

## ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛ РАЗЛИЧНОГО КЛЕТОЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ И ИХ АКТИВНОСТИ У ПАЦИЕНТОВ С ПОСТТРОМБОЭМБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

Золотова Е. А.<sup>1</sup>, Симакова М. А.<sup>1</sup>, Мельничникова О. С.<sup>1</sup>,  
Сироткина О. В.<sup>1,2,3</sup>, Жиленкова Ю. И.<sup>1</sup>, Моисеева О. М.<sup>1</sup>,  
Вавилова Т. В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Национальный медицинский исследовательский центр имени  
В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской  
Федерации, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Петербургский институт ядерной физики имени  
Б. П. Константинова Национального исследовательского центра  
«Курчатовский институт», Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное  
учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский  
государственный медицинский университет имени академика  
И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской  
Федерации, Санкт-Петербург, Россия

### Контактная информация:

Золотова Екатерина Алексеевна,  
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»  
Минздрава России,  
ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург,  
Россия, 197341.  
E-mail: katerinazolotova1@gmail.com

Статья поступила в редакцию 22.08.2022  
и принята к печати 16.09.2022

### Резюме

**Актуальность.** Хроническая тромбоэмболическая легочная гипертензия (ХТЭЛГ) и хроническая тромбоэмболическая болезнь (ХТЭБ) — проявления посттромбоэмболического синдрома у пациентов, перенесших тромбоэмболию легочной артерии (ТЭЛА). Было показано, что внеклеточные везикулы (ВВ) различного клеточного происхождения участвуют в патогенезе данных заболеваний благодаря активации системы гемостаза. **Цель.** Оценка относительного количества ВВ и их коагуляционной активности с помощью теста генерации тромбина у пациентов с посттромбоэмболическим синдромом. **Материалы и методы.** В исследование включен 21 пациент: группа ХТЭБ (n = 7) (ДЛА < 25 мм рт. ст.) и группа ХТЭЛГ (n = 14) с прекапиллярной ЛГ. Группа сравнения — доноры (n = 11) без сердечно-сосудистых и тромбоэмболических заболеваний в анамнезе. ВВ выделяли набором Echo-FACS и анализировали методом проточной цитометрии с использованием флуоресцентно меченных антител к клеточным маркерам. Оценка активности микрочастиц проводилась в тесте генерации тромбина с использованием триггерного реактива без добавления ТФ с помощью планшетного флюориметра. **Результаты.** У пациентов с ХТЭЛГ и ХТЭБ относительное содержание внеклеточных везикул тромбоцитарного и эндотелиального происхождения выше по сравнению с группой контроля. Уровень тромбоцитарных внеклеточных везикул коррелирует с уровнями СРБ и D-димера. В тесте генерации тромбина у пациентов с ХТЭЛГ значимо увеличено ЛГ и ttPeak относительно контроля. **Выводы.** Повышение уровня ВВ тромбоцитарного и эндотелиального происхождения у пациентов с ХТЭЛГ и ХТЭБ свидетельствует о вкладе микровезикуля-

ции в формирование посттромбоэмболического синдрома. Понижение активности генерации тромбина под действием ТФ-ВВ возможна в результате эффекта потребления ТФ при эндотелиальной дисфункции либо при длительной активации прокоагулянтных путей.

**Ключевые слова:** внеклеточные везикулы, проточная цитометрия, тест генерации тромбина, тромбоэмболия легочной артерии, хроническая тромбоэмболическая болезнь, хроническая тромбоэмболическая легочная гипертензия.

Для цитирования: Золотова Е.А., Симакова М.А., Мельничникова О.С., Сироткина О.В., Жиленкова Ю.И., Моисеева О.М., Вавилова Т.В. Исследование циркулирующих внеклеточных везикул различного клеточного происхождения и их активности у пациентов с посттромбоэмболическим синдромом. *Трансляционная медицина*. 2022;9(3):59-69. DOI: 10.18705/2311-4495-2022-9-3-59-69

## EVALUATION OF THE PROFILE OF CIRCULATING EXTRACELLULAR VESICLES OF DIFFERENT CELL ORIGIN AND THEIR ACTIVITY IN PATIENTS WITH POSTTHROMBOEMBOLIC SYNDROME

Ekaterina A. Zolotova<sup>1</sup>, Maria A. Simakova<sup>1</sup>,  
Olga S. Melnichnikova<sup>1</sup>, Olga V. Sirotkina<sup>1,2,3</sup>, Yulia I. Zhilenkova<sup>1</sup>,  
Olga M. Moiseeva<sup>1</sup>, Tatiana V. Vavilova<sup>1</sup>

**Corresponding author:**

Ekaterina A. Zolotova,  
Almazov National Medical Research Centre,  
Akkuratova str., 2, Saint Petersburg, Russia,  
197341.  
E-mail: katerinazolotova1@gmail.com

<sup>1</sup>Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

<sup>2</sup>Petersburg Nuclear Physics Institute named by B. P. Konstantinov of National Research Centre “Kurchatov Institute”, Saint Petersburg, Russia

<sup>3</sup>Academician I. P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia

Received 22 August 2022; accepted  
16 September 2022.

### Abstract

**Background.** Chronic thromboembolic pulmonary hypertension (CTEPH) and chronic thromboembolic disease (CTEP) are manifestations of post-thromboembolic syndrome in patients with pulmonary embolism. Extracellular vesicles (EVs) are involved in the pathogenesis of these diseases due to the activation of the hemostasis system. **Objective.** Evaluation of the relative amount of EVs and their coagulation activity using the thrombin generation test in CTEP and CTEPH patients. **Design and methods.** The study included 21 patients: the CTEP group (n = 7) and the CTEPH group (n = 14); and 11 healthy donors. EVs were isolated with the Exo-FACS kit and analyzed by flow cytometry using fluorescently labeled antibodies. The activity of the microparticles was assessed in a thrombin generation test using a trigger reagent without the addition of TF using a plate fluorimeter. **Results.** The relative content of EVs of platelet and endothelial origin was increased in CTEPH and CTEP groups. The level of platelet EVs correlates with the levels of CRP and D-dimer. LT and ttPeak were significantly increased in patients with CTEPH. **Conclusion.** An increase in the level of platelet and endothelial EVs in patients with CTEPH and CTEP indicates the contribution of microvesiculation to the formation of post-thromboembolic syndrome. The activity of thrombin generation decrease under the action of TF-EVs could be a result of TF consumption in endothelial dysfunction, or prolonged activation of procoagulant pathways.

**Key words:** chronic thromboembolic pulmonary disease, chronic thromboembolic pulmonary hypertension, extracellular vesicles, flow cytometry, pulmonary embolism, thrombin generation test.

*For citation: Zolotova EA, Simakova MA, Melnichnikova OS, Sirotkina OV, Zhilenkova YuI, Moiseeva OM, Vavilova TV. Evaluation of the profile of circulating extracellular vesicles of different cell origin and their activity in patients with postthromboembolic syndrome. Translyatsionnaya meditsina=Translational Medicine. 2022;9(3):59-68. (In Russ.) DOI: 10.18705/2311-4495-2022-9-3-59-68*

**Список сокращений:** АФС — антифосфолипидный синдром, ВВ — внеклеточные везикулы, ДЛА — давление в легочной артерии, ЛА — легочная артерия, ЛГ — легочная гипертензия, СРБ — С-реактивный белок, ТГТ — тест генерации тромбина, ТФ — тканевой фактор, ТЭЛА — тромбоэмболия легочной артерии, ФВ — фактор Виллебранда, ХТЭБ — хроническая тромбоэмболическая болезнь, ХТЭЛГ — хроническая тромбоэмболическая легочная гипертензия.

### Введение

Термин «посттромбоэмболический синдром» на сегодняшний день объединяет различные патологические состояния, ассоциированные с эпизодом острой тромбоэмболии легочной артерии (ТЭЛА). Было показано, что после ТЭЛА на фоне 3–6 месяцев антикоагулянтной терапии у 55 % пациентов сохраняется снижение толерантности к физическим нагрузкам, в 40–48 % случаев констатируется резидуальный тромбоз в легочной артерии (ЛА), а дилатация и/или дисфункция правого желудочка наблюдается у 20–25 % пациентов [1]. У больных с посттромбоэмболическим синдромом причиной нарушения трудоспособности и одышки является резидуальный тромбоз ЛА, вероятно, за счет появления вентиляционно-перфузионного несоответствия, клинически значимого для каждого больного исходя из его исходного функционального статуса. Крайним проявлением посттромбоэмболического синдрома является хроническая тромбоэмболическая легочная гипертензия (ХТЭЛГ) — орфанное заболевание, характеризующееся повышением давления в ЛА и клиникой правожелудочковой сердечной недостаточности. По данным различных регистров, частота формирования ХТЭЛГ после ТЭЛА колеблется от 0,4 % до 9,1 %, что в среднем составляет 3,4 % [2, 3]. В течение последних пяти лет в литературе появилось также понятие хронической тромбоэмболической болезни (ХТЭБ) для описания пациентов с персистирующим тромботическим поражением ЛА и симптомами, характерными для ХТЭЛГ, при отсутствии критериев легочной гипертензии

в покое [4]. Распространенность данного заболевания неизвестна, а критерии его диагностики пока точно не определены [5, 6]. Кроме того, остается неясным, является ли ХТЭБ этапом трансформации в ХТЭЛГ или самостоятельным состоянием с более благоприятным прогнозом [7]. Следует подчеркнуть, что этот вопрос принципиален для выбора лечебной стратегии.

Не менее важно и знание патогенеза для разработки новых лекарственных препаратов, воздействующих на начальные, клинически незначимые стадии заболевания или предотвращающих его развитие в группе риска. В современной концепции развития ХТЭЛГ можно выделить два патогенетических аспекта: обструктивное поражение ветвей ЛА за счет неполного разрешения тромботических масс или нарушения в фибринолитической системе. Повышение коагуляционного потенциала и нарушение фибринолиза у пациентов с ХТЭЛГ проявляются в виде увеличения уровня t-РА, PAI-1, повышения активности фактора VIII, а также снижения уровня тромбомодулина [8]. Кроме того, у пациентов с ХТЭЛГ показана роль активации тромбоцитов в механизме формирования обструктивной васкулопатии. Так, в исследовании на мышинной модели авторами продемонстрировано, с одной стороны, повышенное тромбообразование после выполнения спленэктомии, а с другой — отсроченное его рассасывание за счет нарушения ангиогенеза. В том же исследовании сообщалось об увеличении количества внеклеточных везикул (ВВ) тромбоцитарного происхождения у больных ХТЭЛГ со спленэктомией по сравнению с пациентами без этого фактора риска [9]. В работе А. Khandagale и соавторов (2020 г.) было отмечено, что популяции ВВ доноров и пациентов с ХТЭЛГ отличаются клеточным происхождением, экспрессией Р-селектина и белковым составом [10]. У пациентов с ХТЭЛГ наблюдалось повышение уровня циркулирующих ВВ эндотелиального происхождения из-за усиленного апоптоза эндотелия вследствие прогрессирования заболевания [11]. Также Р. Diehl и коллеги (2011 г.) продемонстрировали активацию тром-

боцитов и увеличение маркеров воспаления при ХТЭЛГ, ассоциированные с повышением уровня ВВ тромбоцитарного и лейкоцитарного происхождения [12]. Часто ВВ характеризуются асимметрией фосфолипидов, что приводит к появлению большого количества фосфатидилсерина на их поверхности, который может связывать факторы свертывания и запускать коагуляционный каскад [13]. Одним из перспективных методов оценки прокоагулянтной активности циркулирующих микрочастиц является тест генерации тромбина (ТГТ). Для исследования активности ВВ используется модификация теста, в которой в качестве триггерного реагента используются низкие количества фосфолипидов без добавления тканевого фактора (ТФ), что позволяет запустить реакцию генерации тромбина ТФ, который несет на своей поверхности ВВ (ТФ-ВВ). При обследовании пациентов с тромбоцитарными событиями ( $n = 66$ ) ТГТ, опосредованный ТФ-ВВ, продемонстрировал более высокую активность тромбообразования. Более того, у пациентов с повторными тромбозами параметры ТГТ были значимо выше по сравнению с лицами, у которых зарегистрированы единичные случаи тромбоза, и группой контроля [14]. Таким образом, целью настоящего исследования является оценка относительного количества ВВ, их клеточной принадлежности и коагуляционной активности у пациентов с посттромбоэмболическим синдромом.

### Материалы и методы

В исследование включен 21 пациент в возрасте 18–75 лет, перенесший ТЭЛА, подтвержденную мультисрезовой компьютерной томографией, с клиникой посттромбоэмболического синдрома. Все включенные в исследование подписали добровольное информированное согласие. Пациенты были разделены на 2 группы: группа ХТЭБ ( $n = 7$ ) с уровнем среднего давления в легочной артерии (срДЛА)  $< 25$  мм рт. ст. (средний возраст 39,0 [32,0–48,0], 1 мужчина, 6 женщин) и группа ХТЭЛГ ( $n = 14$ ) (средний возраст 58,0 [50,0–67,0] лет, 8 мужчин, 6 женщин) с верифицированным диагнозом в соответствии с рекомендациями Европейского общества кардиологов от 2015 года [15]. Все пациенты на момент проведения исследования находились на антикоагулянтной терапии варфарином (целевое МНО 2,5–3,5) или ривароксабаном (20 мг). Группу сравнения составили доноры ( $n = 11$ ) без сердечно-сосудистых заболеваний и тромбоэмболических эпизодов в анамнезе, сопоставимые по полу и возрасту с пациентами (средний возраст 48,5 [44,0–53,0], 6 мужчин, 5 женщин).

Эксперименты были одобрены локальным Этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» (протокол № 0603-21 от 15.03.2021 г.).

Всем включенным в исследование выполнялся клинический анализ крови (Cell-Dyn Ruby Abbott, США), измерялся уровень мозгового натрийуретического пептида NT-proBNP, С-реактивного белка (СРБ) (Architect, Abbott, США), D-димера, фактора Виллебранда и активности фактора VIII (STA-compact, Diagnostica Stago SAS, Франция), проводилось тестирование на тромбофилию (FV Leiden, G20210A F2). Для исключения антифосфолипидного синдрома измеряли уровень критериальных антител к кардиолипину (IgM, IgG, антитела к b2-гликопротеину-I-типа) с интервалом 12 недель.

Образцы крови получали путем пункции кубитальной вены в вакуумные пробирки с К2ЭДТА (для изучения уровня ВВ) и 3,2 % цитрата натрия (для проведения ТГТ) в качестве антикоагулянта. Для изучения ВВ производилось двойное центрифугирование плазмы в течение 15 мин при  $2200 \times g$  в соответствии с рекомендациями ISTH [16]. Плазма дополнительно центрифугировалась при  $10000 \times g$  в течение 30 мин для осаждения дедриса. Для получения ВВ из плазмы крови использовался набор Echo-FACS (HansaBioMed Life sciences Ltd, Эстония) согласно рекомендациям производителя. Набор состоит из реагента EchoPrep для химической преципитации ВВ, латексных частиц (Beads) для адсорбции изолированных ВВ и антител к тетраспанину (CD9 AF488) — маркеру внеклеточной мембраны для детекции ВВ. Полученная плазма инкубировалась с реагентом EchoPrep с последующим центрифугированием при  $10000 \times g$ . Изолированные ВВ инкубировались с латексными частицами, затем комплекс ВВ-Beads дважды отмывали в буфере. Фенотип ВВ оценивали с помощью высокочувствительной проточной цитометрии (CytoFlex B4-R2-V2, Beckman Coulter, США) с использованием флуоресцентно меченных антител к поверхностным маркерам клеток: CD41-PE/Cy7 (тромбоциты), CD45-PC7 (лейкоциты), CD235a-PE (эритроциты) и CD105-PE (эндотелиоциты). Экспрессия клеточных маркеров оценивалась как процент положительных (CD41+, CD235a+, CD45+ и CD105+) ВВ среди CD9-положительных событий [17].

Для ТГТ кровь пациентов и доноров центрифугировалась при  $2000 \times g$  в течение 10 минут. Аликвоты хранили при температуре  $-80$  °C. После размораживания при  $37$  °C образцы центрифугировали при  $20\ 000 \times g$  в течение 20 минут. Для исключения эффектов антикоагулянтной терапии осадок ресуспендировали в пулированной донорской плазме (PNP) ( $n = 20$ ) [14]. PNP была получена от 20 здоровых добровольцев с помощью двойного

центрифугирования (2000×g в течение 10 минут, затем 20000×g в течение 20 минут), надосадок смешивали и аликвотировали для дальнейшего хранения при -80° С. ТГТ проводился по методу калибровочной автоматизированной тромбограммы, предложенному Hemker и соавторами (2003 г.) [18]. Для запуска реакции использовался коммерческий реактив, содержащий только прокоагулянтные фосфолипиды (REF 86222, Stago). Таким образом, в качестве активатора реакции коагуляции выступают микрочастицы, несущие ТФ на своей поверхности (ТФ-ВВ). Смесь специфичного субстрата и буфера (REF 86197, Stago, Франция) автоматически добавлялась в исследуемую плазму. Калибровка проводилась в каждой пробе с помощью калибратора с заведомо известной концентрацией тромбина (REF 86192, Stago, Франция). Сигнал регистрировался с помощью флуориметра Fluoroskan Ascent (ThermoFisher Scientific, США). Рассчитывались следующие показатели ТГТ: максимальная концентрация тромбина в образце (Peak), нмоль/л; площадь под кривой — эндогенный тромбиновый потенциал (ETP), нмоль/л×мин; время инициации коагуляции (LagTime), мин; время достижения пика (ttPeak), мин. Скорость образования тромбина считалась по формуле:  $VI = \text{Peak}/(\text{ttPeak}-\text{LagTime})$  нмоль/мин. Для устранения аналитической ошибки и стандартизации данных полученные результаты нормировались относительно PNP и представлены в процентах.

Статистическая обработка результатов проводилась в программе Statistica 12.0. Для проверки нормальности распределения применялся тест Шапиро-Уилка. Количественные данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (Me [Q1-Q3]). Для сравнения двух независимых групп применялся тест Манна-Уитни, при количестве групп более двух использовался критерий Краскела-Уоллиса. Коэффициент ранговой корреляции Спирмена использовался для оценки взаимосвязи между количественными переменными. Различия считали значимыми при  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

В основе деления пациентов с посттромбоэмболическим синдромом на две группы лежит факт наличия легочной гипертензии, степень которой определяет преднагрузку на правый желудочек и выраженность правожелудочковой сердечной недостаточности. В исследование включались пациенты с впервые верифицированным диагнозом ХТЭЛГ, при этом большинство из них находилось в 3 ФК (ВОЗ), что согласуется с данными международного регистра пациентов с ХТЭЛГ и свиде-

тельствует о поздней диагностике заболевания [19]. Признаками дисфункции правого желудочка являлся высокий уровень NT-proBNP (1816 [493–2066] пг/мл) и низкий сердечный индекс.

В группе ХТЭЛГ у двух пациентов (14,3%), а в группе ХТЭБ — у одного пациента (7%) был выявлен АФС. Гетерозиготное носительство мутации FV Leiden встречалось только у пациентов с ХТЭЛГ ( $n = 2$ ; 14,3%), при этом гетерозиготное носительство G20210A F2 встречалось в обеих группах: 7% ( $n = 1$ ) в группе ХТЭЛГ и 14% ( $n = 1$ ) в группе ХТЭБ. В то время как АФС относится к факторам риска формирования ХТЭЛГ, согласно данным наблюдательных регистров, ассоциация наследственных тромбофилий с формированием ХТЭЛГ до настоящего времени обсуждается. Так, в исследовании M. W. Dodson и соавторов (2020 г.) частота наследственных тромбофилий у пациентов с эпизодом венозных тромбоэмболических осложнений в анамнезе и у пациентов с ХТЭЛГ значимо не отличалась, что согласуется с результатами, полученными в настоящей работе [20].

Среди лабораторных показателей отмечено повышение уровня СРБ у пациентов с ХТЭЛГ в сравнении с группой ХТЭБ и донорами (табл. 1), что может быть связано с воспалительным компонентом, являющимся одним из звеньев патогенеза ХТЭЛГ. СРБ может индуцировать экспрессию ТФ на моноцитах и способствовать формированию тромбов. Увеличение экспрессии ТФ моноцитов может также привести к повреждению эндотелиальных клеток [21]. В исследовании N. Skoro-Sajer и коллег (2018 г.) показано, что пациенты с более высоким уровнем СРБ на момент постановки диагноза имели тенденцию к более тяжелому течению заболевания и чаще умирали от правожелудочковой сердечной недостаточности [22].

Также в группе пациентов было показано повышение активности фактора VIII по сравнению с донорами ( $p < 0,05$ ) [23]. Уровень антигена фактора Виллебранда (ФВ) был значимо выше как в группе ХТЭЛГ, так и в группе пациентов с ХТЭБ, что может быть связано с эндотелиальной дисфункцией, развивающейся после перенесенной ТЭЛА [24]. Схожие результаты были получены и в исследовании M. Newnham и коллег (2019 г.). Авторы показали, что уровень ФВ был значимо выше у больных с ХТЭЛГ (167%) и у пациентов с ХТЭБ (170%) относительно контрольной группы [25].

В результате сравнения количеств внеклеточных везикул было выявлено значимое повышение ВВ тромбоцитарного (CD9+CD41+) происхождения у пациентов с ХТЭЛГ по сравнению с донорами ( $p < 0,05$ ) (табл. 2). Также в этой группе наблюдалась

тенденция к увеличению содержания ВВ эндотелиального (CD9+CD105+) происхождения относительно группы контроля ( $p = 0,06$ ). У пациентов с ХТЭБ наблюдалось значимое увеличение количества эндотелиальных и тромбоцитарных ВВ относительно доноров ( $p < 0,05$ ). В то же время количество ВВ лейкоцитарного (CD9+CD45+) и эритроцитарного (CD9+CD235a+) происхождения не отличалось между собой в группах ХТЭЛГ и ХТЭБ.

Увеличение относительного количества внеклеточных везикул тромбоцитарного и эндо-

телиального происхождения может косвенно указывать на активацию тромбоцитов и повреждение эндотелия у пациентов с ХТЭЛГ и ХТЭБ, что соотносится с результатами, полученными другими авторами [26]. Некоторые исследователи показали, что уровень циркулирующих внеклеточных везикул лейкоцитарного (CD11b+), тромбоцитарного (CD31+CD61+) и эндотелиального (CD62e+) происхождения, измеренный методом проточной цитометрии, был значительно выше у пациентов с легочной

Таблица 1. Основные лабораторные показатели

Показатель	Доноры (n = 11)	ХТЭЛГ (n = 14)	ХТЭБ (n = 7)	p
СРБ, мг/л	2,57 [0,34–4,89]	5,09 [1,77–9,80]	0,37 [0,20–0,44]	$p_{\text{контр.-ХТЭЛГ}} = 0,016$ $p_{\text{контр.-ХТЭБ}} = 0,002$ $p_{\text{ХТЭБ-ХТЭЛГ}} = 0,0001$
D-димер, мкг/мл FEU	0,36 [0,27–0,42]	0,33 [0,28–1,10]	0,34 [0,27–0,41]	$p_{\text{контр.-ХТЭЛГ}} > 0,05$ $p_{\text{контр.-ХТЭБ}} > 0,05$ $p_{\text{ХТЭБ-ХТЭЛГ}} > 0,05$
Фибриноген, г/л	2,40 [2,18–3,05]	3,40 [2,90–3,90]	2,80 [2,70–2,90]	$p_{\text{контр.-ХТЭЛГ}} = 0,0012$ $p_{\text{контр.-ХТЭБ}} = 0,0364$ $p_{\text{ХТЭБ-ХТЭЛГ}} = 0,0479$
Фактор Виллебранда, %	76,00 [75,75–83,50]	173,00 [131,50–232,00]	173,50 [94,25–216,00]	$p_{\text{контр.-ХТЭЛГ}} = 0,0003$ $p_{\text{контр.-ХТЭБ}} = 0,0087$ $p_{\text{ХТЭБ-ХТЭЛГ}} > 0,05$
Фактор VIII, %	93,5 [43,00–142,80]	161,1 [104,50–211,00]	143,6 [88,00–192,00]	$p_{\text{контр.-ХТЭЛГ}} > 0,039$ $p_{\text{контр.-ХТЭБ}} > 0,047$ $p_{\text{ХТЭБ-ХТЭЛГ}} > 0,05$

Table 1. Main laboratory results

Parameters	Donors (n = 11)	CTEPH (n = 14)	CTED (n = 7)	p
C-RP, mg/l	2.57 [0.34–4.89]	5.09 [1.77–9.80]	0.37 [0.20–0.44]	$P_{\text{donor-CTEPH}} = 0.016$ $P_{\text{donor-CTED}} = 0.002$ $P_{\text{CTED-CTEPH}} = 0.0001$
D-dimer, mkg/ml FEU	0.36 [0.27–0.42]	0.33 [0.28–1.10]	0.34 [0.27–0.41]	$P_{\text{donor-CTEPH}} > 0.05$ $P_{\text{donor-CTED}} > 0.05$ $P_{\text{CTED-CTEPH}} > 0.05$
Fibrinogen, g/l	2.40 [2.18–3.05]	3.40 [2.90–3.90]	2.80 [2.70–2.90]	$P_{\text{donor-CTEPH}} = 0.0012$ $P_{\text{donor-CTED}} = 0.0364$ $P_{\text{CTED-CTEPH}} = 0.0479$
Willebrand factor, %	76.00 [75.75–83.50]	173.00 [131.50–232.00]	173.50 [94.25–216.00]	$P_{\text{donor-CTEPH}} = 0.0003$ $P_{\text{donor-CTED}} = 0.0087$ $P_{\text{CTED-CTEPH}} > 0.05$
Factor VIII, %	93.5 [43.00–142.80]	161.1 [104.50–211.00]	143.6 [88.00–192.00]	$P_{\text{donor-CTEPH}} > 0.039$ $P_{\text{donor-CTED}} > 0.047$ $P_{\text{CTED-CTEPH}} > 0.05$

гипертензией (ЛГ) относительно контрольной группы [27, 28]. При этом уровень внеклеточных везикул коррелировал с тяжестью заболевания и был ассоциирован с неблагоприятными клиническими исходами [29, 30]. В настоящем исследовании также выявлены значимые положительные корреляции между количеством внеклеточных везикул тромбоцитарного происхождения (CD9+CD41+) и уровнями СРБ ( $r = 0,786$ ,  $p = 0,021$ ) и D-димера ( $r = 0,510$ ,  $p = 0,044$ ) у пациентов с ХТЭЛГ. Таким образом, увеличение относительного содержания тромбоцитарных ВВ у пациентов связано с воспалительным компонентом и может являться диагностическим маркером посттромбоэмболического синдрома.

При исследовании ТГТ с использованием ТФ-ВВ в качестве триггера были получены данные, представленные в таблице 3. В группе ХТЭЛГ значимо снижены количественные показатели и удлинены временные относительно группы контроля, что указывает о снижении активности микрочастиц в исследуемой группе ( $p < 0,05$ ). Однако после нормализации параметров ТГТ было выявлено, что у пациентов с ХТЭЛГ по сравнению с донорами значимо увеличены только хронометрические показатели теста: время LagTime и ttPeak ( $p < 0,05$ ) (табл. 3). В результате исследования ТГТ в PNP были получены следующие показатели: LagTime — 12,57 мин, ETP — 1032,31 нмоль/л×мин, Peak — 120,20 нмоль/л, ttPeak — 16,92 мин,

Таблица 2. Профиль циркулирующих внеклеточных везикул

Показатель	Доноры (n = 11)	ХТЭЛГ (n = 14)	ХТЭБ (n = 7)	p
CD9+CD41+, %	15,8 [8,4–27,6]	42,2 [26,3–54,9]	40,8 [29,8–58,0]	$P_{\text{контр.-ХТЭЛГ}} = 0,036$ $P_{\text{контр.-ХТЭБ}} = 0,041$ $P_{\text{ХТЭБ-ХТЭЛГ}} > 0,05$
CD9+CD105+, %	1,9 [1,43–2,8]	4,75 [2,23–5,9]	10,3 [4,1–11,9]	$P_{\text{контр.-ХТЭЛГ}} = 0,06$ $P_{\text{контр.-ХТЭБ}} = 0,003$ $P_{\text{ХТЭБ-ХТЭЛГ}} > 0,05$
CD9+CD45+, %	6,3 [5,2–10,9]	4,8 [2,9–7,6]	8,5 [4,0–11,3]	$P_{\text{контр.-ХТЭЛГ}} > 0,05$ $P_{\text{контр.-ХТЭБ}} > 0,05$ $P_{\text{ХТЭБ-ХТЭЛГ}} > 0,05$
CD9+CD235a+, %	6,2 [5,3 – 6,9]	4,7 [3,9–5,2]	6,1 [4,7–7,1]	$P_{\text{контр.-ХТЭЛГ}} > 0,05$ $P_{\text{контр.-ХТЭБ}} > 0,05$ $P_{\text{ХТЭБ-ХТЭЛГ}} > 0,05$

Table 2. Phenotyping of circulating extracellular vesicles

Parameter	Donors n = 11)	СТЕРН (n = 14)	СТЕД (n = 7)	p
CD9+CD41+, %	15.8 [8.4–27.6]	42.2 [26.3–54.9]	40.8 [29.8–58.0]	$P_{\text{donor-СТЕРН}} = 0.036$ $P_{\text{donor-СТЕД}} = 0.041$ $P_{\text{СТЕД-СТЕРН}} > 0.05$
CD9+CD105+, %	1.9 [1.43–2.8]	4.75 [2.23–5.9]	10.3 [4.1–11.9]	$P_{\text{donor-СТЕРН}} = 0.06$ $P_{\text{donor-СТЕД}} = 0.003$ $P_{\text{СТЕД-СТЕРН}} > 0.05$
CD9+CD45+, %	6.3 [5.2–10.9]	4.8 [2.9–7.6]	8.5 [4.0–11.3]	$P_{\text{donor-СТЕРН}} > 0.05$ $P_{\text{donor-СТЕД}} > 0.05$ $P_{\text{СТЕД-СТЕРН}} > 0.05$
CD9+CD235a+, %	6,2 [5,3 – 6,9]	4,7 [3,9–5,2]	6,1 [4,7–7,1]	$P_{\text{donor-СТЕРН}} > 0.05$ $P_{\text{donor-СТЕД}} > 0.05$ $P_{\text{СТЕД-СТЕРН}} > 0.05$

VI — 28,91 нмоль/мин, что указывает на снижение генерации тромбина в отсутствие ТФ в пробе плазмы.

Удлинение LagTime у пациентов с ХТЭЛГ по сравнению с контрольной группой свидетельствует либо о снижении активности микрочастиц, либо об эффекте потребления активированных ВВ в результате активации каскада коагуляции. В недавнем исследовании с использованием выделенных ВВ было определено, что в образцах с повышенным образованием тромбина микрочастицы вносят вклад в различные параметры ТГТ: 50 ± 19 % для Peak thr., 58 ± 24 % для VI и 35 ± 13 % для ЕТР. Однако в образцах плазмы с нормальными показателями ТГТ микро-

частицы не способствуют генерации тромбина [31]. Поэтому нельзя утверждать, что полученные нами результаты говорят о снижении коагуляционной активности ВВ. В ранее проведенном исследовании мы обнаружили, что у пациентов с идиопатической легочной артериальной гипертензией наблюдалось значимое снижение активности тромбинообразования [32]. В другом исследовании была зарегистрирована склонность к гипокоагуляции у пациентов с легочной артериальной гипертензией (ЛАГ) [33]. Так, анализ ЕТР выявил значительно сниженные значения ЕТР, Peak thr. и ttPeak у пациентов с ЛАГ. Длительный гемостатический стимул, вызванный,

Таблица 3. Показатели теста генерации тромбина в разных группах

Показатель	Доноры (n = 11)	ХТЭЛГ (n = 14)	ХТЭБ (n = 7)	p
LagTime, мин	10,6 [10,0–11,4]	11,6 [10,8–15,6]	11,3 [9,6–14,0]	$p_{\text{контр.-ХТЭЛГ}} = 0,025$ $p_{\text{контр.-ХТЭБ}} > 0,05$ $p_{\text{ХТЭЛГ-ХТЭБ}} > 0,05$
ЕТР, нмоль/ л×мин	1554,0 [1459,0–1666,7]	1188,2 [1063,5–1409,0]	1362,5 [1319,0–1512,0]	$p_{\text{контр.-ХТЭЛГ}} = 0,01$ $p_{\text{контр.-ХТЭБ}} > 0,05$ $p_{\text{ХТЭЛГ-ХТЭБ}} > 0,05$
Peak, нмоль/л	222,2 [169,9–246,2]	112,6 [93,73–164,9]	175,7 [135,1–193,3]	$p_{\text{контр.-ХТЭЛГ}} = 0,01$ $p_{\text{контр.-ХТЭБ}} > 0,05$ $p_{\text{ХТЭЛГ-ХТЭБ}} > 0,05$
ttPeak, мин	14,8 [14,3–16,5]	16,8 [15,1–19,3]	16,1 [13,6–18,8]	$p_{\text{контр.-ХТЭЛГ}} = 0,04$ $p_{\text{контр.-ХТЭБ}} > 0,05$ $p_{\text{ХТЭЛГ-ХТЭБ}} > 0,05$
VI, нмоль/мин	45,8 [34,9–66,9]	21,8 [17,0–38,0]	40,5 [27,9–52,7]	$p_{\text{контр.-ХТЭЛГ}} > 0,05$ $p_{\text{контр.-ХТЭБ}} > 0,05$ $p_{\text{ХТЭЛГ-ХТЭБ}} > 0,05$
LagTime, мин	10,6 [10,0–11,4]	11,6 [10,8–15,6]	11,3 [9,6–14,0]	$p_{\text{контр.-ХТЭЛГ}} = 0,025$ $p_{\text{контр.-ХТЭБ}} > 0,05$ $p_{\text{ХТЭЛГ-ХТЭБ}} > 0,05$
<b>Данные после нормализации</b>				
LagTime, %	83,9 [79,0–93,3]	94,1 [91,4–117,3]	97,1 [72,8–111,8]	$p_{\text{контр.-ХТЭЛГ}} = 0,010$ $p_{\text{контр.-ХТЭБ}} > 0,05$ $p_{\text{ХТЭЛГ-ХТЭБ}} > 0,05$
ЕТР, %	129,2 [113,6–195,3]	140,6 [105,1–156,1]	140,6 [109,5–175,8]	$p_{\text{контр.-ХТЭЛГ}} = 0,05$ $p_{\text{контр.-ХТЭБ}} > 0,05$ $p_{\text{ХТЭЛГ-ХТЭБ}} > 0,05$
Peak thr., %	136,3 [109,8–284,5]	112,5 [89,9–164,2]	167,8 [125,9–184,7]	$p_{\text{контр.-ХТЭЛГ}} > 0,05$ $p_{\text{контр.-ХТЭБ}} > 0,05$ $p_{\text{ХТЭЛГ-ХТЭБ}} > 0,05$
ttPeak, %	87,9 [85,7–97,6]	100,5 [90,9–114,3]	98,0 [80,8–111,4]	$p_{\text{контр.-ХТЭЛГ}} = 0,045$ $p_{\text{контр.-ХТЭБ}} > 0,05$ $p_{\text{ХТЭЛГ-ХТЭБ}} > 0,05$
VI, %	153,6 [121,3–237,4]	93,1 [62,8–120,3]	154,7 [106,2–187,7]	$p_{\text{контр.-ХТЭЛГ}} = 0,05$ $p_{\text{контр.-ХТЭБ}} > 0,05$ $p_{\text{ХТЭЛГ-ХТЭБ}} > 0,05$

Table 3. Parameters of a thrombin generation test

Parameter	Donors (n = 11)	СТЕРН (n = 14)	СТЕД (n = 7)	p
LagTime, min	10.6 [10.0–11.4]	11.6 [10.8–15.6]	11.3 [9.6–14.0]	$p_{\text{donor-СТЕРН}} = 0,025$ $p_{\text{donor-СТЕД}} > 0,05$ $p_{\text{СТЕРН-СТЕД}} > 0,05$
ETP, nmol/ l×min	1554.0 [1459.0–1666.7]	1188.2 [1063.5–1409.0]	1362.5 [1319.0–1512.0]	$p_{\text{donor-СТЕРН}} = 0,01$ $p_{\text{donor-СТЕД}} > 0,05$ $p_{\text{СТЕРН-СТЕД}} > 0,05$
Peak, nmol/l	222.2 [169.9–246.2]	112.6 [93.73–164.9]	175.7 [135.1–193.3]	$p_{\text{donor-СТЕРН}} = 0,01$ $p_{\text{donor-СТЕД}} > 0,05$ $p_{\text{СТЕРН-СТЕД}} > 0,05$
ttPeak, min	14.8 [14.3–16.5]	16.8 [15.1–19.3]	16,1 [13.6–18.8]	$p_{\text{donor-СТЕРН}} = 0,04$ $p_{\text{donor-СТЕД}} > 0,05$ $p_{\text{СТЕРН-СТЕД}} > 0,05$
VI, nmol/min	45.8 [34.9–66.9]	21.8 [17.0–38.0]	40.5 [27.9–52,7]	$p_{\text{donor-СТЕРН}} > 0,05$ $p_{\text{donor-СТЕД}} > 0,05$ $p_{\text{СТЕРН-СТЕД}} > 0,05$
LagTime, min	10.6 [10.0–11.4]	11,6 [10.8–15.6]	11,3 [9,6–14,0]	$p_{\text{donor-СТЕРН}} = 0,025$ $p_{\text{donor-СТЕД}} > 0,05$ $p_{\text{СТЕРН-СТЕД}} > 0,05$
<b>Parameters after normalization</b>				
LagTime, %	83.9 [79.0–93.3]	94.1 [91.4–117.3]	97.1 [72.8–111.8]	$p_{\text{donor-СТЕРН}} = 0,010$ $p_{\text{donor-СТЕД}} > 0,05$ $p_{\text{СТЕРН-СТЕД}} > 0,05$
ETP, %	129.2 [113.6–195.3]	140.6 [105.1–156.1]	140.6 [109.5–175.8]	$p_{\text{donor-СТЕРН}} = > 0,05$ $p_{\text{donor-СТЕД}} > 0,05$ $p_{\text{СТЕРН-СТЕД}} > 0,05$
Peak thr., %	136.3 [109.8–284.5]	112.5 [89.9–164.2]	167.8 [125.9–184.7]	$p_{\text{donor-СТЕРН}} > 0,05$ $p_{\text{donor-СТЕД}} > 0,05$ $p_{\text{СТЕРН-СТЕД}} > 0,05$
ttPeak, %	87.9 [85.7–97.6]	100.5 [90.9–114.3]	98.0 [80.8–111.4]	$p_{\text{donor-СТЕРН}} = 0,045$ $p_{\text{donor-СТЕД}} > 0,05$ $p_{\text{СТЕРН-СТЕД}} > 0,05$
VI, %	153.6 [121.3–237.4]	93.1 [62.8–120.3]	154.7 [106.2–187.7]	$p_{\text{donor-СТЕРН}} > 0,05$ $p_{\text{donor-СТЕД}} > 0,05$ $p_{\text{СТЕРН-СТЕД}} > 0,05$

например, эндотелиальной дисфункцией и длительной активацией прокоагулянтных путей, также может приводить к постоянной и избыточной продукции тромбина и к «истощению» способности генерировать тромбин [33].

### Заключение

Повышение уровня внеклеточных везикул тромбоцитарного и эндотелиального происхождения у пациентов с ХТЭЛГ и ХТЭБ подтверждает активацию тромбоцитов и повреждение эндотелия, что характерно для посттромбоэмболического синдрома. При этом ХТЭЛГ ассоции-

ровано с повышением С-реактивного белка и демонстрирует патофизиологическую взаимосвязь между повреждением эндотелия, тромбоцитарными реакциями и воспалением.

Зарегистрированная с помощью ТГТ более низкая, чем в контрольной группе, активность генерации тромбина возможна в результате эффекта потребления коагуляционно более активных ВВ при эндотелиальной дисфункции, либо при длительной активации прокоагулянтных путей, что подтверждается достоверным повышением уровня фактора VIII и антигена фактора Виллебранда у пациентов с ХТЭЛГ.

**Конфликт интересов / Conflict of interest**

Авторы заявили об отсутствии потенциально-го конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

**Финансирование / Funding**

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-25-20132, <https://rscf.ru/project/22-25-20132/> / The research was carried out at the expense of the grant of the Russian Science Foundation No. 22-25-20132, <https://rscf.ru/project/22-25-20132/>

**Список литературы / References**

- Lachant D, Bach C, Wilson B, et al. Clinical and imaging outcomes after intermediate — or high-risk pulmonary embolus. *Pulm Circ.* 2020; 10(3):2045894020952019. DOI: 10.1177/2045894020952019.
- Simonneau G, Torbicki A, Dorfmüller P, et al. The pathophysiology of chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Eur Respir Rev.* 2017; 26(143):160112. DOI: 10.1183/16000617.0112-2016.
- Pang W, Zhang Z, Wang Z, et al. Higher Incidence of Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension After Acute Pulmonary Embolism in Asians Than in Europeans: A Meta-Analysis. *Front Med (Lausanne).* 2021; 8:721294. DOI: 10.3389/fmed.2021.721294.
- Held M, Kolb P, Grün M, et al. Functional Characterization of Patients with Chronic Thromboembolic Disease. *Respiration.* 2016; 5091(6):503–9. DOI: 10.1159/000447247.
- Ramírez P, Otero R, Barberà JA. Pulmonary chronic thromboembolic disease. *Arch Bronconeumol.* 2020; 56(5):314–321. DOI: 10.1016/j.arbr.2020.03.007.
- Konstantinides SV. Chronic thromboembolic disease following pulmonary embolism: more work ahead. *Eur Respir J.* 2020; 55(4):2000229. DOI: 10.1183/13993003.00229-2020.
- Delcroix M, Torbicki A, Gopalan D, et al. ERS statement on chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Eur Respir J.* 2021; 57(6):2002828. DOI: 10.1183/13993003.02828-2020.
- Kato F, Tanabe N, Ishida K, et al. Coagulation-Fibrinolysis System and Postoperative Outcomes of Patients With Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension. *Circ J.* 2016; 80(4):970–979. DOI: 10.1253/circj.CJ-15-1208.
- Frey MK, Alias S, Winter MP, et al. Splenectomy is modifying the vascular remodeling of thrombosis. *J Am Heart Assoc.* 2014; 3(1):e000772. DOI: 10.1161/JAHA.113.000772.
- Khandagale A, Åberg M, Wikström G, et al. Role of Extracellular Vesicles in Pulmonary Arterial Hypertension: Modulation of Pulmonary Endothelial Function and Angiogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2020; 40(9):2293–2309. DOI: 10.1161/ATVBAHA.120.314152.
- Mohan A, Agarwal S, Clauss M, et al. Extracellular vesicles: novel communicators in lung diseases. *Respir Res.* 2020; 21(1):175. DOI: 10.1186/s12931-020-01423-y.
- Diehl P, Aleker M, Helbing T, et al. Increased platelet, leukocyte and endothelial microparticles predict enhanced coagulation and vascular inflammation in pulmonary hypertension. *J Thromb Thrombolysis.* 2011; 31(2):173–179. DOI: 10.1007/s11239-010-0507-z.
- Alias S, Lang IM. Coagulation and the vessel wall in pulmonary embolism. *Pulm Circ.* 2013; 3(4):728–738. DOI: 10.1086/674768.
- Bidot L, Jy W, Bidot C Jr, et al. Microparticle-mediated thrombin generation assay: increased activity in patients with recurrent thrombosis. *J Thromb Haemost.* 2008; 6(6):913–919. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2008.02963.x.
- Galiè N, Humbert M, Vachiery JL, et al. 2015 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: The Joint Task Force for the Diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS): Endorsed by: Association for European Paediatric and Congenital Cardiology (AEPC), International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT). *Eur Heart J.* 2016; 37(1):67–119. DOI: 10.1093/eurheartj/ehv317.
- Lacroix R, Judicone C, Mooberry M, et al. Standardization of pre-analytical variables in plasma microparticle determination: results of the international society on thrombosis and haemostasis SSC collaborative workshop. *J Thromb Haemost.* 2013; 2:10.1111/jth.12207.
- Melnichnikova O, Zhilenkova Y, Sirotkina O et al. Circulating Small Extracellular Vesicles Profiling and Thrombin Generation as Potential Markers of Thrombotic Risk in Glioma Patients. *Front. Cardiovasc. Med.* 2022; 9:789937.
- Hemker HC, Giesen P, Al Dieri R, et al. Calibrated automated thrombin generation measurement in clotting plasma. *Pathophysiol Haemost Thromb.* 2003; 33(1):4–15. DOI: 10.1159/000071636.
- Guth S, D'Armini AM, Delcroix M, et al. Current strategies for managing chronic thromboembolic pulmonary hypertension: results of the worldwide prospective CTEPH Registry. *ERJ Open Res.* 2021; 7(3):00850–2020. DOI: 10.1183/23120541.00850-2020.
- Dodson MW, Sumner K, Carlsen J, et al. The Factor V Leiden variant and risk of chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Eur Respir J.* 2020; 56(4):2000774. DOI: 10.1183/13993003.00774-2020.
- Yang M, Deng C, Wu D, et al. The role of mononuclear cell tissue factor and inflammatory cytokines in patients with chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *J Thromb Thrombolysis.* 2016; 42(1):38–45. DOI: 10.1007/s11239-015-1323-2.
- Skoro-Sajer N, Gerges C, Gerges M, et al. Usefulness of thrombosis and inflammation biomarkers in chronic thromboembolic pulmonary hypertension-sampling plasma and surgical specimens. *J Heart Lung Transplant.* 2018; 37(9):1067–1074. DOI: 10.1016/j.healun.2018.04.003.
- Sharma S, Lang IM. Current understanding of the pathophysiology of chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Thromb Res.* 2018; 164:136–144. DOI: 10.1016/j.thromres.2017.06.011.
- Chazova IE, Karabasheva MB, Danilov NM, et al. Chronic thromboembolic pulmonary hypertension: modern view on the problem. *Russian Cardiology Bulletin.* 2019; 14(2):14–23. In Russian [Чазова И.Е., Карабашева М.Б., Данилов Н.М. и др. Хроническая тромбоземболическая легочная гипертензия: современный взгляд на проблему. *Кардиологический вестник.* 2019; 14(2):14–23.] DOI: 10.17116/Cardiobulletin20191402114.

25. Newnham M, South K, Bleda M, et al. The ADAMTS13-VWF axis is dysregulated in chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Eur Respir J*. 2019; 53(3):1801805. DOI: 10.1183/13993003.01805-2018.
26. Banaszkievicz M, Gąsecka A, Darocha S, et al. Circulating Blood-Based Biomarkers in Pulmonary Hypertension. *J Clin Med*. 2022; 11(2):383. DOI: 10.3390/jcm11020383.
27. Amabile N, Rautou PE, Tedgui A, et al. Microparticles: key protagonists in cardiovascular disorders. *Semin Thromb Hemost*. 2010; 36(8):907–916. DOI: 10.1055/s-0030-1267044.
28. Ohayon L, Zhang X, Dutta P. The role of extracellular vesicles in regulating local and systemic inflammation in cardiovascular disease. *Pharmacol Res*. 2021; 170:105692. DOI: 10.1016/j.phrs.2021.105692.
29. Amabile N, Heiss C, Real WM, et al. Circulating endothelial microparticle levels predict hemodynamic severity of pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008; 177(11):1268–1275. DOI: 10.1164/rccm.200710-1458OC.
30. Amabile N, Heiss C, Chang V, et al. Increased CD62e(+) endothelial microparticle levels predict poor outcome in pulmonary hypertension patients. *J Heart Lung Transplant*. 2009; 28(10):1081–1086. DOI: 10.1016/j.healun.2009.06.005.
31. Gasa N, Meiring M. Microparticles: a link to increased thrombin generation. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2021; 32(3):204–208. DOI: 10.1097/MBC.0000000000001018.
32. Melnichnikova O, Simakova M, Moiseeva O, et al. The dynamics of thrombin formation in patients with pulmonary arterial hypertension. *Thromb Res*. 2021; 208:230–232. DOI: 10.1016/j.thromres.2021.07.015.
33. Vrigkou E, Tsangaris I, Bonovas S, et al. Platelet and coagulation disorders in newly diagnosed patients with pulmonary arterial hypertension. *Platelets*. 2019; 30(5):646–651. DOI: 10.1080/09537104.2018.1499890.
- нетических и нанобиологических технологий Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова;
- Жиленкова Юлия Исмаиловна, к.м.н., доцент кафедры лабораторной медицины и генетики ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;
- Моисеева Ольга Михайловна, д.м.н., профессор, заведующий научно-исследовательским отделом некоронарогенных заболеваний сердца ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;
- Вавилова Татьяна Владимировна, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой лабораторной медицины и генетики ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России.

**Author information:**

Ekaterina A. Zolotova, PhD student of Department of Laboratory Medicine and Genetics, Almazov National Medical Research Centre;

Maria A. Simakova, MD, PhD, Senior Researcher, Noncoronary Heart Disease Department, Head of Research Group of Cardio-oncology, Research Centre of Personalized Oncology, World-Class Research Centre for Personalized Medicine, Almazov National Medical Research Centre;

Olga S. Melnichnikova, MD, PhD, Senior Researcher, Research Group of Cardio-Oncology, World-Class Research Centre for Personalized Medicine, Almazov National Medical Research Centre;

Olga V. Sirotkina, MD, PhD, DSc, professor of Department of Laboratory Medicine and Genetics, Almazov National Medical Research Centre, senior researcher, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute»; senior researcher, Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University;

Yulia I. Zhilenkova, MD, PhD, Associate Professor of Department of Laboratory Medicine and Genetics, Almazov National Medical Research Centre;

Olga M. Moiseeva, MD, PhD, DSc, Professor, Head, Noncoronary Heart Disease Department, Almazov National Medical Research Centre;

Tatiana V. Vavilova, MD, PhD, DSc, Professor, Head of Department of Laboratory Medicine and Genetics, Almazov National Medical Research Centre.

**Информация об авторах:**

Золотова Екатерина Алексеевна, аспирант кафедры лабораторной медицины и генетики ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Симакова Мария Александровна, к.м.н., старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории кардиомиопатий, руководитель научно-исследовательской группы по кардиоонкологии научно-исследовательского центра персонализированной медицины НЦМУ «Центр персонализированной медицины», ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Мельничникова Ольга Сергеевна, к.м.н., старший научный сотрудник научно-исследовательской группы по кардиоонкологии научно-исследовательского центра персонализированной медицины НЦМУ «Центр персонализированной медицины», ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Сироткина Ольга Васильевна, д.б.н., профессор кафедры лабораторной медицины и генетики ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России; ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики человека Петербургского института ядерной физики им. Б. П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»; старший научный сотрудник отдела молекулярно-ге-