

# ЭКСПРЕССИЯ МАРКЕРОВ АПОПТОЗА Bcl-2 и Вах В СОСУДИСТОЙ СТЕНКЕ

DOI: 10.17691/stm2021.13.2.05

УДК 577.24:616.12/.13–002.17/.18–092

Поступила 17.08.2020 г.



**Э.А. Климентова**, к.м.н., аспирант кафедры сердечно-сосудистой, рентгенэндоваскулярной, оперативной хирургии и топографической анатомии<sup>1</sup>;

**И.А. Сучков**, д.м.н., профессор кафедры сердечно-сосудистой, рентгенэндоваскулярной, оперативной хирургии и топографической анатомии<sup>1</sup>;

**А.В. Шулькин**, к.м.н., доцент кафедры фармакологии с курсом фармации факультета дополнительного профессионального образования<sup>1</sup>;

**А.П. Глазкова**, врач-анестезиолог<sup>2</sup>;

**Р.Е. Калинин**, д.м.н., профессор, зав. кафедрой сердечно-сосудистой, рентгенэндоваскулярной, оперативной хирургии и топографической анатомии<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова, ул. Высоковольная, 9, Рязань, 390026;

<sup>2</sup>Областная клиническая больница, ул. Интернациональная, 3а, Рязань, 390039

**Цель исследования** — оценить экспрессию белков Bcl-2 и Вах, их соотношение и связь с уровнем холестерина сыворотки крови в гомогенате сосудистой стенки у пациентов с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей (ОААНК) III–IV стадии.

**Материалы и методы.** В исследование вошли 32 пациента с ОААНК III–IV стадии. У пациентов забирали интраоперационный материал, представляющий собой все три слоя сосудистой стенки. Образцы артериальной стенки вместе с атеросклеротической бляшкой (АТБ) были взяты при выполнении первичных открытых операций на магистральных артериях нижних конечностей. В качестве контроля использовали образцы сосудистой стенки артерий без видимых признаков атеросклероза. На основании ультразвуковой характеристики структуры АТБ пациенты были разделены на две группы: со смешанной экзогенностью и с гиперэкзогенными (кальцинированными) АТБ. Образцы сосудов измельчали и готовили гомогенаты сосудистой стенки. Измеряли уровни Bcl-2, Вах и холестерина.

**Результаты.** В артериальной стенке без атеросклеротических изменений уровень антиапоптотического белка Bcl-2 составил 1,25 нг/мг, проапоптотического белка Вах — 4,7 нг/мг. В стенке артерий с АТБ со смешанной экзогенностью экспрессия Bcl-2 составила 1,8 нг/мг ( $p=0,143$ ), Вах — 5,1 нг/мг ( $p=0,834$ ) без статистически значимых отличий от уровня в неизменном участке сосуда. В стенке артерий в области гетерогенной кальцинированной АТБ экспрессия Bcl-2 составила 0,9 нг/мг ( $p=0,143$ ), Вах — 6,8 нг/мг, при этом уровень белка Вах был статистически значимо ( $p=0,02$ ) повышен в сравнении с его уровнем в стенке без видимых признаков атеросклероза. В АТБ с преобладанием гиперэкзогенного компонента при сравнении с АТБ со смешанной экзогенностью экспрессия Bcl-2 была статистически значимо ( $p=0,036$ ) снижена, а экспрессия Вах — повышена ( $p=0,036$ ). У пациентов с гиперэкзогенной АТБ выявлена обратная корреляция между значениями Вах и Bcl-2 ( $r=-0,315$ ) и прямая взаимосвязь между экспрессией Вах и уровнем холестерина в сыворотке крови ( $r=0,617$ ).

**Заключение.** В гиперэкзогенных (кальцинированных) АТБ экспрессия антиапоптотического белка Bcl-2 снижена, а проапоптотического белка Вах — повышена, что свидетельствует об активации системы апоптоза в прогрессирующих атеросклеротических поражениях. У пациентов с такими АТБ повышенный уровень холестерина прямо коррелирует с повышенной экспрессией проапоптотического белка Вах ( $r=0,617$ ).

**Ключевые слова:** атеросклеротическая бляшка; белки апоптоза; белки Вах и Bcl-2; атеросклероз артерий нижних конечностей; холестерин.

**Как цитировать:** Klimentova E.A., Suchkov I.A., Shchulkin A.V., Glazkova A.P., Kalinin R.E. Expression of apoptotic markers Bcl-2 and Вах in the vascular wall. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2021; 13(2): 46–51, <https://doi.org/10.17691/stm2021.13.2.05>

Для контактов: Климентова Эмма Анатольевна, e-mail: [klimentova.emma@yandex.ru](mailto:klimentova.emma@yandex.ru)

## Expression of Apoptotic Markers Bcl-2 and Bax in the Vascular Wall

**E.A. Klimentova**, MD, PhD, Department of Cardiovascular, X-ray Endovascular, Operative Surgery, and Topographic Anatomy<sup>1</sup>;

**I.A. Suchkov**, MD, DSc, Professor, Department of Cardiovascular, X-ray Endovascular, Operative Surgery, and Topographic Anatomy<sup>1</sup>;

**A.V. Shchulkin**, MD, PhD, Associate Professor, Department of Pharmacology and Pharmacy, Faculty of Supplementary Professional Education<sup>1</sup>;

**A.P. Glazkova**, Staff Anesthesiologist<sup>2</sup>;

**R.E. Kalinin**, MD, DSc, Professor, Head of the Department of Cardiovascular, X-ray Endovascular, Operative Surgery, and Topographic Anatomy<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ryazan State Medical University, 9 Vysokovolt'naya St., Ryazan, 390026, Russia;

<sup>2</sup>Ryazan Regional Clinical Hospital, 3a Internatsional'naya St., Ryazan, 390039, Russia

**The aim of the study** was to assess the levels of Bcl-2 and Bax proteins in the vascular wall and their correlation with serum cholesterol in patients with stage III–IV atherosclerosis obliterans of lower limb arteries.

**Materials and Methods.** The study included 32 patients with stage III–IV atherosclerosis obliterans of the lower limb. Samples of intraoperative material (all three layers of the vascular wall) including an atherosclerotic plaque (AP) were taken during primary open surgery on major leg arteries. As a control, we used samples of the arterial wall without visible signs of atherosclerosis. Based on AP ultrasonography, the patients were divided into two groups: with APs of mixed echogenicity and with hyperechoic (calcified) AP. The vascular samples were crushed and homogenized for further measurements of Bcl-2 and Bax proteins; in a separate setup, cholesterol in blood serum was measured.

**Results.** In patients without atherosclerotic changes, the level of the anti-apoptotic protein Bcl-2 in the arterial wall was 1.25 ng/mg, and that of the pro-apoptotic protein Bax — 4.7 ng/mg. In the case of APs of mixed echogenicity, the expression of Bcl-2 was 1.8 ng/mg ( $p=0.143$ ) and that of Bax — 5.1 ng/mg ( $p=0.834$ ), with no significant differences from AP-free vascular wall samples. In the arterial wall containing a heterogeneous calcified AP, the expression of Bcl-2 was 0.9 ng/mg ( $p=0.143$ ). In contrast, the level of Bax was 6.8 ng/mg, which showed its significant increase as compared with the non-AP controls ( $p=0.02$ ). In the cases with predominantly hyperechoic AP, the expression of Bcl-2 was significantly lower ( $p=0.036$ ), and that of Bax — significantly higher ( $p=0.036$ ) in comparison with AP of mixed echogenicity. In patients with hyperechoic AP, we found a negative correlation between the Bax and Bcl-2 values ( $r=-0.315$ ) and a positive correlation between the Bax expression and serum cholesterol ( $r=0.617$ ).

**Conclusion.** In arterial walls with hyperechoic (calcified) APs, the expression of anti-apoptotic protein Bcl-2 is reduced, and that of pro-apoptotic protein Bax is increased, which indicates the apoptosis activation in advanced atherosclerotic lesions. In patients with such APs, elevated cholesterol levels directly correlate with the increased expression of pro-apoptotic Bax protein ( $r=0.617$ ).

**Key words:** atherosclerotic plaque; apoptotic proteins; Bax and Bcl-2 proteins; lower limb arterial atherosclerosis; cholesterol.

### Введение

Большое количество людей в развитых странах мира страдают от атеросклеротического поражения коронарных, сонных и периферических артерий, а развитие атеротромботических осложнений остается основной причиной летальных исходов [1–4].

Важную роль в поддержании физиологического клеточного гомеостаза отводят системе апоптоза. Нарушение регуляции апоптоза связывают с инфекционными и онкологическими заболеваниями, а также с атеросклерозом [5]. Развитие атеросклероза вызывается накоплением окисленных липопротеинов низкой плотности (ОЛПНП), воспалительных цитокинов в сосудистой стенке, а также может быть обусловлено апоптозом макрофагов, гладкомышечных клеток (ГМК)

и эндотелиальных клеток [6]. N. Werner и соавт. [7] показали, что увеличение количества апоптотических микрочастиц приводит к развитию тяжелой эндотелиальной дисфункции вследствие повышенной проницаемости эндотелия с последующей миграцией воспалительных клеток и пролиферацией ГМК. Авторы [8] установили, что уменьшение уровня микроРНК-34a облегчает рост эндотелиальных клеток и ингибирует апоптоз клеток в атеросклеротической бляшке (АТБ) путем активации антиапоптотического белка Bcl-2 — это предполагает многообещающие возможности терапии атеросклероза.

Известно, что погибшие клетки являются основным компонентом АТБ и могут составлять до 80% от общей структуры. Разрыв фиброзной покрывки АТБ в области «некротического ядра» может быть

причиной развития тромбоза, ведущего к ишемии органов и тканей. Основные исследования по изучению системы апоптоза клеток сосудистой стенки были проведены на животных. Доказано, что на ранних стадиях атеросклероза апоптоз клеток уравновешивает их пролиферацию. На поздних стадиях заболевания апоптоз ГМК и макрофагов начинает преобладать, приводя к увеличению богатых липидами некротических областей [9].

Семейство белков Bcl-2 является одним из основных участников системы апоптоза, регулирующих проницаемость мембран митохондрий. Все белки данного семейства разделяются на проапоптотические (Bax, Bak и др.) и антиапоптотические (Bcl-2 и др.). От соотношения между ними будет зависеть, подвергнется клетка гибели или нет. После получения соответствующего сигнала белки Bax или Bak подвергаются конформационным изменениям и перемещаются в митохондриальную мембрану, где вызывают выделение цитохрома C в цитозоль [10, 11].

Существуют исследования поведения белков Bcl-2 и Bax в коронарных и сонных артериях животных. Работ, посвященных экспрессии данных белков в гомогенате сосудистой стенки у пациентов с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей (ОААНК) и триггеров их активации, при поиске в известных базах данных мы не нашли. Однако изучение соотношения белков апоптоза у таких больных могло бы дать дополнительную информацию о патогенезе атеросклероза и его осложнений.

**Цель исследования** — оценить экспрессию белков Bcl-2 и Bax, их соотношение и связь с уровнем холестерина сыворотки крови в гомогенате сосудистой стенки у пациентов с ОААНК III–IV стадии.

**Материалы и методы**

В исследование вошли 32 пациента мужского пола с ОААНК III–IV стадии, которые находились на лечении в отделении сосудистой хирургии Областной клинической больницы Рязани. Средний возраст их со-

ставлял 63,4±7,9 года. Всем пациентам проводилась традиционная лабораторная и инструментальная диагностика (ангиография и ультразвуковое дуплексное исследование артерий нижних конечностей) при поступлении в стационар.

После подписания информированного согласия у пациентов при выполнении первичных открытых операций на магистральных артериях нижних конечностей забирали интраоперационный материал, представляющий собой все три слоя сосудистой стенки с АТБ. В качестве контроля (n=12) использовали образцы артерий (их сосудистой стенки), полученные во время эксплантации органов от посмертных доноров без ОААНК.

На основании ультразвуковой характеристики структуры АТБ пациенты были разделены на две группы: со смешанной экзогенностью (1-я группа, n=16) и гиперэкзогенными (кальцинированными) АТБ (2-я группа, n=16) (табл. 1).

Образец сосуда измельчали и готовили гомогенат с помощью лизирующего буфера (Thermo Fisher Scientific, США) и роторного высокоскоростного гомогенизатора Diax 900, насадка 6G (Heidolph, Германия) со скоростью 24 000 об./мин в течение 60 с при температуре 2°C. Полученный гомогенат центрифугировали при 1000 g в течение 10 мин при температуре 2°C. В получившемся супернатанте методом иммуноферментного анализа определяли количество протеина Bcl-2 с помощью коммерческого набора Thermo Fisher Scientific и уровень Bax (Bcl-2 Associated X Protein) с помощью набора Cloud-Clone Corporation (Китай, США). Затем показатели пересчитывали на содержание белка, которое оценивали по методу Бредфорда с помощью набора Coomassie Plus (Bradford) Assay Kit (Thermo Fisher Scientific).

**Статистический анализ** данных проводили с использованием пакета программ Statistica 10.0. В связи с отклонением от нормального распределения данных (использовался критерий Шапиро–Уилка, p<0,05) для дальнейшего анализа применяли непараметрические тесты: для сравнения двух зависимых групп —

Т а б л и ц а 1  
**Характеристика исследуемых образцов**

Ультразвуковая характеристика сосудистой стенки	Стадия заболевания		Количество образцов	Область забора материала		
	III	IV		наружная подвздошная артерия	бедренная артерия	подколенная артерия
Неизменная артериальная стенка	—	—	12	4	4	4
Атеросклеротическая бляшка со смешанной экзогенностью	10	6	16	4	8	4
Гиперэкзогенная (кальцинированная) атеросклеротическая бляшка	6	10	16	3	7	6

тест Вилкоксона, для сравнения двух независимых групп — U-критерий Манна–Уитни, в качестве корреляционного использовали тест Спирмена. Результаты считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

### Результаты

Наше исследование показало, что в артериальной стенке без атеросклеротических изменений (контрольная группа) уровень Vcl-2 составляет 1,25 нг/мг, Вах — 4,7 нг/мг, соотношение Vcl-2 и Вах — 0,26. Уровень холестерина в сыворотке крови составил 4,2 ммоль/л.

В стенке артерий в области АТБ со смешанной экзогенностью количество антиапоптотического белка Vcl-2 составило 1,8 нг/мг, Вах — 5,1 нг/мг, соотношение Vcl-2 и Вах — 0,3. Уровень холестерина — 4,4 ммоль/л. Статистически значимых отличий от уровня холестерина и количества данных белков в артериальной стенке без признаков атеросклероза не отмечено.

В стенке артерий в области гетерогенной (кальцинированной) АТБ экспрессия Vcl-2 составила 0,9 нг/мг, Вах — 6,8 нг/мг, соотношение Vcl-2 и Вах — 0,13. Уровень холестерина составил 7,0 ммоль/л и был статистически значимо выше, чем у пациентов контрольной группы ( $p < 0,05$ ). Уровень белка Вах был статистически значимо ( $p < 0,05$ ) повышен в сравнении с его уровнем в артериальной стенке без видимых признаков атеросклероза (табл. 2).

В АТБ с преобладанием гиперэхогенного компонента экспрессия Vcl-2 была статистически значимо ( $p < 0,05$ ) снижена, а экспрессия Вах ( $p < 0,05$ ) — повышена в сравнении с их экспрессией в АТБ со смешанной экзогенностью.

У пациентов с гиперэхогенной (кальцинированной) АТБ при проведении корреляционного анализа выявлена обратная корреляция между значениями Вах и Vcl-2 ( $r = -0,315$ ; рис. 1) и прямая взаимосвязь между экспрессией Вах и уровнем холестерина в сыворотке крови ( $r = 0,617$ ; рис. 2).

Таблица 2

Уровни белков Vcl-2, Вах в гомогенате сосудистой стенки и холестерина в сыворотке крови (Ме [Q1; Q3])

Исследуемые участки артериальной стенки	Vcl-2, нг/мг	Вах, нг/мг	Vcl-2/Вах	Холестерин, ммоль/л
Сосудистая стенка артерий без видимых признаков атеросклероза	1,25 [1,21; 1,30]	4,7 [3,8; 5,6]	0,26 [0,20; 0,30]	4,2 [3,2; 4,3]
Атеросклеротическая бляшка со смешанной экзогенностью	1,80 [1,60; 1,83]	5,1 [1,3; 5,1]	0,30 [0,40; 1,30]	4,4 [3,2; 5,7]
Гиперэхогенная (кальцинированная) атеросклеротическая бляшка	0,90* [0,60; 1,20]	6,8* [6,3; 7,1]	0,13* [0,09; 0,14]	7,0 [4,2; 7,3]

\* — статистически значимые изменения ( $p < 0,05$ ) по сравнению с экспрессией в АТБ со смешанной экзогенностью.

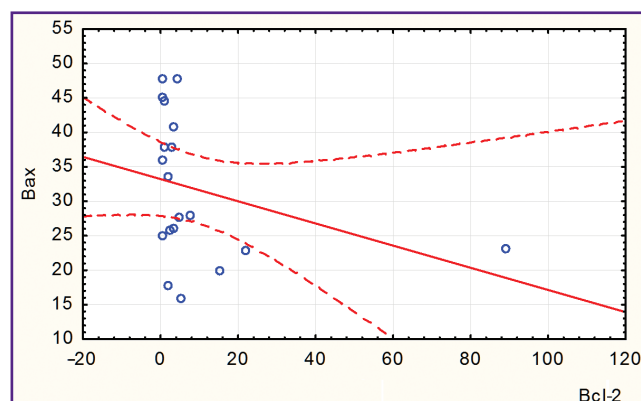


Рис. 1. Обратная корреляционная взаимосвязь между значениями Vcl-2 и Вах у пациентов с гиперэхогенной (кальцинированной) атеросклеротической бляшкой

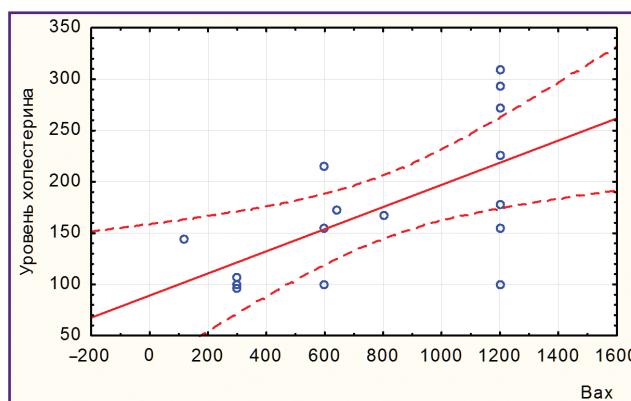


Рис. 2. Корреляционная взаимосвязь между значениями Вах и уровнем холестерина у пациентов с гиперэхогенной (кальцинированной) атеросклеротической бляшкой

## Обсуждение

В ходе нашего исследования было определено количество белков Vcl-2 и Вах в неизменной артериальной стенке периферических артерий человека. В норме клетки неповрежденного сосуда демонстрируют высокоэффективный клиренс апоптотических тел фагоцитами и соседними клетками без развития воспалительной реакции, что создает условия для нормального развития и функционирования [12].

При атеросклеротическом поражении уровни этих белков изменяются по-разному. В гиперэхогенной (кальцинированной) АТБ уровень Vcl-2 снижен, а уровень белка Вах повышен в сравнении с их уровнем в АТБ со смешанной эхогенностью. Это связано с тем, что апоптоз клеток внутри АТБ приводит к ремоделированию сосудистой стенки, высвобождению IL-1 и IL-8, активации моноцит-хемоаттрактантных белков, повышению протромбогенного статуса путем активации тромбина. Полученные данные согласуются с результатами исследований на животных [13, 14], которые показали, что на ранних стадиях атеросклеротического поражения количество клеток, подвергающихся апоптозу, составляет около 10% и увеличивается по мере прогрессирования заболевания. Проапоптотические маркеры Fas, каспаза-3 были локализованы в эндотелии и ГМК меди ближе к внутреннему просвету сосуда. Антиапоптотический белок Vcl-2 был обнаружен в макрофагах и ГМК в более глубоких слоях сосудистой стенки.

Проведенное исследование показало, что повышенный уровень проапоптотического белка Вах связан с отложением кальция в бляшках. Это обусловлено тем, что матричные везикулоподобные структуры в бляшках являются апоптотическими остатками, которые должны быть быстро очищены соседними фагоцитами. В преимущественно бесклеточном липидном ядре АТБ фагоцитоз апоптотических клеток может быть нарушен из-за присутствия оЛПНП, которые конкурируют с ними за связывание с фагоцитами. Нефагоцитозированные апоптотические клетки могут подвергнуться вторичному некрозу, который в последующем кальцинируется.

Нужно отметить, что сами апоптотические тельца могут концентрировать и связывать кальций. В современной литературе мы встретили только одно исследование по данной проблеме. D. Proudfoot и соавт. [15] в эксперименте *in vitro* показали, что применение ингибитора каспаз может уменьшать кальцификацию клеток в АТБ.

Полученная корреляционная связь между уровнями Вах и холестерина показывает, что повышенное количество холестерина играет важную роль в запуске митохондриального пути апоптоза. Холестерин входит в состав клеточной мембраны и при повышенных количествах изменяет ее проницаемость, способствуя также дестабилизации и разрыву лизосом, что в свою очередь вызывает гибель клеток. Кроме того, про-

апоптотическое действие холестерина может быть обусловлено снижением антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы) при повышении генерации активных форм кислорода. Согласно данным исследования [16], оЛПНП приводят к активации рецепторного пути апоптоза с последующей активацией каспаз и проапоптотического белка p53. Наше исследование доказало, что повышенный уровень холестерина в сыворотке крови пациентов с ОААНК способствует активации маркеров митохондриального пути гибели клеток, а именно белков семейства Vcl-2.

Для повышения точности и надежности прогнозирования прогрессирования атеросклеротического поражения в сосудистой стенке и поиска возможных медикаментозных способов коррекции необходимы дальнейшие исследования белков апоптоза и их взаимосвязи с уровнем холестерина в сыворотке крови.

## Заключение

Экспрессия антиапоптотического белка Vcl-2 снижена, а проапоптотического белка Вах — повышена в гиперэхогенных (кальцинированных) АТБ, что свидетельствует об активации системы апоптоза в прогрессирующих атеросклеротических поражениях.

Повышенное количество холестерина в сыворотке крови пациентов с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей связано с активацией митохондриального пути апоптоза в кальцинированных атеросклеротических бляшках.

**Финансирование исследования.** Работа не получила финансовой поддержки.

**Конфликты интересов,** связанные с данным исследованием, отсутствуют.

## Литература/References

1. Марченко А.В., Вронский А.С., Мьялюк П.А., Каменских М.С. Исторические аспекты и современное состояние проблемы лечения сочетанного атеросклеротического поражения коронарных и сонных артерий. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний* 2020; 9(1): 74–81.  
Marchenko A.V., Vronskiy A.S., Myalyuk P.A., Kamenskikh M.S. Historical aspects and the current state of treatment of combined coronary and carotid artery disease. *Kompleksnyye problemy serdечно-sosudistykh zabolevanij* 2020; 9(1): 74–81.
2. Стрельникова Е.А., Трушкина П.Ю., Сузов И.Ю., Короткова Н.В., Мжаванадзе Н.Д., Деев Р.В. Эндотелий *in vivo* и *in vitro*. Часть 1: гистогенез, структура, цитофизиология и ключевые маркеры. *Наука молодых (Eruditio Juvenium)* 2019; 7(3): 450–465, <https://doi.org/10.23888/hmj201973450-465>.  
Strelnikova E.A., Trushkina P.Yu., Surov I.Yu., Korotkova N.V., Mzhavanadze N.D., Deev R.V. Endothelium *in vivo* and *in vitro*. Part 1: histogenesis, structure, cytophysiology and key markers. *Nauka molodykh (Eruditio Juvenium)* 2019; 7(3): 450–465, <https://doi.org/10.23888/hmj201973450-465>.

3. Калинин Р.Е., Сучков И.А., Мжаванадзе Н.Д., Демидов В.Г., Журина О.Н., Климентова Э.А. Показатели гемостаза у пациентов с атеросклерозом периферических артерий при реконструктивно-восстановительных операциях. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова* 2018; 8: 46–49, <https://doi.org/10.17116/hirurgia2018846>.

Kalinin R.E., Suchkov I.A., Mzhavanadze N.D., Demikhov V.G., Zhurina O.N., Klimentova E.A. Hemostatic changes in patients with peripheral artery disease before and after bypass surgery. *Khirurgiya. Zhurnal imeni N.I. Pirogova* 2018; 8: 46–49, <https://doi.org/10.17116/hirurgia2018846>.

4. Пшенников А.С., Деев Р.В. Морфологическая иллюстрация изменений артериального эндотелия на фоне ишемического и реперфузионного повреждений. *Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова* 2018; 26(2): 184–194.

Pshennikov A.S., Deev R.V. Morphological illustration of alterations in the arterial endothelium in ischemic and reperfusion injuries. *Rossiiskij mediko-biologiceskij vestnik imeni akademika I.P. Pavlova* 2018; 26(2): 184–194.

5. Paone S., Baxter A.A., Hulett M.D., Poon I.K.H. Endothelial cell apoptosis and the role of endothelial cell-derived extracellular vesicles in the progression of atherosclerosis. *Cell Mol Life Sci* 2019; 76(6): 1093–1106, <https://doi.org/10.1007/s00018-018-2983-9>.

6. Gonzalez L., Trigatti B.L. Macrophage apoptosis and necrotic core development in atherosclerosis: a rapidly advancing field with clinical relevance to imaging and therapy. *Can J Cardiol* 2017; 33(3): 303–312, <https://doi.org/10.1016/j.cjca.2016.12.010>.

7. Werner N., Wassmann S., Ahlers P., Kosiol S., Nickenig G. Circulating CD31<sup>+</sup>/annexin V<sup>+</sup> apoptotic microparticles correlate with coronary endothelial function in patients with coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26(1): 112–116, <https://doi.org/10.1161/01.atv.0000191634.13057.15>.

8. Su G., Sun G., Liu H., Shu L., Liang Z. Downregulation of miR-34a promotes endothelial cell growth and suppresses apoptosis in atherosclerosis by regulating Bcl-2. *Heart Vessels* 2018; 33(10): 1185–1194, <https://doi.org/10.1007/s00380-018-1169-6>.

9. Garratt K.N., Edwards W.D., Kaufmann U.P., Vlietstra R.E., Holmes D.R. Jr. Differential histopathology of

primary atherosclerotic and restenotic lesions in coronary arteries and saphenous vein bypass grafts: analysis of tissue obtained from 73 patients by directional atherectomy. *J Am Coll Cardiol* 1991; 17(2): 442–448, [https://doi.org/10.1016/s0735-1097\(10\)80113-5](https://doi.org/10.1016/s0735-1097(10)80113-5).

10. Калинин Р.Е., Сучков И.А., Климентова Э.А., Егоров А.А., Поваров В.О. Апоптоз в сосудистой патологии: настоящее и будущее. *Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова* 2020; 28(1): 79–87.

Kalinin R.E., Suchkov I.A., Klimentova E.A., Egorov A.A., Povarov V.O. Apoptosis in vascular pathology: present and future. *Rossiiskij mediko-biologiceskij vestnik imeni akademika I.P. Pavlova* 2020; 28(1): 79–87.

11. Singh R., Letai A., Sarosiek K. Regulation of apoptosis in health and disease: the balancing act of BCL-2 family proteins. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2019; 20(3): 175–193, <https://doi.org/10.1038/s41580-018-0089-8>.

12. Clarke M.C., Figg N., Maguire J.J., Davenport A.P., Goddard M., Littlewood T.D., Bennett M.R. Apoptosis of vascular smooth muscle cells induces features of plaque vulnerability in atherosclerosis. *Nat Med* 2006; 12(9): 1075–1080, <https://doi.org/10.1038/nm1459>.

13. Norata G.D., Tonti L., Roma P., Catapano A.L. Apoptosis and proliferation of endothelial cells in early atherosclerotic lesions: possible role of oxidised LDL. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2002; 12(5): 297–305.

14. Akishima Y., Akasaka Y., Ishikawa Y., Lijun Z., Kiguchi H., Ito K., Itabe H., Ishii T. Role of macrophage and smooth muscle cell apoptosis in association with oxidized low-density lipoprotein in the atherosclerotic development. *Mod Pathol* 2005; 18(3): 365–373, <https://doi.org/10.1038/modpathol.3800249>.

15. Proudfoot D., Skepper J.N., Hegyi L., Bennett M.R., Shanahan C.M., Weissberg P.L. Apoptosis regulates human vascular calcification in vitro: evidence for initiation of vascular calcification by apoptotic bodies. *Circ Res* 2000; 87(11): 1055–1062, <https://doi.org/10.1161/01.res.87.11.1055>.

16. Chen Y., Zhou H., He C., Wang T., Zhang G., Zhang P., Wang R., Wu Q., Yao Y. The oxLDL/β2GPI/anti-β2GPI antibody complex induces apoptosis of human umbilical vein endothelial cells by promoting the production of reactive oxygen species. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi* 2019; 35(3): 223–229.