



**Конкурс работ молодых ученых «Просто о сложном»
Научно-популярная статья победителей I степени Москаленского
Александра Ефимовича (к.ф.-м.н., заведующий лабораторией,
Новосибирский государственный университет, г.Новосибирск) и
Обыденного Сергея Ивановича (н.с., НМИЦ ДГОИ им. Рогачева,
г.Москва)**

На пути к уравнениям для остановки кровотечения¹

Введение

Вы когда-нибудь задумывались, почему небольшие кровотечения прекращаются сами по себе? Например, когда у нас берут для анализа кровь из пальца, она через некоторое время сворачивается, и ранка затягивается. Оказывается, в нашем организме существует специальная система, задача которой – остановка кровотечений. Она так и называется – система гемостаза: «гемо» происходит от греческого αίμα (*haimo*) – кровь, а вторая часть – от слова στάσις (*stasis*), которое означает «остановка».

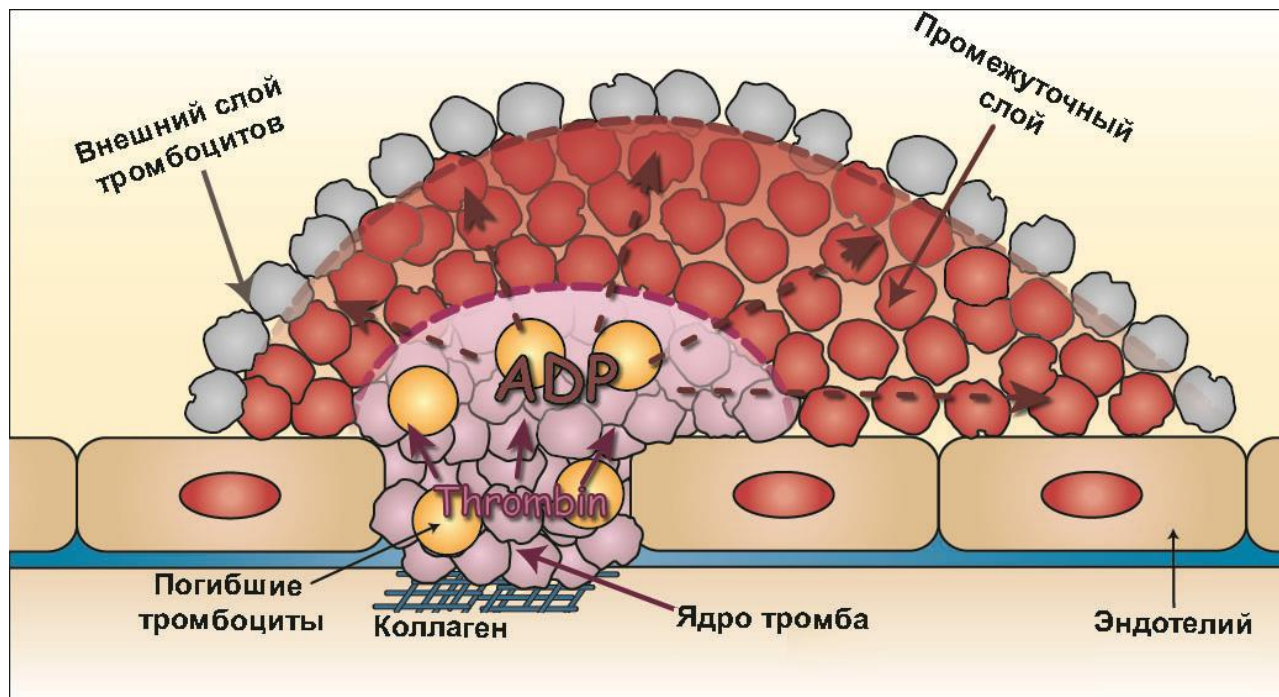
Кровотечение возникает из-за того, что нарушается целостность сосудов. На это сразу же реагируют специальные клетки – тромбоциты, или кровяные пластинки. Они способны «прилипнуть» к повреждённым стенкам сосудов и друг к другу, образуя механическую пробку, которая препятствует вытеканию крови. После этого в дело вступают более медленные ферментативные каскады свёртывания и образуется прочный тромб, а ранка затягивается.

По количеству тромбоциты уступают лишь эритроцитам – клеткам, переносящим кислород. Однако эритроциты движутся по центру потока крови, а тромбоциты – вдоль сосудистой стенки, всё время «патрулируя» её целостность. Как им это удаётся? Объяснение было дано лишь недавно физиками и математиками. Оказалось, что всё дело в свойствах движения жидкости, содержащей два типа клеток. Но тромбоциты скрывают в себе ещё множество загадок, которые предстоит решить: до конца не ясно, как они успевают за доли секунды среагировать на повреждение сосуда, становясь готовыми к адгезии (прилипанию к повреждённому участку) и агрегации (слипанию друг с другом). Это быстрое изменение физических свойств тромбоцита называется активацией.

¹ Научно-популярная статья основана на материалах публикаций:

1. Shakhidzhanov S.S., Shaturny V.I., Panteleev M.A., Sveshnikova A.N. Modulation and pre-amplification of PAR1 signaling by ADP acting via the P2Y12 receptor during platelet subpopulation formation. *Biochim. Biophys. Acta*, 2015, 1850, 12.
2. Sveshnikova A.N. et al. Compartmentalized calcium signaling triggers subpopulation formation upon platelet activation through PAR1. *Mol. Biosyst.*, 2015, 11, 4.
3. Obydenny S.I., Sveshnikova A.N. et al. Dynamics of calcium spiking, mitochondrial collapse and phosphatidylserine exposure in platelet subpopulations during activation. *J. Thromb. Haemost.*, 2016, 14, 9.
4. Moskalensky A.E. et al. Accurate measurement of volume and shape of resting and activated blood platelets from light scattering. *J. Biomed. Opt.*, 2013, 18, 1.
5. Litvinenko A.L., Moskalensky A.E. et al. Fluorescence-free flow cytometry for measurement of shape index distribution of resting, partially activated, and fully activated platelets. *Cytometry A*, 2016, 89, 11.
6. Moskalensky A.E. et al. Method for the simulation of blood platelet shape and its evolution during activation. Accepted to *PLoS. Comp. Biol.*, 2018.
7. Moskalensky A.E. et al. Additivity of light-scattering patterns of aggregated biological particles. *J. Biomed. Opt.*, 2014, 19, 8.

Во время активации на поверхности клетки появляются новые рецепторы, меняется её форма, а ещё тромбоциты выбрасывают во внешнюю среду... вещества, активирующие другие тромбоциты! Волна активации нарастает, как лавина. Просто раздолье для физиков – ведь это настоящая нелинейная обратная связь, а ещё сложные взаимосвязи гидродинамики, механики и химической кинетики. Поэтому множество лабораторий во всём мире начинают изучать свойства тромбоцитов именно с точки зрения биофизики.



На рисунке приведена схема тромботической «пробки» в современном представлении. Тромбин (Thrombin) – сильный активатор, синтезируемый на поверхности погибших тромбоцитов. АДФ (ADP) – более слабый активатор, выделяемый любыми погибшими клетками или при не фатальной активации тромбоцитов. Коллаген – нерастворимый белок межклеточного матрикса, также сильный активатор тромбоцитов. В результате получается несколько слоев активированных в различной степени тромбоцитов. С изменениями из работы [1].

Зачем это всё нужно?

Действительно, зачем изучать тромбоциты? Ведь эти клетки и так работают, а у физиков есть гораздо более масштабные задачи – поиск тёмной материи, освоение термоядерной энергетики, полёт на Марс, наконец. Но то, как работает наш организм, подчас не менее загадочно, чем строение Вселенной. Простой пример: с помощью известных уравнений можно точно вычислить положение Марса относительно Земли через, скажем, шесть месяцев. А вот сколько раз за эти шесть месяцев у человека заболит голова, предсказать невозможно: уравнений нет. Математическое описание система гемостаза и тромбоцитов – это шаг к пониманию работы всего организма.

Но есть и совершенно конкретные проблемы, требующие решения. Например, многие люди страдают от избыточного образования тромбов, что может быть очень опасным – ведь такой тромб внутри организма может закупорить жизненно важные сосуды. Врачи вынуждены назначать таким пациентам специальные препараты, чтобы заблокировать активность тромбоцитов. Часто одного препарата недостаточно, приходится использовать сразу несколько, со всеми вытекающими проблемами побочных эффектов и привыкания. Лучшее

понимание работы тромбоцитов может привести к более эффективным средствам антитромбоцитарной терапии. Но и не только: если вы знаете, как работает система, вы можете её настраивать и даже использовать в других целях!

Например, учёные из США проводили изучение нано-механических свойств тромбоцитов [2]. Для этого измеряли деформацию одиночных клеток при растяжении. Выяснилось, что тромбоциты способны активно сопротивляться растяжению, прилагая силы в ответ на механические и биохимические стимулы. Эти же силы дают вклад в сокращение тромбов – процесс, благодаря которому затягиваются небольшие ранки. Учёные пошли дальше и решили использовать эти свойства для адресной доставки лекарств. Суть технологии состоит в том, что к тромбоцитам присоединяют нанокапсулы, содержащие медикаменты. После адгезии таких тромбоцитов возникают силы, которые растягивают и разрушают нанокапсулу, и в результате её содержимое высвобождается. Эта технология уже была опробована и действительно помогла пациенту, больному гемофилией [3]. Капсула содержала фактор свёртывания, необходимый для работы ферментативного каскада, который при данном заболевании нарушен.

Подобные методы могут применяться не только для лечения системы гемостаза. В последнее время выясняется, что тромбоциты играют важнейшую роль и в системе иммунитета [4], а также в развитии онкологических заболеваний. Например, при образовании метастаз именно они помогают циркулирующим в крови раковым клеткам закрепиться в определённом месте, присоединяясь к ним. В 2016 году группе учёных удалось предотвратить образование метастаз у больной мыши, разместив на поверхности тромбоцитов специальные антитела, способные убивать раковые клетки [5]. Похожие технологии для визуализации опухолей и адресной доставки к ним лекарств с помощью тромбоцитов были одновременно продемонстрированы и другими группами ([6,7]). При этом учёным приходится изменять физические и биологические свойства тромбоцитов в нужную сторону, что невозможно без детального понимания их работы. И это ещё один аргумент в пользу исследования этих удивительных клеток.

К счастью, тромбоцит – сравнительно простая система: у него нет ядра и ДНК, а значит, набор веществ и биохимических цепочек в клетке достаточно ограничен. Далее мы расскажем, что уже описано с точки зрения биофизики и какие вопросы остаются нераскрытыми.

С чего всё начинается

Начинается всё, разумеется, с начала – с активации тромбоцита. Активация происходит в ответ на различные стимулы: механическое напряжение, понижение температуры, воздействие веществ-активаторов. Такие вещества появляются в крови именно при повреждении сосуда: некоторые содержатся в окружающих тканях, некоторые образуются в начале процесса свёртывания или выбрасываются в кровь тромбоцитами, которые активировались ранее. И, в отличие от механических и тепловых стимулов, действие этих веществ на тромбоциты сравнительно хорошо изучено. Для каждого из них на поверхности клетки имеется специальный рецептор или несколько рецепторов. Как только активатор присоединяется к рецептору, внутри клетки запускается цепочка биохимических реакций, которая в конце концов приводит к повышению концентрации ионов кальция в цитоплазме. Ионы кальция, в свою очередь, запускают множество изменений, которые и делают тромбоцит активированным.

Но не всё так просто: в упомянутых реакциях участвует несколько десятков различных веществ! Потребовались усилия многих биохимиков, чтобы расшифровать все сигнальные пути и измерить константы взаимодействия. Далее в игру вступила системная биология – это наука, которая объединяет все известные данные об объекте в стройную модель, записанную в виде уравнений. В результате была создана система уравнений для передачи сигнала внутри тромбоцита, начиная от присоединения молекулы аденозиндифосфата (АДФ, который является активатором) до появления в клетке ионов кальция [8]. И оказалось, что она описывает лишь усреднённое поведение клеток и не позволяет получить осцилляции, которые видны в экспериментах с одиночными тромбоцитами! Дело в том, что объём тромбоцита такой маленький, что необходимо учитывать случайные флуктуации количества молекул в клетке. К счастью, современные вычислительные алгоритмы позволяют это сделать, и в результате осцилляции были получены и в модели.

Хотя эти результаты улучшили понимание механизма активации, многие важнейшие вещи остаются до сих пор непонятными. Как уже говорилось, в условиях организма работают сразу несколько активаторов. Когда они действуют по отдельности, можно использовать модель для АДФ, подставив в неё уравнения для соответствующего рецептора. Но при совместном действии активаторов возникают совершенно неожиданные эффекты. Одновременное воздействие сверхмалых доз АДФ и тромбина, которые по отдельности не способны вызвать хоть сколько-нибудь заметный эффект, приводит к сильной активации. В 2015 году группа учёных экспериментально измерила реакцию клеток на активацию несколькими веществами [9]. Эти данные доступны мировому научному сообществу, но до сих пор никто не может их объяснить теоретически. Объяснение этого синергетического эффекта в действии активаторов сейчас является одним из самых «горячих» направлений в биофизике тромбоцитов. Успехов достигла команда биофизиков из Москвы: с помощью компьютерного моделирования они показали, что синергетические эффекты опосредованы циклоАМФ – одним из веществ-посредников в передаче сигнала активации [1]. Слабое воздействие АДФ не приводит к активации, но уменьшает концентрацию циклоАМФ в клетке. А при пониженной концентрации циклоАМФ порог реакции на тромбин снижается.

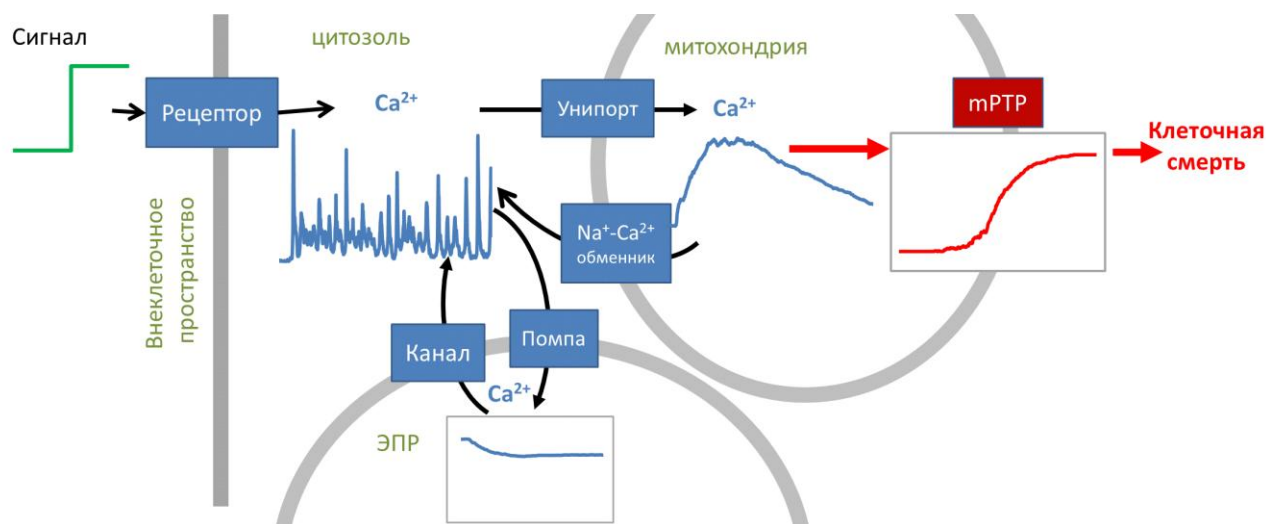
Но не стоит забывать ещё и про вклад в активацию механических напряжений. Оказывается, достаточные для активации напряжения возникают при атеросклерозе – когда в крупных сосудах образуются так называемые бляшки. Они сужают просвет, скорость потока крови увеличивается, тромбоциты деформируются... и далее происходит их активация со всеми вытекающими последствиями: ещё большее сужение просвета сосуда или образование оторвавшихся тромбов, которые могут привести к самым печальным последствиям. Сейчас во многих лабораториях проводятся экспериментальные исследования механической активации тромбоцитов с целью повлиять на этот процесс и уменьшить риск для больных атеросклерозом. Недавно у тромбоцитов были обнаружены специальные механорецепторы – молекулы, которые при механических напряжениях запускают каскад, приводящий к росту концентрации ионов кальция в клетке. Как и любые рецепторы, эти молекулы можно ингибировать (заблокировать), что очень сильно уменьшает вероятность образования тромбов [10].

Тромбоциты-герои

Так или иначе, но активация приводит к резкому росту концентрации ионов кальция в цитоплазме тромбоцита. Ионы кальция – это весьма часто встречающийся в биологии эффектор, они даже участвуют в образовании нейронных связей в мозгу. Тромбоцитам, как и нейронам, необходимо быстро реагировать на изменения окружающей среды. Под

действием сильного стимула концентрация ионов кальция в клетке может вырасти в десятки раз за миллисекунды! К чему же приводят такие резкие изменения?

Слишком большая концентрация ионов кальция в цитоплазме может быть токсичной для клетки. И некоторые тромбоциты действительно погибают в результате активации. Но они гибнут не зря: на поверхности таких клеток появляются вещества, которые ускоряют свёртывание крови, поэтому их называют прокоагулянтами. Прокоагулянтные тромбоциты крайне важны для системы гемостаза, но не менее важно, чтобы часть клеток оставалась живой и способной к агрегации и адгезии. Каким образом тромбоциты делят между собой эти обязанности и формируют две отдельные популяции, долгое время оставалось неясным. Лишь в 2015 году команда биофизиков из Москвы смогла объяснить, как тромбоцит «принимает решение», к какой группе присоединиться [11]. Для этого они создали математическую модель клетки, в которой учитывалось наличие митохондрий. Митохондрии – внутриклеточные органеллы, которые при слишком большой концентрации ионов кальция разрушаются и гипотетически приводят к смерти клетки. В следующем году эта гипотеза была подтверждена экспериментально [12].

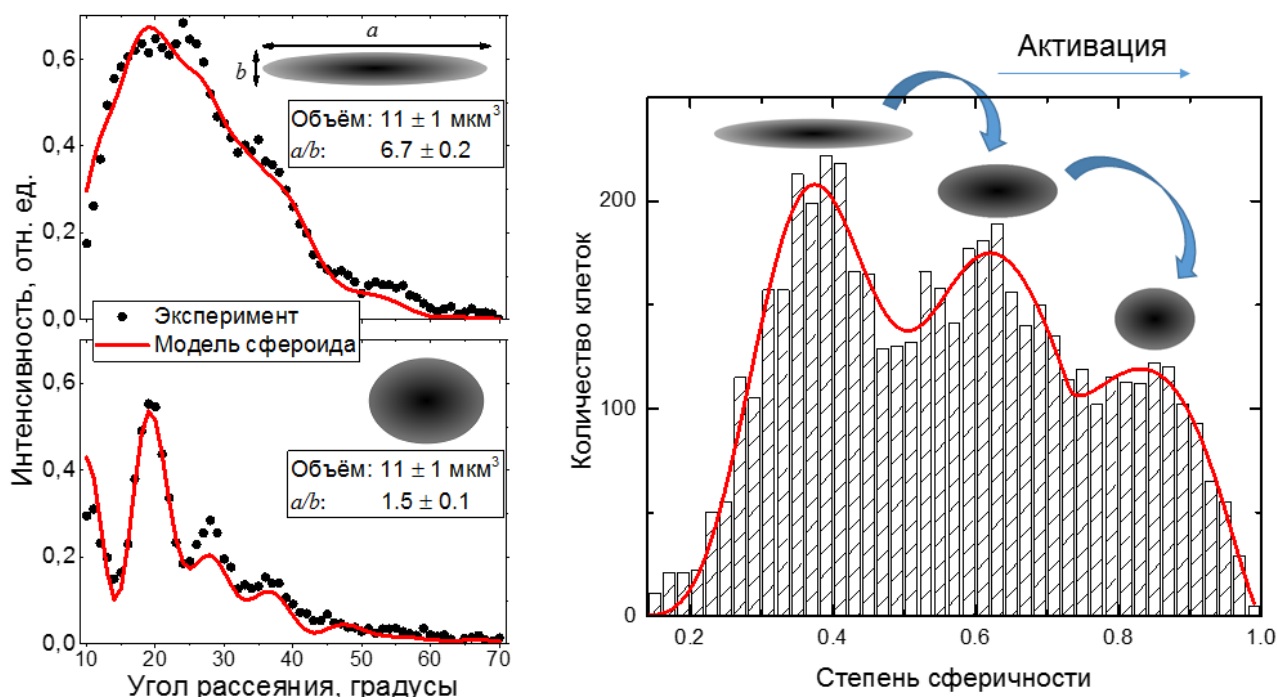


Но что же происходит с теми клетками, которые не умирают? Оказывается, существует некоторая иерархия процессов. Первые реакции, которые происходят даже при слабом повышении уровня кальция – это активация поверхностных рецепторов-интегринов и изменение формы тромбоцита. Благодаря интегрину клетка получает возможность к адгезии и агрегации. Если же концентрация кальция ещё увеличится, тромбоцит начнёт выбрасывать во внешнюю среду гранулы с активаторами, таким образом запуская цепь положительной обратной связи.

Изменение формы происходит вследствие перестройки цитоскелета. Тромбоцит из «пластинки» превращается в округлую частицу, а на его поверхности появляются длинные выросты – псевдоподии. До сих пор не ясно, для чего служит изменение формы: то ли для изменения гидродинамических свойств клетки, то ли для более эффективной агрегации, то ли для создания механических напряжений, которые дополнительно активируют тромбоцит. Для ответа на эти вопросы нужно исследовать процесс с точки зрения биофизики, а для этого требуются количественные эксперименты.

Трансформация при активации

К сожалению, в силу небольших размеров тромбоцитов (1-3 микрометра) точности оптического микроскопа не хватает для количественного описания их формы. А при электронной микроскопии свойства клеток сильно изменяются из-за фиксации, к тому же невозможно проследить реакцию в динамике. Поэтому биофизики из Новосибирка решили исследовать изменение формы тромбоцитов с помощью нового оптического прибора – сканирующего проточного цитометра. В этом приборе клетки движутся в потоке и по одной пересекают луч лазера, а специальный детектор измеряет пространственное распределение рассеянного света. Картина рассеяния зависит от формы клетки и в ряде случаев позволяет измерить её параметры с большой точностью. Для этого нужно сравнить измеренный сигнал с теоретической моделью.

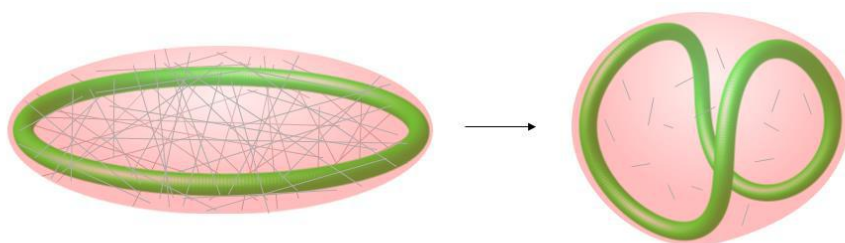


На рисунке слева показаны примеры сигналов для двух тромбоцитов: сверху – до активации, снизу – после. Видно, что сигнал для активированной клетки содержит осцилляции, которые характерны для более шарообразных частиц. В качестве теоретической модели использовалось самое простое приближение – сфероид. Это приближение позволяет с хорошей точностью определить степень сплюснутости каждой клетки и увидеть, как она меняется при активации [13]. При этом прибор позволяет провести измерения для тысяч клеток за несколько минут. Оказалось, что тромбоциты делятся даже не на две, а на три популяции [14]. Распределение тромбоцитов по форме показано на рисунке справа. Левый пик – это сплюснутые частицы (пластинки), что соответствует покоящимся тромбоцитам. Клетки справа имеют почти шарообразную форму, что характерно для прокоагулянтных тромбоцитов. А пик посередине – это активированные тромбоциты. После получения экспериментальных данных, как обычно, встала задача объяснить их теоретически, с помощью математической модели. Для этого физикам пришлось вдаваться в сложный мир внутриклеточного цитоскелета.

Динамичный цитоскелет

Собственно говоря, почему тромбоциты циркулируют в крови в виде пластинок? Всё дело в их образовании. На самом деле они не являются клетками сами по себе, а отпочковываются от мембраны родительской клетки – мегакариоцита. Двигателем этого процесса являются микротрубочки – жёсткий биополимер, который выпячивает часть мембраны, образуя пузырёк – будущий тромбоцит. В дальнейшем микротрубочки так и остаются внутри тромбоцита – они образуют кольцо, которое расположено по экватору клетки. Это кольцо стремится распрямиться и растягивает клетку в этакий «блинчик» до тех пор, пока натяжение оболочки не уравновесит эти силы.

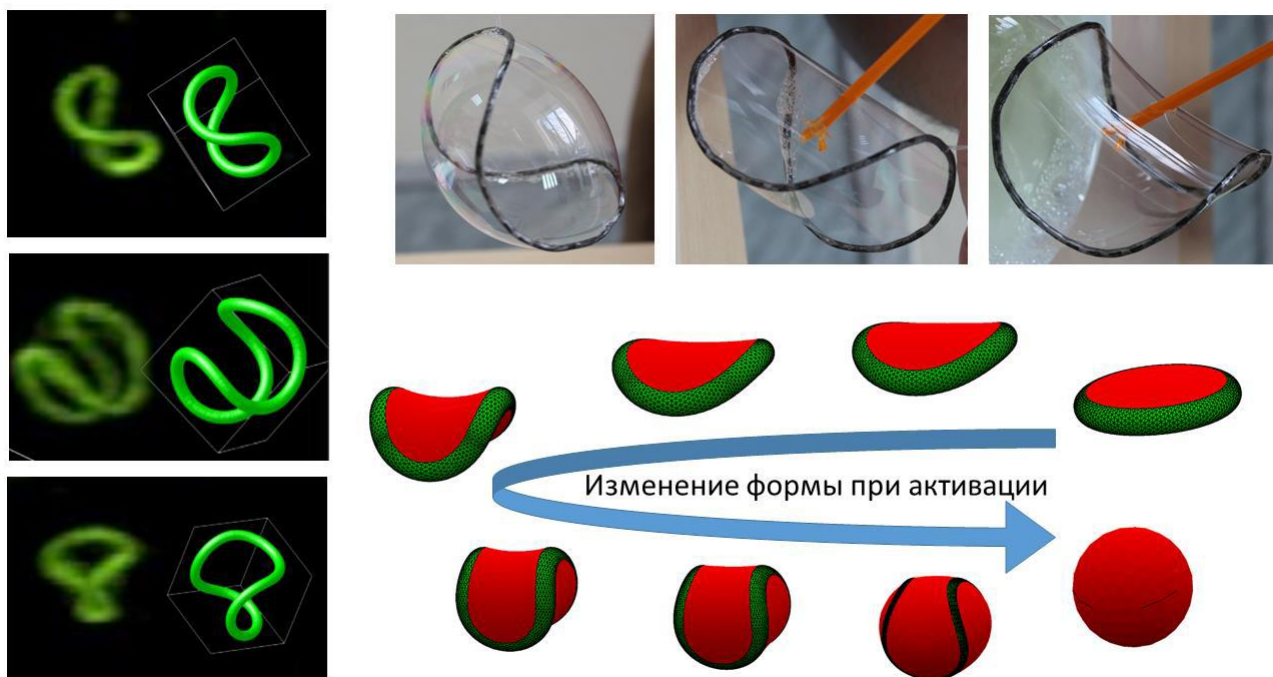
Откуда же берётся это натяжение? Для этого в клетке предусмотрены специальные филаменты, которые закреплены на мембране. Они образуют так называемый кортекс, за счёт которого оболочка клетки может растягиваться и сжиматься. Кроме микротрубочек и кортекса, внутри у тромбоцита находится сеть актиновых филаментов, которая пронизывает всю клетку. Эта сеть делает тромбоцит более жёстким.



×> Актиновые филаменты — Кольцо микротрубочек Кортекс

На рисунке схематично показан цитоскелет покоящегося тромбоцита. Стремление мембраны сократить свою площадь уравнивается жёсткостью микротрубочек, которые не дают её сжаться. Сеть филаментов дополнительно стабилизирует это равновесие. При активации (справа) всё меняется. Под действием ионов кальция белок гельзолин разрезает актиновые филаменты. Кроме того, белок миозин увеличивает силы натяжения, действующие в кортексе. А ещё ионы кальция заставляют работать специальные молекулярные моторы – динеин и кинезин, которые раздвигают и деформируют кольцо микротрубочек. В результате равновесие становится совсем хрупким и в конце концов нарушается. Кольцо микротрубочек резко сворачивается в трёхмерную структуру, похожую на седло [15]. Оболочка клетки наконец получает возможность немного сжаться. Ну, а форма клетки становится более округлой.

Динамика потери равновесия кольца микротрубочек была описана в 2017 году биофизиками из Германии [16]. Но описать форму, которую принимает свёрнутое кольцо, а тем более – оболочка клетки, оказалось сложнее. Для этого учёным из Новосибирска пришлось использовать сложные методы вариационного исчисления. И всё же исследование увенчалось успехом. На рисунке слева показаны экспериментальные (полученные французскими учёными [15]) и модельные изображения свёрнутого кольца микротрубочек. Оказалось, что у этой трёхмерной кривой есть замечательное свойство – радиус кривизны в каждой точке одинаковый. Такое предположение позволяет хорошо описать экспериментальные данные.



Следующий вопрос – как ведёт себя оболочка клетки, вынужденная быть натянутой на такой замысловатый каркас, и при этом ограничивать определённый объём. Оказывается, с точки зрения физики потенциальная энергия эластичной оболочки тромбоцита описывается таким же выражением, как и для... мыльной плёнки. Существует коэффициент поверхностного натяжения оболочки, который даже был измерен экспериментально для клеток с аналогичной поверхностью. Поэтому форма, которую принимает оболочка тромбоцита, похожа на форму мыльного пузыря. Например, в случае плоского кольца микротрубочек (покоящийся тромбоцит) оболочка образует полусферические «шапочки» с обеих сторон от кольца. Степень выпуклости этих «шапочек» зависит от объёма тромбоцита: если клетку «сдувать», то она даже может стать вогнутой.

Картина становится не такой очевидной для активированного тромбоцита, когда кольцо микротрубочек принимает сложную трёхмерную форму. В этом случае из-за сложных граничных условий оболочка клетки уже не будет иметь сферическую форму. Чтобы продемонстрировать это, мы сделали модель свёрнутого кольца микротрубочек из проволоки. На рисунке сверху можно увидеть, какие сложные поверхности образует мыльная плёнка, натянутая на проволочный контур. Специально созданная компьютерная модель позволяет вычислить эти формы [17]. Примеры показаны на рисунке в нижней части: красным обозначены свободные части оболочки клетки, а зелёным – опирающиеся на каркас микротрубочек. Интересно, что при сильном скручивании кольца микротрубочек оно занимает столь малый объём, что перестаёт растягивать оболочку. А в отсутствие внешних сил оболочка принимает форму сферы, как обычный мыльный пузырь. Такое простое физическое рассуждение может объяснить, почему при сильной активации появляются шарообразные прокоагулянтные тромбоциты. Конечно, это лишь гипотеза, которую нужно проверить экспериментально.

Адгезия и агрегация

Активированный тромбоцит способен к адгезии (присоединению к повреждённой стенке сосуда или чужеродной поверхности) и к агрегации (слипанию с другими тромбоцитами).

Эти процессы хорошо изучены с точки зрения медицины и биологии, но, пожалуй, наименее описаны с точки зрения биофизики.

Отчасти дело в сложной динамике цитоскелета клеток. У полученных частиц отсутствует осевая симметрия, а это не только приводит к принципиальному изменению их гидродинамических свойств, но и сильно затрудняет расчёты. Очевидно, меняются и механические свойства клеток. Пока ещё не ясно, как именно и какой вклад это даёт в функции клеток, но с помощью новой модели учёные надеются дать ответ на эти вопросы. Однако созданная модель описывает лишь начальное изменение формы. Если образование псевдоподий ещё можно искусственно добавить в модель, то описание «распластывания» тромбоцита при адгезии требует рассмотрения совсем других процессов.

Созданию модели агрегации способствовало бы наличие экспериментальных данных. Есть множество экспериментов и даже клинические тесты, в которых измеряется светопропускание пробы с тромбоцитами во время агрегации. Таким образом можно оценить характерное время слипания клеток в большие агломераты. Однако для создания детальных моделей требуются эксперименты, в которых заметно появление в пробе небольших агрегатов, начиная с димеров (два тромбоцита). Возможные методы для поведения таких экспериментов были предложены биофизиками из Новосибирска в 2014 году [18], но пока ещё не реализованы.

Второй фактор, затрудняющий создание модели остановки крови – необходимость учитывать сложные гидродинамические эффекты движения крови в сосудах, поведение большого количества клеток и пространственное распределение веществ, участвующих в процессе. Попытки учесть все эти факторы ведутся прямо сейчас, и, возможно, в ближайшем будущем кто-то сможет заключить всю природную сложность системы гемостаза в несколько уравнений...

Итог

Надеюсь, этот очерк передал ощущение, насколько важным является описание биологических систем с точки зрения физики и математики. Ведь в конечном итоге это помогает спасать жизни. Можно было бы ещё многое рассказать о тромбоцитах и системе гемостаза, но, чтобы не утомлять читателя, мы решили ограничиться лишь базовыми знаниями в этой области и достижениями последних двух-трёх лет. Заинтересованным читателям предлагаем окунуться в море научной литературы, начав поиски с приведённых нами ссылок. Ну и, конечно, призываем вкладывать свои силы в поиски ответов на самые интересные вопросы в этой области!

Список использованной литературы

1. S. S. Shakhidzhanov, V. I. Shaturny, M. A. Panteleev, and A. N. Sveshnikova, “Modulation and pre-amplification of PAR1 signaling by ADP acting via the P2Y12 receptor during platelet subpopulation formation,” *Biochim. Biophys. Acta*, vol. 1850, no. 12, pp. 2518–2529, Dec. 2015.
2. D. R. Myers *et al.*, “Single-platelet nanomechanics measured by high-throughput cytometry,” *Nat. Mater.*, vol. 16, no. 2, pp. 230–235, Feb. 2017.
3. C. E. Hansen *et al.*, “Platelet-Microcapsule Hybrids Leverage Contractile Force for Targeted Delivery of Hemostatic Agents,” *ACS Nano*, vol. 11, no. 6, pp. 5579–5589, Jun. 2017.

4. I. Slaba and P. Kubes, "Platelets and Immunity," in *Platelets in Thrombotic and Non-Thrombotic Disorders*, Springer, Cham, 2017, pp. 489–512.
5. J. Li, C. C. Sharkey, B. Wun, J. L. Liesveld, and M. R. King, "Genetic engineering of platelets to neutralize circulating tumor cells," *J. Control. Release Off. J. Control. Release Soc.*, vol. 228, pp. 38–47, Apr. 2016.
6. L. Dai, N. Gu, B.-A. Chen, and G. Marriott, "Human platelets repurposed as vehicles for in vivo imaging of myeloma xenotransplants," *Oncotarget*, vol. 7, no. 16, pp. 21076–21090, Apr. 2016.
7. C. Wang, W. Sun, Y. Ye, Q. Hu, H. N. Bomba, and Z. Gu, "In situ activation of platelets with checkpoint inhibitors for post-surgical cancer immunotherapy," *Nat. Biomed. Eng.*, vol. 1, no. 2, p. 0011, Feb. 2017.
8. J. E. Purvis, M. S. Chatterjee, L. F. Brass, and S. L. Diamond, "A molecular signaling model of platelet phosphoinositide and calcium regulation during homeostasis and P2Y1 activation," *Blood*, vol. 112, no. 10, pp. 4069–4079, Nov. 2008.
9. M. Y. Lee and S. L. Diamond, "A Human Platelet Calcium Calculator Trained by Pairwise Agonist Scanning," *PLoS Comput Biol*, vol. 11, no. 2, p. e1004118, Feb. 2015.
10. Z. Ilkan, J. R. Wright, A. H. Goodall, J. M. Gibbins, C. I. Jones, and M. P. Mahaut-Smith, "Evidence for shear-mediated Ca²⁺ entry through mechanosensitive cation channels in human platelets and a megakaryocytic cell line," *J. Biol. Chem.*, vol. 292, no. 22, pp. 9204–9217, Jun. 2017.
11. A. N. Sveshnikova, F. I. Ataulakhanov, and M. A. Pantelev, "Compartmentalized calcium signaling triggers subpopulation formation upon platelet activation through PAR1," *Mol. Biosyst.*, vol. 11, no. 4, pp. 1052–1060, Mar. 2015.
12. S. I. Obydenny, A. N. Sveshnikova, F. I. Ataulakhanov, and M. A. Pantelev, "Dynamics of calcium spiking, mitochondrial collapse and phosphatidylserine exposure in platelet subpopulations during activation," *J. Thromb. Haemost.*, vol. 14, no. 9, pp. 1867–1881, Sep. 2016.
13. A. E. Moskalensky *et al.*, "Accurate measurement of volume and shape of resting and activated blood platelets from light scattering," *J. Biomed. Opt.*, vol. 18, no. 1, p. 17001, Jan. 2013.
14. A. L. Litvinenko *et al.*, "Fluorescence-free flow cytometry for measurement of shape index distribution of resting, partially activated, and fully activated platelets," *Cytometry A*, vol. 89, no. 11, pp. 1010–1016, Nov. 2016.
15. B. Diagouraga, A. Grichine, A. Fertin, J. Wang, S. Khochbin, and K. Sadoul, "Motor-driven marginal band coiling promotes cell shape change during platelet activation," *J. Cell Biol.*, vol. 204, no. 2, pp. 177–185, Jan. 2014.
16. S. Dmitrieff, A. Alsina, A. Mathur, and F. J. Nédélec, "Balance of microtubule stiffness and cortical tension determines the size of blood cells with marginal band across species," *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 114, no. 17, pp. 4418–4423, Apr. 2017.
17. A.E. Moskalensky *et al.*, "Method for the simulation of blood platelet shape and its evolution during activation," Accepted to *PLoS. Comp. Biol.*, 2018.
18. A. E. Moskalensky, D. I. Strokotov, A. V. Chernyshev, V. P. Maltsev, and M. A. Yurkin, "Additivity of light-scattering patterns of aggregated biological particles," *J. Biomed. Opt.*, vol. 19, no. 8, p. 085004, Aug. 2014.

Иллюстрации

Победителями конкурса самостоятельно подготовлено 5 иллюстраций, см. в тексте статьи.