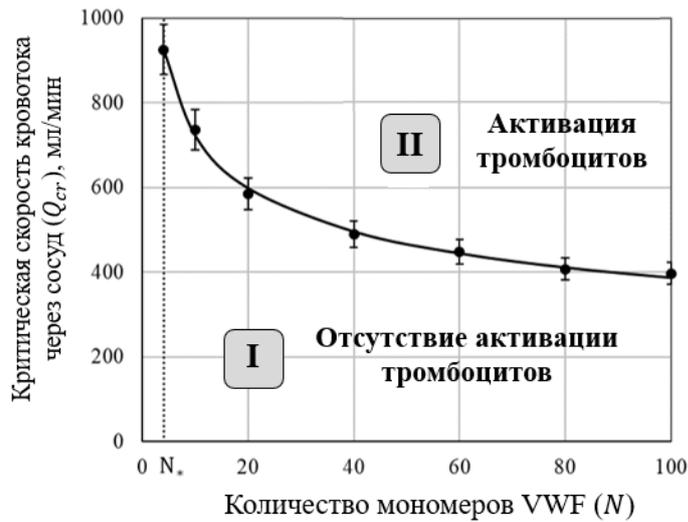


Рисунок 7 — Зависимость критической скорости кровотока от количества мономеров в VWF. Область I соответствует значениям параметров, при которых активация тромбоцитов наблюдаться не должна, область II – при которых может произойти активация тромбоцитов. Величина N_* ($N_* = 4$) – минимальное количество мономеров в VWF, при котором применима модель.

Анализ зависимости критической скорости потока Q_{cr} от размера мультимера VWF позволил выделить две области параметров. Первая область соответствует значениям параметров, при которых гидродинамическая активация тромбоцитов отсутствует (область I). Вторая область – это область значений параметров, при которых должна иметь место гидродинамическая активация тромбоцитов (область II). Критический кровоток монотонно уменьшался с увеличением количества мономеров в VWF. Это иллюстрирует тот факт, что при больших размерах мультимера VWF для запуска гидродинамической активации тромбоцитов необходима более низкая скорость кровотока через сосуд. Для конкретной сложной геометрии сосуда удалось получить зависимость критической скорости кровотока Q_{cr} от количества мономеров в VWF N :

$$Q_{cr} = Q_0 \cdot N^\gamma \quad (11)$$

где Q_0 , γ – постоянные. Найденные значения параметров составили $Q_0 = 1341$ мл/мин, $\gamma = -0,27$. Таким образом, $Q_{cr} \sim N^\gamma$, где γ определяется геометрией сосуда.

Этапы оценки гидродинамической активации тромбоцитов в сосудах со сложной геометрией

Исследование гидродинамической активации тромбоцитов в сосудах со сложной геометрией проводилось в несколько последовательных этапов (рисунок 8).

1. *Реконструкция структуры сосуда.* На первом этапе человек проходил радиологическое исследование сосудов (рисунок 8А) – магнитно-резонансную ангиографию (МРА) без контрастного усиления сосудов (Taylor, Figueroa, 2009). Результатом являлась серия изображений, содержащих информацию об анатомическом

персональных данных с использованием известных методов вычислительной гидродинамики (ВГД) (Taylor, Figueroa, 2009, Morris et al., 2016). В рамках процедур, направленных на оценку гидродинамической активации тромбоцитов, учитывались как особенности гемодинамики крови, так и сведения о количестве мономеров в VWF.

3. *Визуализация результатов расчетов.* На заключительном этапе проводилась визуализация результатов расчетов в виде изображений и видеороликов (рисунок 8Д). Для этого использовались методы трехмерной визуализации в среде ParaView (Ahrens et al., 2005). Визуализация дает информацию врачам об источнике гидродинамической активации тромбоцитов и её величине.

Влияние геометрии сосуда на гидродинамическую активацию тромбоцита

В качестве сосуда сложной геометрии была выбрана артериовенозная фистула (АВФ) (рисунок 9), представляющая хирургически созданное соединение между артерией и веной пациента для обеспечения необходимого кровотока при проведении процедуры очистки крови от токсинов (гемодиализа). АВФ установлены более чем 2-м миллионам человек в мире. Вследствие интенсивности кровотока в АВФ формируются зоны с высокими напряжениями сдвига, в которых может происходить объемная гидродинамическая активация тромбоцитов. Проблема состоит в том, что длительность функционирования АВФ до их тромбирования варьируется в широких пределах. Причины тромбирования АВФ требуют выяснения.

На первом этапе была проведена реконструкция структуры АВФ пациента (рисунок 9). Кровь поступала в АВФ через проксимальную артерию (РА), а выходила из дистальной артерии (DA) и вены (V).

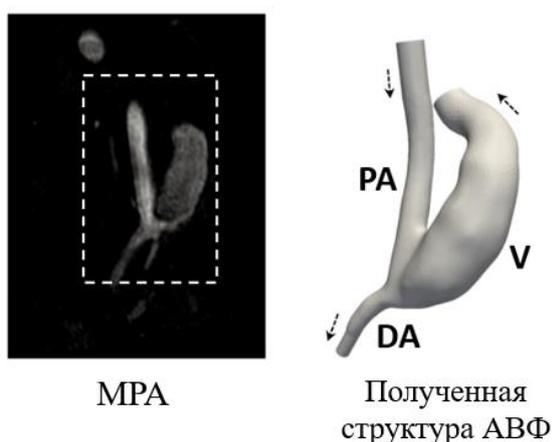


Рисунок 9 — Реконструкция структуры АВФ пациента. Слева показаны исходные данные магнитно-резонансной ангиографии (МРА) без контрастного усиления, справа – полученная структура артериовенозной фистулы (АВФ) пациента. Белый пунктирный прямоугольник на данных МРА указывает на интересующий объем. Стрелки указывают направление течения крови в сосудах фистулы. Кровь поступает через проксимальную артерию (РА), а выходит из дистальной артерии (DA) и вены (V).

На втором этапе использовалась математическая модель для вычисления ключевых характеристик для АВФ пациента, а на третьем – проводилась визуализация рассчитанных величин. На рисунке 10 показано распределение ключевых переменных (скорости V , напряжения сдвига τ , кумулятивного напряжения сдвига CSS

и концентрации активированных тромбоцитов P_a) в АВФ пациента во время систолы (скорость кровотока $Q = 1300$ мл/мин и количество мономеров в VWF $N = 100$).

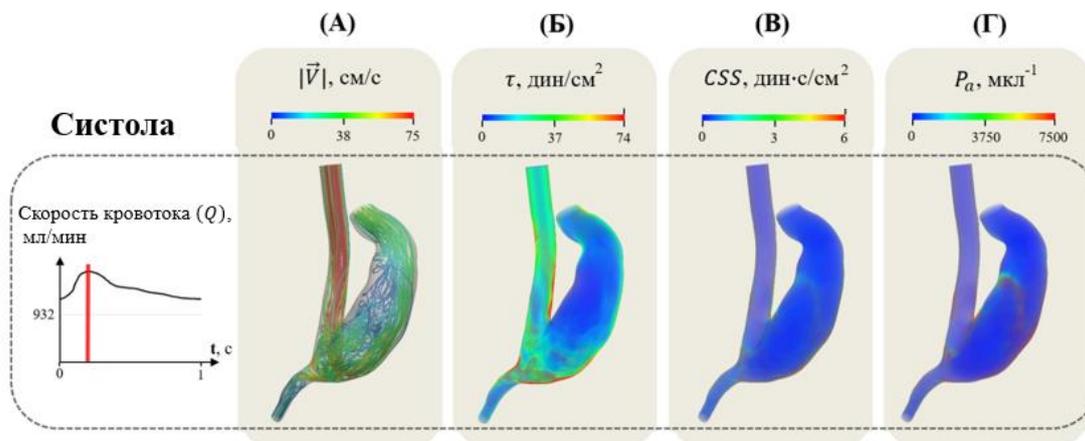


Рисунок 10 — Распределение ключевых характеристик в АВФ пациента. А — Распределение скорости $|\vec{V}|$, Б — напряжения сдвига τ , В — кумулятивного напряжения сдвига CSS , Г — концентрации активированных тромбоцитов P_a в систолу для $Q = 1300$ мл/мин, $N = 100$. Синий цвет соответствует наименьшим значениям рассматриваемых величин, красный — наибольшим.

Было обнаружено, что кровоток в фистульной вене имеет сложный характер на протяжении всего сердечного цикла. Небольшие зоны сверхкритического напряжения сдвига и кумулятивного напряжения сдвига, удовлетворяющие условиям: $\tau > \tau_{cr}$ и $CSS > CSS_{cr}$, находились рядом с проксимальной частью стенки артерии и внешней стенкой фистульной вены соответственно. Наличие этих зон при заданном высоком значении кровотока приводило к малой гидродинамической активации тромбоцитов в фистульной вене на протяжении всего сердечного цикла. Уровень гидродинамической активации тромбоцитов (PAL) не превышал 0,2%.

Далее была проведена оценка влияния геометрии сосудов пациентов на гидродинамическую активацию тромбоцитов. Были определены области гидродинамической активации тромбоцитов в зависимости от критической скорости кровотока и количества мономеров VWF для двух различных геометрий АВФ (рисунок 11). Области значений параметров, расположенные выше каждой из построенных критических кривых, соответствуют наличию гидродинамической активации тромбоцитов, а ниже — ее отсутствию. Точками отмечены найденные в расчетах критические скорости кровотока через вену АВФ (Q_{cr}) при соответствующем значении количества мономеров VWF (N). Отличие между фистулами состояло в том, что АВФ у первого пациента была сформирована в районе локтя, а у второго — в районе запястья.

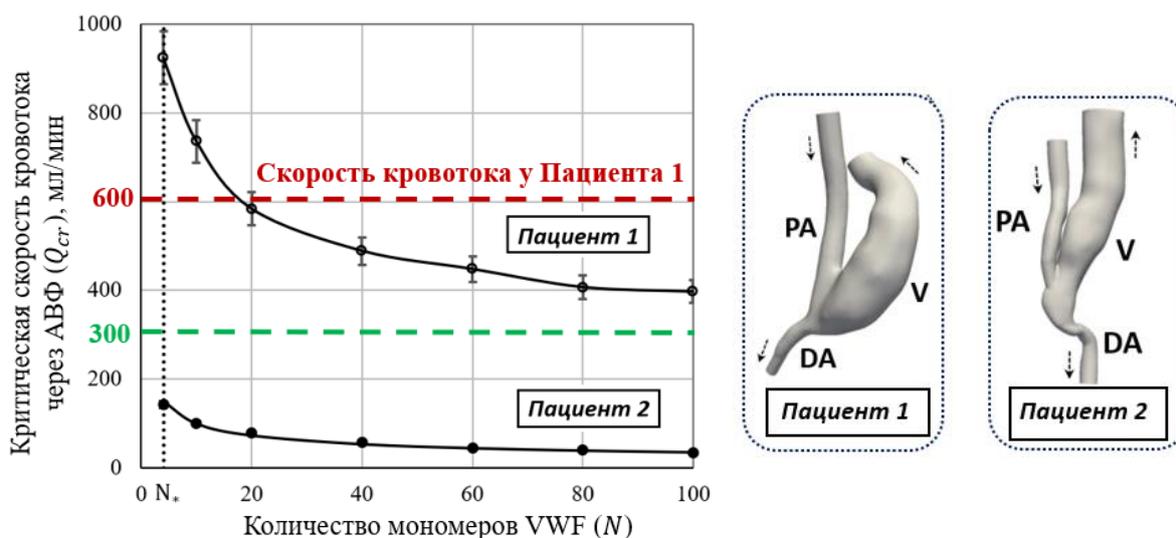


Рисунок 11 — Зависимость критической скорости кровотока от количества мономеров в VWF для АВФ двух пациентов. Справа показаны геометрии АВФ пациентов. Зеленая пунктирная линия соответствует рекомендуемой стандартами скорости кровотока в АВФ, ниже которой АВФ не может функционировать. Красная пунктирная линия отображает скорость кровотока у первого пациента.

Известно, что рекомендуемая стандартами скорость кровотока в АВФ составляет 300 мл/мин. Если скорость кровотока ниже указанного значения, то АВФ не может выполнять свою функцию и, как следствие, происходит её замена. Из рисунка 11 следует, что в АВФ первого пациента уровень гидродинамической активации тромбоцитов оставался нулевым до скоростей кровотока, не превышающих 400 мл/мин. В то же время критические скорости потока для АВФ второго пациента были значительно ниже, чем 300 мл/мин. Это говорит о том, что в данном случае во всем клинически рекомендованном диапазоне скоростей потока (больше 300 мл/мин) гидродинамическая активация тромбоцитов должна иметь место. Можно сделать вывод, что АВФ второго пациента непригодна к использованию, требуется её замена.

На основании сведений о величине скорости кровотока через АВФ пациента, используя найденные области, можно определить, мультимеры какой длины вносят наибольший вклад в гидродинамическую активацию тромбоцитов. К примеру, если скорость кровотока первого пациента составляет 600 мл/мин, то из рисунка 11 следует, что VWF с $N > 20$ должны приводить к запуску гидродинамической активации тромбоцитов. В таких случаях для уменьшения гидродинамической активации тромбоцитов целесообразно медикаментозно уменьшать количество длинных VWF. С этой целью используется протеаза ADAMTS-13, которая режет длинные VWF на мелкие мультимеры. Таким образом, разработанные модели дают возможность вырабатывать практические рекомендации по уменьшению уровня гидродинамической активации тромбоцитов в сосудах со сложной геометрией с интенсивной гемодинамикой.

Гидродинамическая активации тромбоцитов в модельных артериовенозных фистулах

Проанализировано влияние типа соединения сосудов в АВФ (конфигурации АВФ) и величины угла сшивки сосудов АВФ на уровень гидродинамической активации тромбоцитов. Использование предложенной оценки позволило определить области гидродинамической активации тромбоцитов в зависимости от критической скорости кровотока и количества мономеров в VWF (критическая кривая) для различных типов соединения сосудов (конфигураций) в АВФ (рисунок 12). Гидродинамическая активация тромбоцитов должна происходить при величинах параметров из областей, находящихся над критическими кривыми, и отсутствовать в соответствующих нижележащих областях. Различными символами обозначены найденные в вычислительных экспериментах критические скорости кровотока Q_{cr} для каждого N . Полученные в расчетах точки были аппроксимированы критическими кривыми вида (11).

Существует четыре типа соединения сосудов (конфигураций) в АВФ: «бок вены в бок артерии», «конец вены в конец артерии», «конец вены в бок артерии» и «бок вены в бок артерии» (справа на рисунке 12).

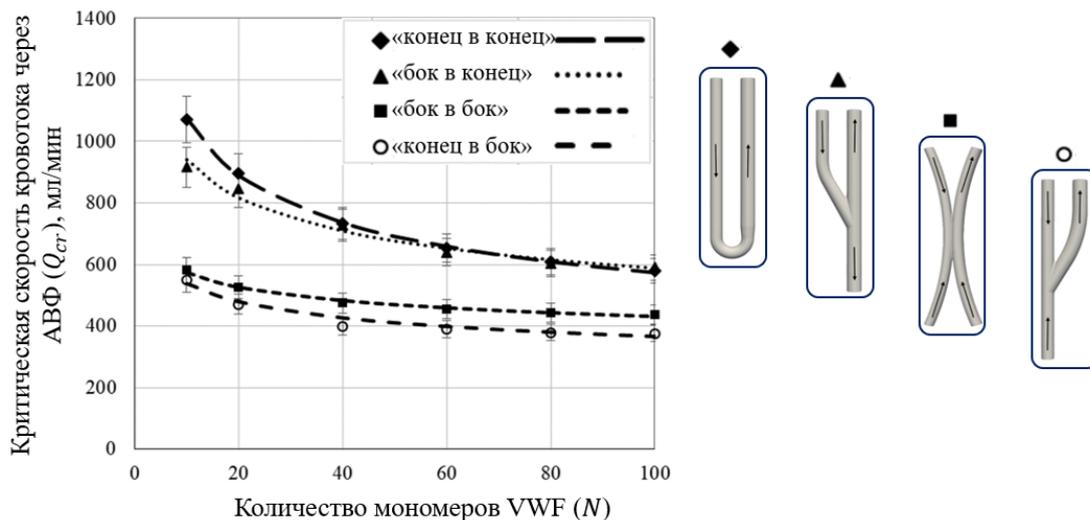


Рисунок 12 — Зависимость критической скорости кровотока от количества мономеров в VWF для различных типов соединения сосудов в АВФ: «конец вены в конец артерии», «бок вены в бок артерии», «конец вены в бок артерии». Различными символами обозначены найденные в вычислительных экспериментах Q_{cr} для каждого N . Гидродинамическая активация тромбоцитов должна происходить в областях, расположенных выше критических кривых, и отсутствовать в соответствующих нижележащих областях.

Из рисунка 12 следует, что критические кривые, разделяющие области значений параметров, соответствующие наличию и отсутствию гидродинамической активации тромбоцитов, для типов соединения «конец в конец» и «бок в конец» находятся над кривыми, полученными для типов соединения «бок вены в бок артерии» и «конец вены

в бок артерии». Для типов соединения сосудов в АВФ «конец вены в конец артерии» и «бок вены в конец артерии» значения Q_{cr} при количестве мономеров в VWF, больших сорока, почти равны. Однако при количестве мономеров в VWF, превышающих сорок, критическая кривая для типа соединения сосудов «бок вены в конец артерии» расположена ниже. Для наиболее используемой на практике конфигурации АВФ «конец вены в бок артерии» критическая кривая находится гораздо ниже для всех значений N , чем для других типов соединения сосудов в АВФ. Можно сделать вывод, что АВФ с типом соединения сосудов «конец вены в бок артерии» вызывает активацию тромбообразования гидродинамическим путем при более низких скоростях кровотока, чем остальные конфигурации АВФ. Расчеты показали, что среди рассмотренных сосудистых конфигураций АВФ наиболее безопасной является соединение «конец вены в конец артерии».

Использование предложенных моделей позволило также определить области гидродинамической активации тромбоцитов в зависимости от критической скорости кровотока и количества мономеров в VWF для различных величин углов сшивки сосудов в стандартно используемой конфигурации АВФ «конец вены в бок артерии». На рисунке 13 найдены области гидродинамической активации тромбоцитов в зависимости от Q_{cr} и N для предельных углов сшивки сосудов в АВФ 150° (кривая (а)) и 30° (кривая (б)).

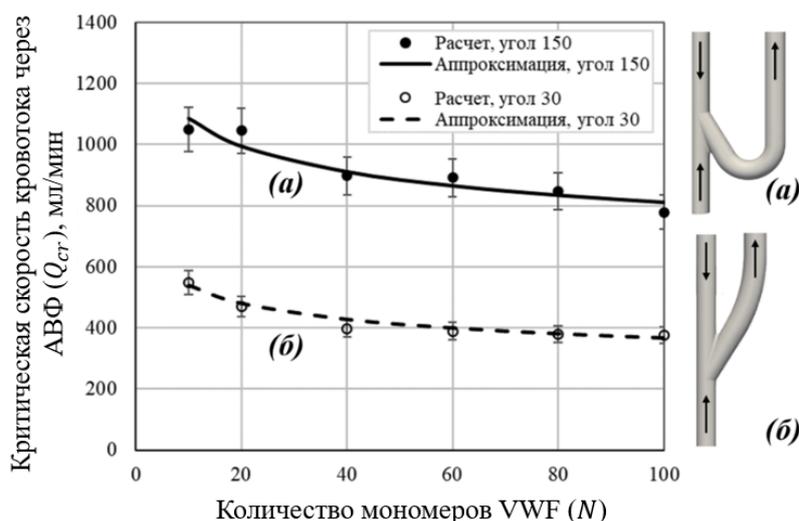


Рисунок 13 — Зависимость критической скорости кровотока от количества мономеров в VWF для углов сшивки сосудов в АВФ: 150° (кривая (а)), 30° (кривая (б)). АВФ с типом соединения сосудов «конец вены в бок артерии». Символами обозначены критические скорости кровотока Q_{cr} для каждого N , полученные в расчетах. Гидродинамическая активация запускается в областях, расположенных выше критических кривых, и должна отсутствовать в соответствующих нижележащих областях.

Оказалось, что для острого угла сшивки сосудов 30° критическая кривая, отделяющая две области, находится ниже для всех рассмотренных N , чем для тупого

угла сшивки сосудов 150° . Следовательно, гидродинамическая активация тромбоцитов в АВФ с острым углом сшивки 30° запускается при более низких величинах кровотока, чем для АВФ с тупым углом сшивки 150° . Различие между величинами Q_{cr} для предельных углов сшивки в АВФ – более 400 мл/мин. Из рисунка 13 следует, что в АВФ с наиболее часто используемым типом соединения сосудов «конец вены в бок артерии» при увеличении угла сшивки сосудов уменьшаются риски запуска гидродинамической активации тромбоцитов.

Заключение

В рамках представленного исследования разработаны математические модели, позволяющие исследовать механизм гидродинамической активации тромбоцитов в нестационарных интенсивных течениях крови в сосудах со сложной геометрией. В основе этого механизма – разворачивание макромолекул фактора фон Виллебранда (VWF) на поверхности тромбоцитов под действием нестационарных сдвиговых напряжений, которое и приводит к активации тромбоцитов. Показано, что для запуска активации тромбоцитов требуется превышение критического значения величины кумулятивного напряжения сдвига (CSS_{cr}), при котором мультимеры VWF разворачиваются на полную длину. Предложен показатель **PAL**, характеризующий уровень гидродинамической активации тромбоцитов при участии мультимеров VWF в зависимости от скорости кровотока Q . Найдены критические скорости кровотока (Q_{cr}), ниже которых активация тромбоцитов посредством мультимеров VWF не должна иметь место. Определена зависимость Q_{cr} от количества мономеров (N) в мультимере VWF и геометрии сосуда: $Q_{cr} \sim N^\gamma$, где γ определяется геометрией сосуда. Полученные на основе математических моделей выражения, таким образом, позволяют определять уровень гидродинамической активации тромбоцитов (**PAL**) в зависимости от критической скорости кровотока (Q_{cr}), количества мономеров (N) в мультимере VWF и области сосуда со сложной геометрией.

Проведена оценка гидродинамической активации тромбоцитов в сосудах, конфигурация которых соответствует реально существующим в медицинской практике типам сосудов. Реконструкция структуры сосуда человека, использование математической модели для расчета активации тромбоцитов и визуализация результатов моделирования обеспечивают выявление областей сосуда, где происходит активация тромбоцитов. На основе данных, полученных методами медицинской визуализации (магнитно-резонансной ангиографии), с помощью открытых программных средств осуществлялось восстановление персональных особенностей конфигурации сосуда человека. На следующем этапе с помощью разработанных

математических моделей осуществлялась оценка уровня гидродинамической активации тромбоцитов для определенной на предыдущем этапе конфигурации сосуда. На последнем этапе определялись области сосуда, где происходит активация тромбоцитов, и, следовательно, существует максимальный риск тромбообразования.

Исследование влияния сложной геометрии на гидродинамическую активацию тромбоцитов позволило выбрать оптимальную конфигурацию хирургически модифицированного сосуда (артериовенозной фистулы, АВФ), соответствующей наименьшему риску тромбообразования. Результаты работы дают основания полагать, что тупые углы сшивки сосудов в АВФ являются более безопасными с точки зрения запуска гидродинамической активации тромбоцитов, чем традиционно используемые на практике острые. Расчеты показали, что среди рассмотренных сосудистых конфигураций АВФ наиболее безопасной является соединение «конец вены в конец артерии».

Проведенное в работе исследование на основе разработанных математических моделей показало, что уровень активации тромбоцитов (*PAL*) определяется комплексным влиянием скорости кровотока (*Q*), количества мономеров в VWF (*N*) и геометрией сосуда (АВФ). Кроме того, предложенная система оценки уровня гидродинамической активации тромбоцитов позволяет учитывать такие особенности геометрии сосудов в АВФ, как изменение угла сшивки сосудов и тип сшивки сосудов, а также определять направления кровотока в таких сосудах.

Использование предложенных в работе моделей дает возможность вырабатывать практические рекомендации по уменьшению уровня гидродинамической активации тромбоцитов как путем управления биомеханическими параметрами кровотока (изменением геометрии АВФ), так и за счет регулирования количества мономеров в VWF. К перспективным практически значимым приложениям результатов работы можно отнести полученную на основании моделирования и визуализации решений модели информацию об источнике гидродинамической активации тромбоцитов и её величине, а также рекомендации по хирургической установке АВФ. Открываются перспективы для персонализированной оценки гидродинамической активации тромбоцитов не только в артериовенозных фистулах, но и в сосудах, сопряженных с аппаратами вспомогательного кровообращения, в сосудах с высокой степенью стенозирования.

Работа выполнена при частичной поддержке гранта РФФИ №19-11-00260.

Выводы

1. Разворачивание фактора фон Виллебранда (VWF) на полную длину в интенсивном, нестационарном кровотоке происходит, если действие кумулятивного напряжения сдвига больше критической величины (CSS_{cr}).
2. Зависимости критических значений напряжения сдвига (τ_{cr}) и кумулятивного напряжения сдвига (CSS_{cr}) от количества мономеров в VWF (N) подчиняются степенному закону: $\tau_{cr} \sim N^{-\frac{2}{3}}$ и $CSS_{cr} \sim N^{\frac{1}{3}}$.
3. Гидродинамическая активация тромбоцитов в сосудах со сложной геометрией может иметь место только в течениях, в которых скорость кровотока выше критического уровня (Q_{cr}).
4. Зависимость критического значения кровотока (Q_{cr}) от количества мономеров в VWF (N) подчиняются степенному закону: $Q_{cr} \sim N^\gamma$, где γ определяется геометрией сосуда.
5. Уровень активации тромбоцитов (PAL) определяется комплексным влиянием скорости кровотока (Q), количества мономеров в VWF (N) и геометрией сосуда.
6. Разработанные модели дают возможность вырабатывать практические рекомендации по уменьшению уровня гидродинамической активации тромбоцитов в сосудах со сложной геометрией.

Основные публикации Салиховой Татьяны Юрьевны по теме диссертации в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в базах данных Web of Science, Scopus, RSCI, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности 1.5.2 – биофизика (биологические науки) (в скобках приведен импакт-фактор журнала, объем публикации в печатных листах / вклад автора в печатных листах).

1. **Salikhova T. Yu., Pushin D. M., Nesterenko I. V., Biryukova L. S., Guria G. Th.** Patient specific approach to analysis of shear-induced platelet activation in haemodialysis arteriovenous fistula // PLoS ONE. — 2022. — Vol. 17, No. 10. — P. e0272342 (SJR 0.89, 1.125 / 0.450 п.л.).
2. **Салихова Т. Ю., Пушин Д. М., Гурия Г. Т.** Исследование гидродинамической активации тромбоцитов в артериовенозных фистулах для гемодиализа // Компьютерные исследования и моделирование. — 2023. — Т. 15, № 3. — С. 703–721 (SJR 0.26, 1.063 / 0.425 п.л.).

3. Pushin D. M., **Salikhova T. Y.**, Zlobina K. E., Guria G. Th. Platelet activation via dynamic conformational changes of von Willebrand factor under shear // PLoS ONE. — 2020. — Vol. 15, No. 6. — P. e0234501 (**SJR 0.89, 1.188 / 0.356 п.л.**).
4. Pushin D. M., **Salikhova T. Yu.**, Biryukova L. S., Guria G. Th. Loss of stability of the blood liquid state and assessment of shear-induced thrombosis risk // Radiophysics and Quantum Electronics. — 2021. — Vol. 63, No. 9–10. — P. 804–825 (**SJR 0.25, 1.375 / 0.412 п.л.**).