

МАРКЕРЫ АПОПТОЗА И ПРОЛИФЕРАЦИИ КЛЕТОК ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНО-ФИБРОПРОЛИФЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ СОСУДИСТОЙ СТЕНКИ (ОБЗОР)

DOI: 10.17691/stm2020.12.4.13

УДК 577.24:616.12/.13–002.17/.18–092

Поступила 3.02.2020 г.



Э.А. Климентова, к.м.н., аспирант кафедры сердечно-сосудистой, рентгенэндоваскулярной, оперативной хирургии и топографической анатомии;

И.А. Сучков, д.м.н., профессор кафедры сердечно-сосудистой, рентгенэндоваскулярной, оперативной хирургии и топографической анатомии;

А.А. Егоров, к.м.н., докторант кафедры сердечно-сосудистой, рентгенэндоваскулярной, оперативной хирургии и топографической анатомии;

Р.Е. Калинин, д.м.н., профессор, зав. кафедрой сердечно-сосудистой, рентгенэндоваскулярной, оперативной хирургии и топографической анатомии

Рязанский государственный медицинский университет, ул. Высоковольная, 9, Рязань, 390026

Апоптоз является основным признаком воспалительно-фибропролиферативных нарушений сосудистой стенки. Исследования на моделях животных показали, что гладкомышечные клетки (ГМК), культивированные из образцов эндартерэктомии из зоны поражения, пролиферируют медленнее и демонстрируют более высокие индексы апоптоза, чем ГМК, полученные из нормальной стенки сосуда. Апоптотические клетки были обнаружены в дестабилизированных атеросклеротических бляшках, а также в образцах с рестенозом зоны реконструкции.

Травма сосудистой стенки вызывает две волны апоптоза. Первая волна — это быстрый апоптоз в меди, происходящий в течение нескольких часов после травмы и приводящий к заметному снижению количества клеток сосудистой стенки. Вторая волна апоптоза возникает гораздо позже (от нескольких дней до недель) и ограничивается ГМК развивающейся неоинтимы. Через 20 дней после баллонной ангиопластики до 14% ГМК неоинтимы подвергаются апоптозу. В модели на кроликах перевязка наружной сонной артерии приводила к заметному снижению кровотока по общей сонной артерии, что коррелировало с увеличенным апоптозом эндотелиальных клеток и ГМК.

Вызванная ангиопластикой гибель ГМК регулируется редокс-чувствительным сигнальным путем, и местное введение антиоксидантов может минимизировать потерю клеток сосудистой стенки. В целом, как показывают исследования, апоптоз преобладает в сосудистых поражениях, контролируя жизнеспособность как воспалительных, так и сосудистых клеток, определяя клеточный состав стенки сосуда. В данном обзоре рассмотрены основные маркеры апоптоза (Fas, Fas-лиганд, p53, Bcl-2, Bax) и пролиферации клеток (toll-рецептор).

Ключевые слова: апоптоз; маркеры апоптоза; пролиферация клеток; воспалительные нарушения сосудистой стенки.

Как цитировать: Klimentova E.A., Suchkov I.A., Egorov A.A., Kalinin R.E. Apoptosis and cell proliferation markers in inflammatory-fibroproliferative diseases of the vessel wall (review). *Sovremennyye tehnologii v medicine* 2020; 12(4): 119–128, <https://doi.org/10.17691/stm2020.12.4.13>

English

Apoptosis and Cell Proliferation Markers in Inflammatory-Fibroproliferative Diseases of the Vessel Wall (Review)

E.A. Klimentova, MD, PhD, Department of Cardiovascular, X-ray Endovascular, Operative Surgery, and Topographic Anatomy;

I.A. Suchkov, MD, DSc, Professor, Department of Cardiovascular, X-ray Endovascular, Operative Surgery, and Topographic Anatomy;

A.A. Egorov, MD, PhD, Doctoral Student, Department of Cardiovascular, X-ray Endovascular, Operative Surgery, and Topographic Anatomy;

Для контактов: Климентова Эмма Анатольевна, e-mail: klimentowa.emma@yandex.ru

R.E. Kalinin, MD, DSc, Professor, Head of the Department of Cardiovascular, X-ray Endovascular, Operative Surgery, and Topographic Anatomy

Ryazan State Medical University, 9 Vysokovoltnaya St., Ryazan, 390026, Russia

Apoptosis is the main feature of inflammatory-fibroproliferative disorders of the vessel wall. Studies in animal models have shown that smooth muscle cells (SMCs) cultured from endarterectomy specimens from the affected area proliferate more slowly and display higher apoptotic indices than SMCs derived from the normal vessel wall. Apoptotic cells were found in the destabilized atherosclerotic plaques, as well as in the samples with restenosis of the reconstruction area.

Injury to the vessel wall causes two waves of apoptosis. The first wave is the rapid apoptosis in the media that occurs within a few hours after injury and leads to a marked reduction in the number of vascular wall cells. The second wave of apoptosis occurs much later (from several days to weeks) and is limited by the SMCs within the developing neointima. Up to 14% of the neointimal SMCs undergo apoptosis 20 days after balloon angioplasty. Ligation of the external carotid artery in a rabbit model led to a marked decrease in blood flow in the common carotid artery, which correlated with the increased apoptosis of endothelial cells and SMCs.

Angioplasty-induced death of SMCs is regulated by a redox-sensitive signaling pathway, and topical administration of antioxidants can minimize vascular cell loss. On the whole, studies show that apoptosis is prevalent in vascular lesions, controlling the viability of both inflammatory and vascular cells, determining the cellular composition of the vessel wall. The main markers of apoptosis (Fas, Fas ligand, p53, Bcl-2, Bax) and cell proliferation (toll receptor) have been considered in the current review.

Key words: apoptosis; markers of apoptosis; cell proliferation; inflammatory disorders of the vessel wall.

Введение

В норме клетки сосудов мало подвергаются апоптозу. Он является важной составляющей процесса ремоделирования сосудистой стенки, происходящего во время образования атеросклеротических и рестенозных повреждений [1–3]. Апоптотическая гибель представляет собой способ удаления инфильтрирующих лейкоцитов и поврежденных клеток без развития воспаления [4, 5]. Надлежащим образом это функционирует на ранних стадиях заболевания, а повышение скорости апоптоза на более поздней стадии поражения связано с недостаточным удалением гибнущих клеток, развитием вторичного некроза, обострением воспаления в атеросклеротической бляшке (АТБ).

Изначально изучение процесса апоптоза было проведено в образцах эндартерэктомии из зоны атеросклеротического и рестенозного поражения, он был обнаружен в макрофагах, гладкомышечных клетках (ГМК), Т-лимфоцитах. При начальных стадиях атеросклероза активность пролиферации клеток сильнее, чем скорость апоптоза, что ведет к формированию и развитию АТБ [6, 7]. При прогрессировании процесса начинает преобладать апоптоз в различных клетках АТБ (ГМК, фиброзной покрышке АТБ и др.), что приводит к ее нестабильности и разрыву с последующим тромбозом. Клинические исследования пациентов с инфарктом миокарда показали повышение апоптотических маркеров (FADD и каспазы-8) в острой фазе события [8].

Исследования гибели клеток при сосудистых поражениях проводились на животных моделях. В экспериментальных опытах активация пути L-аргинин/метаболиты оксида азота (NO) вызывает регрессию атеромы посредством индукции апоптоза макрофагов. На моделях с кроликами установлена повышен-

ная экспрессия апоптотических генов белков Bax, каспазы-3, каспазы-9, p53 и FAS при нестабильных бляшках [9].

Апоптотические клетки (ГМК, макрофаги и лейкоциты) были обнаружены в образцах с рестенозом зоны реконструкции. Проведенный анализ неинтимы после чрескожной транслюминальной баллонной ангиопластики (ЧТБА) показал, что апоптоз достигает максимума через 2 нед, в то время как непрерывная клеточная пролиферация происходит в течение 12 нед без увеличения клеточного состава. ЧТБА вызывает быструю волну апоптоза ГМК меди и сонной артерии. Неповрежденные сосуды и сосуды, исследованные сразу после ЧТБА, не показывают признаков апоптоза. Однако через 0,5–1 ч после травмы до 70% медиальных ГМК демонстрируют ядерную конденсацию (независимый индикатор апоптоза), а через 4 ч они уже не определяются [10].

Апоптоз с быстрым началом наблюдался в моделях ЧТБА с односторонним и двусторонним поражением подвздошных артерий кролика [11]. Большая потеря клеточного состава зависела от интенсивности повреждения в обеих моделях, причем в меди и апоптоз наблюдался чаще, чем в неинтиме. Хотя количественная оценка апоптоза в неинтимальных поражениях остается предметом споров, проведенные исследования показывают, что зона рестеноза содержит более высокую плотность ГМК и значительно сниженные уровни апоптоза по сравнению с первичными атеросклеротическими поражениями. Существует гипотеза, что активация антиапоптотического гена *Bcl-xL* в клетках неинтимы может придавать им относительную устойчивость к индукции их гибели вследствие травмы.

При иммуногистохимическом исследовании синтетических шунтов после их имплантации в сосудистое

русло через 1 мес апоптотические клетки обнаруживали в интимае, а через 6 мес — в адвентиции графта. До настоящего момента не полностью известны механизмы и роль макрофагов в распределении этих клеток в стенках сосуда. Макрофаги индуцируют повышенную регуляцию Fas в культивируемых ГМК [12–14].

На моделировании венозного шунта в эксперименте на кроликах L. Wan с соавт. [15] показали, что уровень апоптоза наиболее высок между 1-м и 3-м днями после операции, тогда как пролиферация достигает своего максимума на 7-й день. По мере прогрессирования рестеноза венозного графта выявляются признаки апоптоза.

Проонкогенный С-тус контролирует пролиферацию клеток, апоптоз, ремоделирование тканей, ангиогенез, метаболизм клеток, выработку воспалительных и противовоспалительных цитокинов [16–21]. С.М. Steger с соавт. [22] показали, что применение антисмыслового олигонуклеотида против С-тус на мышинной модели венозного трансплантата включает значительное уменьшение образования неointимы в послеоперационном периоде.

Вызванная ЧТБА гибель ГМК регулируется редокс-чувствительным сигнальным путем, и местное введение антиоксидантов может минимизировать потерю клеток сосудистой стенки [23–29]. Применение липофильных статинов вызывает апоптоз различных типов клеток, включая ГМК и эндотелиальные, тогда как гидрофильные статины (розувастатин и правастатин) такого эффекта не дают. Клиническое значение апоптоза, индуцированного статинами, остается спорным, поскольку он, с одной стороны, может уменьшить утолщение сосудистой стенки на ранних стадиях атеросклероза, а также уменьшить образование неointимы в ответ на повреждение, а с другой — способствовать дестабилизации АТБ, приводя к острым сердечно-сосудистым событиям [30–34].

Маркеры апоптоза

Fas-рецептор и его лиганд. Одним из основных участников системы апоптоза является Fas-рецептор и его лиганд. Fas-лиганд (FasL) является мембранным белком типа II, который принадлежит к семейству факторов некроза опухолей и индуцирует апоптоз посредством родственного взаимодействия с рецептором Fas (CD95/Apo-1). Система Fas–FasL участвует в регуляции физиологического обмена клеток. Fas содержит цитоплазматический домен, называемый доменом смерти (Fas-ассоциированный домен смерти), который необходим для передачи апоптотического сигнала. Домен смерти Fas взаимодействует с белком FADD. Отдельный домен FADD связывается с прокаспазой-8. Fas приводит к активации каспазы-8 посредством аутопротеолиза, с последующим протеолитическим расщеплением других членов семейства каспаз. Активация каспазы-8 и Fas-опосредованный апоптоз могут блокироваться эндогенными ингибирующими

молекулами, такими как FLIP (FLICE-подобные ингибиторные белки) [35, 36].

Передача сигналов Fas-опосредованной смерти может включать активацию чувствительных к антиапоптотическому действию белков Bcl-2 и Bcl-XL. Митохондриальная активация является результатом опосредованного каспазой-8 расщепления белка Bid, который затем транслоцируется в митохондриальную мембрану и индуцирует высвобождение цитохрома [37].

Fas экспрессируется на многих типах клеток, включая воспалительные и сосудистые. FasL был обнаружен в воспалительных клетках и тканях, эндотелии сосудов, где играл важную роль в контроле за экстравазацией воспалительных клеток. Эндогенный FasL в основном функционирует для подавления воспалительных реакций, его нефизиологическая экспрессия может вызывать инфильтрацию нейтрофилов вследствие высвобождения IL-1 β и нейтрофильного хемотактанта после включения Fas. Поскольку ГМК экспрессируют Fas, а воспалительные клетки — FasL, высказано предположение, что Fas-опосредованный апоптоз может способствовать нестабильности АТБ. Локальная доставка FasL в сонные артерии крыс после ЧТБА вызывала апоптоз в пролиферирующих ГМК [38, 39].

В отличие от ГМК сосудистые эндотелиальные клетки устойчивы к Fas-опосредованному апоптозу в нормальных условиях. Эндотелиальные клетки с Fas на своей поверхности не подвергаются апоптозу при воздействии агонистического анти-Fas-антитела или при увеличении FasL путем аденовирусной его доставки. Они остаются устойчивыми к Fas-опосредованной гибели клеток даже при активации интерфероном- γ , который заметно увеличивает экспрессию Fas. Это обусловлено низким синтезом FasL на клеточной поверхности, продукцией эндогенных ингибиторов Fas-пути передачи сигналов смерти либо экспрессией FLIP, что обеспечивает их выживание. Другие защитные механизмы могут включать участие белков семейства Bcl-2, которые функционируют как позитивные и негативные регуляторы апоптоза. Выработка NO эндотелиальными клетками способствует нитрозилированию и инактивации каспаз, которые необходимы для Fas-опосредованной гибели клеток. Интересен факт, что NO, высвобождаемый из ГМК крыс, стимулированных IL-1, способствует экспрессии Fas независимо от цГМФ [40].

Местное введение TNF- α в артерии подавляет эндотелиальный FasL и индуцирует сильную лейкоцитарную инфильтрацию стенки сосуда. Секреция TNF- α активированными клетками внутри атеромы может подавлять экспрессию FasL в соседних клетках нормального эндотелия, способствуя увеличению экстравазации лейкоцитов и росту повреждения стенки. TNF- α -индуцированная инфильтрация макрофагов и Т-клеток заметно ослабляется, когда FasL конститутивно экспрессируется в эндотелии сосудов

с помощью аденовирус-опосредованного переноса генов. Хронический локализованный иммунный ответ является важной особенностью атерогенеза. Наблюдение, что FasL способен ингибировать воспалительные реакции в стенке сосуда, позволяет предположить, что он может выполнять атеропротективную функцию [41].

С другой стороны, изменения в экспрессии FasL и Fas могут служить признаком дисфункции эндотелиальных клеток, что способствует атерогенезу. Например, окисленные липопротеины низкой плотности (ЛПНП) могут изменять чувствительность этих клеток к Fas-опосредованному апоптозу. Сенситизация Fas-опосредованного апоптоза коррелирует с подавлением FLIP и оценивает роль данного ингибитора в естественной устойчивости эндотелиальных клеток к стимуляции Fas [41].

W.R. English с соавт. [42] доказали, что ингибитор металлопротеиназы-3 (TIMP3) вызывает апоптоз в ГМК человека через активацию каспазы-8 и FAS. T. Imanishi с соавт. [43] показали, что через 24 и 48 ч после ЧТБА наблюдается уменьшение синтеза FLIP в меди, а его возврат к исходному уровню происходит на 28-й день.

Образование неоинтимы после ЧТБА является ахиллесовой пятой данного вида лечения. ЧТБА приводит к немедленной потере ГМК вследствие апоптоза с их последующей быстрой пролиферацией. Установлено [44], что принудительная экспрессия FasL с использованием аденовирусной доставки *in vivo* уменьшает неоинтимальное образование после ЧТБА у кроликов и крыс.

Z. Luo с соавт. [45] сравнили эффективность доставки генов белков FasL и p21 по их способности ингибировать гиперплазию неоинтимы в зоне оперативного вмешательства на сонных артериях крыс. Только Ad-FasL ингибировал образование неоинтимы у иммунизированных крыс, заметно снижая инфильтрацию Т-клетками. Локальная доставка FasL оказывает два воздействия на стенку сосуда: вызывает апоптоз в Fas-несущих ГМК и подавляет деструктивный ответ Т-лимфоцитов на клетки, экспрессирующие вирусные белки.

С другой стороны, образование гиперплазии неоинтимы, вызванное моделированием механического повреждения бедренной артерии у обычных мышей либо дефицитом FasL или Fas, не различалось, что свидетельствует о существовании других сигнальных путей апоптоза при травме сосудистой стенки [46].

Toll-подобные рецепторы (toll-like receptor, TLR). Это класс клеточных рецепторов с одним трансмембранным фрагментом, которые распознают микроорганизмы и активируют клеточный иммунный ответ. На сегодняшний день известно 13 видов TLR, у человека обнаружено только 9 видов. Они представлены на клетках разного типа — от эпителиальных до иммунокомпетентных. Например, TLR4 экспрессируется на кардиомиоцитах, макрофагах, ГМК и эндотелиальных клетках. Известными лигандами TLR являются

различные бактериальные и грибковые компоненты, включая пептидогликан для TLR2, липополисахарид для TLR4, фагеллин для TLR5 и т.д. Клеточный фибронектин, который продуцируется в ответ на повреждение ткани, белки теплового шока HSP60 и HSP70, ЛПНП, некротические клетки являются активаторами для TLR2 и TLR4. Интересен факт, что HSP60 человека требует активации TLR4 для стимуляции выработки TNF- α и NO [47].

Механизм действия TLR заключается в передаче сигнала в ядро клетки и димеризации, сопровождающейся изменением конформации TIR-домена, который связывается с адапторной молекулой MyD88, необходимой для привлечения киназ семейства IRAK (IL-1 receptor associated kinase) [48–51].

Toll-подобный рецептор инициирует активацию ядерного фактора (NF- κ B), приводящую к продукции провоспалительных цитокинов и хемокинов, таких как IL-1 α , IL-1 β , IL-1Ra, IL-6, IFN- γ , интерферон-индуцируемый белок-10 (IP-10), воспалительный белок макрофагов (MIP-1 β), хемотаксический белок-1 моноцитов (MCP-1), IL-8. Эти медиаторы воспаления могут оказывать различные атерогенные эффекты, включая экспрессию молекул адгезии на эндотелиальных клетках, пролиферацию ГМК, активацию иммунных клеток и стимуляцию острофазового ответа. Существуют доказательства участия NF- κ B в развитии атеросклероза [52–56]. K.S. Michelsen с соавт. [57] сообщили, что специфичное для макрофагов ингибирование пути NF- κ B приводит к более тяжелому течению атеросклероза у мышей (возможно, вследствие снижения продукции IL-10 макрофагами).

В последние годы появились доказательства участия TLR в патогенезе атеросклероза. Нормальные артерии показали очень низкие уровни всех TLR, за исключением относительно более высокого уровня mPHK TLR4. В зоне атеросклеротических поражений TLR1, TLR2 и TLR4 были повышены в три раза, их синтез осуществляется преимущественно эндотелиальными клетками и макрофагами. В модели на мышях с дефицитом TLR4/ApoE показано меньшее образование АТБ со стабильным фенотипом, что обусловлено снижением уровней IL-12, MCP-1 и др. Выключение MyD88, молекулы-адаптера сигнального пути TLR у мышей ApoE $^{-/-}$, уменьшило число атеросклеротических поражений аорты на 40–65% и заметно снизило образование циклооксигеназы-2 в АТБ. Таким образом, TLR4 и MyD88 являются ключевыми игроками в прогрессировании атеросклероза [58].

Toll-подобный рецептор-2 способствует миграции ГМК за счет увеличения продукции IL-6. Многочисленные исследования [59–62] показывают, что агонисты рецептора стимулируют именно миграцию ГМК, но не пролиферацию и жизнеспособность клеток. Дефицит рецептора или его ингибирование антителом подавляет индуцированную агонистом TLR2 миграцию ГМК и продукцию IL-6, опосредованную митоген-ассоциированной протеинкиназой p38 и вне-

клеточными сигналами киназы 1 и 2. Эти сигнальные пути действуют совместно, активируя цАМФ и последующую продукцию IL-6, что в свою очередь способствует миграции ГМК. Применение антител против IL-6 нарушало опосредованную TLR2 миграцию ГМК. A.H. Schoneveld и соавт. [63] в своем эксперименте демонстрируют локальное применение специфического лиганда для стимуляции TLR2 на бедренной артерии мышей, индуцируя образование гиперплазии неointимы сосудов. N. Kobayashi и соавт. [64] обнаружили на моделях животных, что инфекция *Porphyromonas gingivalis* может способствовать формированию неointимы после повреждения артерии посредством передачи сигналов через TLR2. Y. Zhang и соавт. показали [65], что у мышей, лишенных TLR4, значительно блокировались индуцированная пальмитатом генерация активных форм кислорода и апоптоз ГМК, сопровождаемый ингибированием экспрессии каспазы-3, каспазы-9, p53 и восстановлением экспрессии Bcl-2.

У пациентов с полиморфизмом гена *Asp299Gly* TLR4 наблюдалась меньшая толщина интимы/медии в сонной артерии, чем у здоровых добровольцев. Пациенты с данным полиморфизмом, страдающие ишемической болезнью сердца, продемонстрировали большую пользу от лечения правастатином (ингибитором HMG-CoA-редуктазы) в сравнении со здоровыми добровольцами [66].

Белки семейства Bcl-2. Во многих ситуациях жизнеспособность клеток контролируется модуляциями уровней белков семейства Bcl-2. Некоторые из этих белков (Bcl-2, Bcl-XL и A1) действуют как ингибиторы апоптоза, тогда как другие (Bax, Bad и Bid) являются его модуляторами. Считается, что соотношение данных белков контролирует выживание клеток [67–70].

Как правило, белки семейства Bcl-2 функционируют на уровне митохондрий, контролируют жизнеспособность клеток, а также перемещение и действия цитохрома C, который ускоряет гибель апоптотических клеток. После высвобождения из митохондрий белка Araf-1 цитохром C связывается с ним и про-каспазой-9, что приводит к протеолитической активации этой каспазы. Затем каспаза-9 протеолитически активирует нижестоящие каспазы и наступает гибель клеток. Белок Bcl-XL образует ионный канал в синтетических липидных мембранах, регулируя функцию митохондрий и проницаемость мембран [71–74].

Уровень белка Bax повышен в ГМК АТБ человека, где апоптоз происходит с высокой скоростью [75]. И, наоборот, защитный фактор апоптоза Bcl-XL детектируется в нормальных ГМК медии крыс, и его экспрессия быстро понижается после ЧТБА. Снижение Bcl-XL происходит через 1 ч после травмы в слоях медии. В атероматозных поражениях интимы человека в сравнении с клетками медии отмечены повышенные уровни Bcl-XL. Когда антисмысловый олигонуклеотид, направленный против Bcl-XL, вводили в поврежденные баллоном сонные артерии кролика через 4 нед после проведения процедуры, экспрессия Bcl-XL по-

давлялась и апоптоз интимных клеток происходил с повышенной скоростью. Это приводило к уменьшению толщины интимы на 56%. Исследования продемонстрировали, что белки семейства Bcl-2 функционально значимы в стенке сосуда и дифференциальная экспрессия Bcl-XL может способствовать дифференциальной чувствительности медиальных и неоинтимных клеток к быстрому апоптозу [76–78].

Транскрипционный фактор p53. Для заболевания сосудистой стенки может иметь значение тот факт, что транскрипционный фактор p53 активирует экспрессию Bax и ингибирует белок Bcl-2, что приводит к условиям, благоприятствующим апоптозу [79, 80]. Активация p53 также увеличивает экспрессию Fas на клеточной поверхности ГМК человека, стимулируя транспорт из аппарата Гольджи. Антипролиферативная активность p53 опосредована его способностью индуцировать ингибитор циклинзависимой киназы p21. Фактор p53 может индуцировать апоптоз ГМК *in vitro* и ингибировать пролиферацию ГМК *in vitro* и *in vivo*. Он накапливается в атеросклеротических поражениях, и его способность вызывать апоптоз в этих поражениях может зависеть от взаимодействия с белком MDM2, регулятором стабильности p53 [81–84]. Сообщалось [85], что ген цитомегаловируса противодействует индуцированному p53 апоптозу ГМК. У мышей с дефицитом данного белка по сравнению со здоровыми развивались ускоренные атеросклеротические поражения аорты при использовании рациона питания с высоким содержанием жиров. Однако увеличенный размер поражения в результате дефицита p53, по-видимому, является результатом увеличения скорости пролиферации клеток, а не уменьшения апоптоза. Таким образом, p53-независимые апоптотические механизмы могут преобладать в атерогенной стенке сосуда [86, 87].

В функции белков семейства Bcl-2 также входит регуляция жизнеспособности эндотелиальных клеток. Например, выживанию эндотелиальных клеток способствует фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), который связан с повышением уровня Bcl-2. Активация протеинкиназы необходима для VEGF-опосредованного выживания эндотелиальных клеток и для VEGF-опосредованной индукции Bcl-2. TNF- α -индуцированная гибель эндотелиальных клеток включает дегградацию Bcl-2 [88, 89].

Оксид азота, синтезируемый из L-аргинина с помощью NO-синтаз, представляет собой небольшую липофильную диффундирующую высокореактивную молекулу с дихотомической регуляторной ролью во многих биологических событиях в физиологических и патологических условиях [90]. NO может способствовать апоптозу в одних клетках и ингибировать апоптоз в других. Местная клеточная среда играет динамическую роль в определении характера этих видов регуляции [91, 92]. Важными компонентами микроокружения являются следующие: окислительно-восстановительное состояние клеток, глутатион, присутствие других кислород-

азот-центрированных радикалов. Высокая продукция NO действует как проапоптотический модулятор, активируя протеазы семейства каспаз через высвобождение митохондриального цитохрома C в цитозоль, повышенную регуляцию белка p53, активацию сигнального пути JNK/SAPK, изменяя экспрессию апоптоз-ассоциированных белков семейства Bcl-2. Тем не менее низкие или физиологические концентрации NO препятствуют апоптозу клеток, вызванному Fas, ЛПНП и цитокинами. Антиапоптотический механизм связан с транскрипцией генов защитных белков (Bcl-2, белок теплового шока, циклооксигеназа-2) и прямым ингибированием эффекторных каспаз путем S-нитрозилирования тирозин-содержащей группы цистеина в их каталитическом сайте [93–97]. Последние исследования на гиперхолестеринемических кроликах показывают, что активация пути L-аргинин/NO вызывает регрессию атеромы, по всей вероятности, посредством индукции апоптоза макрофагов. M. Dubey и соавт. [98] доказали решающую роль индуцибельной NO-синтазы (iNOS) в апоптозе нейтрофилов посредством усиленного генерирования активных форм кислорода и опосредованной каспазой-8 активации пути гибели митохондрий. NO усиливает экспрессию Fas на ГМК, что способствует усилению их апоптоза в этих условиях [99, 100].

Заключение

Апоптоз клеток широко распространен в воспалительно-фибропролиферативных поражениях стенки сосуда. Гибель клеток может влиять на объем поражения, стабильность бляшки, воспаление и целостность эндотелия. Последние исследования выявили многочисленные регуляторные пути, которые потенциально могут контролировать жизнеспособность сосудистых клеток. Понимание этих регуляторных сетей на молекулярном уровне позволит сформировать представление о патогенезе сосудистых заболеваний и привести к разработке новых методов лечения этих нарушений.

Вклад авторов: Э.А. Климентова — разработка концепции и дизайна исследования, сбор материала, анализ полученных данных, подготовка текста; И.А. Сучков, А.А. Егоров — редактирование текста; Р.Е. Калинин — разработка концепции и дизайна исследования, редактирование.

Информация об источнике финансирования. Работа проводилась за счет средств Рязанского государственного медицинского университета.

Конфликт интересов отсутствует.

Литература/References

1. Пшенников А.С., Деев Р.В. Морфологическая иллюстрация изменений артериального эндотелия на фоне ишемического и реперфузионного повреждений. *Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова* 2018; 26(2): 184–194, <https://doi.org/10.23888/pavlovj2018262184-194>.
2. Калинин Р.Е., Сучков И.А., Пшенников А.С. Эффективность L-аргинина в лечении атеросклероза артерий нижних конечностей и профилактике рестеноза зоны реконструкции. *Вестник Ивановской медицинской академии* 2013; 18(2): 18–21.
3. Kalinin R.E., Suchkov I.A., Pshennikov A.S. The effectiveness of L-arginine in the treatment of atherosclerosis of the arteries of the lower extremities and the prevention of restenosis of the reconstruction zone. *Vestnik Ivanovskoy meditsinskoy akademii* 2013; 18(2): 18–21.
4. D'Arcy M.S. Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. *Cell Biol Int* 2019; 43(6): 582–592, <https://doi.org/10.1002/cbin.11137>.
5. Егорова И.Э., Бахтаирова В.И., Суслова А.И. Молекулярные механизмы апоптоза, вовлеченные в развитие различных патологических процессов. *Инновационные технологии в фармации* 2019; 6: 107–114.
6. Egorova I.E., Bakhtairova V.I., Suslova A.I. Molecular mechanisms of apoptosis involved in the development of different pathological processes. *Innovatsionnye tekhnologii v farmatsii* 2019; 6: 107–114.
7. Майборода А.А. Апоптоз — гены и белки. *Сибирский медицинский журнал* 2013; 3: 130–135.
8. Mayboroda A.A. Apoptosis — genes and proteins. *Sibirskij medicinskij zhurnal* 2013; 3: 130–135.
9. Cheng X., Ferrell J.E. Jr. Apoptosis propagates through the cytoplasm as trigger waves. *Science* 2018; 361(6402): 607–612, <https://doi.org/10.1126/science.aah4065>.
10. Walsh K., Smith R.C., Kim H.S. Vascular cell apoptosis in remodeling, restenosis, and plaque rupture. *Circ Res* 2000; 87(3): 184–188, <https://doi.org/10.1161/01.res.87.3.184>.
11. Prech M., Marszałek A., Schröder J., Filas V., Lesiak M., Jemielity M., Araszewicz A., Grajek S. Apoptosis as a mechanism for the elimination of cardiomyocytes after acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2010; 105(9): 1240–1245, <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2009.12.039>.
12. Meng L.B., Shan M.J., Yu Z.M., Lv J., Qi R.M., Guo P., Zhang Y.M., Gong T. Chronic stress: a crucial promoter of cell apoptosis in atherosclerosis. *J Int Med Res* 2019; 48(1): 300060518814606, <https://doi.org/10.1177/0300060518814606>.
13. Han D.K., Haudenschild C.C., Hong M.K., Tinkle B.T., Leon M.B., Liao G. Evidence for apoptosis in human atherogenesis and in a rat vascular injury model. *Am J Pathol* 1995; 147(2): 267–277.
14. Rivard A., Luo Z., Perlman H., Fabre J.E., Nguyen T., Maillard L., Walsh K. Early cell loss after angioplasty results in a disproportionate decrease in percutaneous gene transfer to the vessel wall. *Hum Gene Ther* 1999; 10(5): 711–721, <https://doi.org/10.1089/10430349950018472>.
15. Huang P., Hawthorne W.J., Ao P., Angeli G.L., Medbury H.J., Fletcher J.P. Perigraft adventitia and intima remodeling after synthetic patch implantation in sheep carotid artery: role of apoptosis and proliferation. *J Vasc Surg* 2002; 36(2): 371–378, <https://doi.org/10.1067/mva.2002.123749>.
16. Durham A.L., Speer M.Y., Scatena M., Giachelli C.M., Shanahan C.M. Role of smooth muscle cells in vascular calcification: implications in atherosclerosis and arterial

- stiffness. *Cardiovasc Res* 2018; 114(4): 590–600, <https://doi.org/10.1093/cvr/cvy010>.
14. Grootaert M.O.J., Moulis M., Roth L., Martinet W., Vindis C., Bennett M.R., De Meyer G.R.Y. Vascular smooth muscle cell death, autophagy and senescence in atherosclerosis. *Cardiovasc Res* 2018; 114(4): 622–634, <https://doi.org/10.1093/cvr/cvy007>.
15. Wan L., Dai S.H., Lai S.Q., Liu L.Q., Wang Q., Xu H., Wang W.J., Liu J.C. Apoptosis, proliferation, and morphology during vein graft remodeling in rabbits. *Genet Mol Res* 2016; 15(4): 371–378, <https://doi.org/10.4238/gmr.15048701>.
16. Ansari M.Z., Swaminathan R. Structure and dynamics at N and C-terminal regions of intrinsically disordered human c-Myc PEST degron reveal a pH-induced transition. *Proteins* 2020, <https://doi.org/10.1002/prot.25880>.
17. Wei X., Zhang Y., Li C., Ai K., Li K., Li H., Yang J. The evolutionarily conserved MAPK/Erk signaling promotes ancestral T-cell immunity in fish via c-Myc-mediated glycolysis. *J Biol Chem* 2020; 295(10): 3000–3016, <https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.012231>.
18. Date Y., Ito K. Oncogenic RUNX3: a link between p53 deficiency and MYC dysregulation. *Mol Cells* 2020; 43(2): 176–181, <https://doi.org/10.14348/molcells.2019.0285>.
19. Olivero C.E., Martínez-Terroba E., Zimmer J., Liao C., Tesfaye E., Hooshdaran N., Schofield J.A., Bendor J., Fang D., Simon M.D., Zamudio J.R., Dimitrova N. p53 activates the long noncoding RNA Pvt1b to inhibit Myc and suppress tumorigenesis. *Mol Cell* 2020; 77(4): 761.e8–774.e8, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.12.014>.
20. Lee D.H., Kwon N.E., Lee W.J., Lee M.S., Kim D.J., Kim J.H., Park S.K. Increased O-GlcNAcylation of c-Myc promotes pre-B cell proliferation. *Cells* 2020; 9(1): E158, <https://doi.org/10.3390/cells9010158>.
21. Yin W., Xia X., Wu M., Yang H., Zhu X., Sun W., Ge M. The impact of BCL-2/MYC protein expression and gene abnormality on primary central nervous system diffuse large B-cell lymphoma. *Int J Clin Exp Pathol* 2019; 12(6): 2215–2223.
22. Steger C.M., Bonaros N., Rieker R.J., Bonatti J., Schachner T. Gene therapy with antisense oligonucleotides silencing c-myc reduces neointima formation and vessel wall thickness in a mouse model of vein graft disease. *Exp Mol Pathol* 2018; 105(1): 1–9, <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2018.05.003>.
23. Wu Z., Zheng X., Meng L., Fang X., He Y., Li D., Zheng C., Zhang H. α -Tocopherol, especially α -tocopherol phosphate, exerts antiapoptotic and angiogenic effects on rat bone marrow-derived endothelial progenitor cells under high-glucose and hypoxia conditions. *J Vasc Surg* 2018; 67(4): 1263–1273.e1, <https://doi.org/10.1016/j.jvs.2017.02.051>.
24. Shukla S.K., Sharma S.B., Singh U.R. Pre-treatment with α -tocopherol and terminalia arjuna ameliorates, pro-inflammatory cytokines, cardiac and apoptotic markers in myocardial infarcted rats. *Redox Rep* 2015; 20(2): 49–59, <https://doi.org/10.1179/1351000214Y.0000000104>.
25. Vineetha R.C., Binu P., Arathi P., Nair R.H. L-ascorbic acid and α -tocopherol attenuate arsenic trioxide-induced toxicity in H9c2 cardiomyocytes by the activation of Nrf2 and Bcl2 transcription factors. *Toxicol Mech Methods* 2018; 28(5): 353–360, <https://doi.org/10.1080/15376516.2017.1422578>.
26. Arias-Álvarez M., García-García R.M., López-Tello J., Rebollar P.G., Gutiérrez-Adán A., Lorenzo P.L. α -Tocopherol modifies the expression of genes related to oxidative stress and apoptosis during in vitro maturation and enhances the developmental competence of rabbit oocytes. *Reprod Fertil Dev* 2018; 30(12): 1728–1738, <https://doi.org/10.1071/rd17525>.
27. Bozaykut P., Karademir B., Yazgan B., Sozen E., Siow R.C., Mann G.E., Ozer N.K. Effects of vitamin E on peroxisome proliferator-activated receptor γ and nuclear factor-erythroid 2-related factor 2 in hypercholesterolemia-induced atherosclerosis. *Free Radic Biol Med* 2014; 70: 174–181, <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2014.02.017>.
28. Shibata A., Nakagawa K., Tsuduki T., Miyazawa T. α -Tocopherol suppresses antiangiogenic effect of δ -tocotrienol in human umbilical vein endothelial cells. *J Nutr Biochem* 2015; 26(4): 345–350, <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2014.11.010>.
29. Do M.h., Kim S.n., Seo S.Y., Yeo E.J., Kim S.Y. δ -Tocopherol prevents methylglyoxal-induced apoptosis by reducing ROS generation and inhibiting apoptotic signaling cascades in human umbilical vein endothelial cells. *Food Funct* 2015; 6(5): 1568–1577, <https://doi.org/10.1039/c4fo01110d>.
30. Knapp A.C., Huang J., Starling G., Kiener P.A. Inhibitors of HMG-CoA reductase sensitize human smooth muscle cells to Fas-ligand and cytokine-induced cell death. *Atherosclerosis* 2000; 152(1): 217–227, [https://doi.org/10.1016/s0021-9150\(99\)00462-1](https://doi.org/10.1016/s0021-9150(99)00462-1).
31. Broniarek I., Jarmuszkiewicz W. Statins and mitochondria. *Postepy Biochem* 2016; 62(2): 77–84.
32. Katsiki N., Tziomalos K., Chatzizisis Y., Elisaf M., Hatzitolios A.I. Effect of HMG-CoA reductase inhibitors on vascular cell apoptosis: beneficial or detrimental? *Atherosclerosis* 2010; 211(1): 9–14, <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2009.12.028>.
33. Prasad K. Do statins have a role in reduction/prevention of post-PCI restenosis? *Cardiovasc Ther* 2013; 31(1): 12–26, <https://doi.org/10.1111/j.1755-5922.2011.00302.x>.
34. Erl W., Hristov M., Neureuter M., Yan Z.Q., Hansson G.K., Weber P.C. HMG-CoA reductase inhibitors induce apoptosis in neointima-derived vascular smooth muscle cells. *Atherosclerosis* 2003; 169(2): 251–258, [https://doi.org/10.1016/s0021-9150\(03\)00201-6](https://doi.org/10.1016/s0021-9150(03)00201-6).
35. Kolben T., Jeschke U., Reimer T., Karsten N., Schmoeckel E., Semmlinger A., Mahner S., Harbeck N., Kolben T.M. Induction of apoptosis in breast cancer cells in vitro by Fas ligand reverse signaling. *J Cancer Res Clin Oncol* 2018; 144(2): 249–256, <https://doi.org/10.1007/s00432-017-2551-y>.
36. Liu Y., Ren L., Liu W., Xiao Z. MiR-21 regulates the apoptosis of keloid fibroblasts by caspase-8 and the mitochondria-mediated apoptotic signaling pathway via targeting FasL. *Biochem Cell Biol* 2018; 96(5): 548–555, <https://doi.org/10.1139/bcb-2017-0306>.
37. Mehrbod P., Ande S.R., Alizadeh J., Rahimizadeh S., Shariati A., Malek H., Hashemi M., Glover K.K.M., Sher A.A., Coombs K.M., Ghavami S. The roles of apoptosis, autophagy and unfolded protein response in arbovirus, influenza virus, and HIV infections. *Virulence* 2019; 10(1): 376–413, <https://doi.org/10.1080/21505594.2019.1605803>.
38. Guégan J.P., Legembre P. Nonapoptotic functions of Fas/CD95 in the immune response. *FEBS J* 2018; 285(5): 809–827, <https://doi.org/10.1111/febs.14292>.
39. Matter C.M., Chadjichristos C.E., Meier P., von Lukowicz T., Lohmann C., Schuler P.K., Zhang D., Odermatt B., Hofmann E., Brunner T., Kwak B.R., Lüscher T.F. Role of endogenous Fas (CD95/Apo-1) ligand in balloon-induced apoptosis, inflammation, and neointima formation.

- Circulation* 2006; 113(15): 1879–1887, <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.611731>.
40. Fukuo K., Hata S., Suhara T., Nakahashi T., Shinto Y., Tsujimoto Y., Morimoto S., Ogiwara T. Nitric oxide induces upregulation of Fas and apoptosis in vascular smooth muscle. *Hypertension* 1996; 27(3 Pt 2): 823–826, <https://doi.org/10.1161/01.hyp.27.3.823>.
41. Faletti L., Peintner L., Neumann S., Sandler S., Grabinger T., Mac Nelly S., Merfort I., Huang C.H., Tschaharganeh D., Kang T.W., Heinzmann F., D'Artista L., Maurer U., Brunner T., Lowe S., Zender L., Borner C. TNF α sensitizes hepatocytes to FasL-induced apoptosis by NF κ B-mediated Fas upregulation. *Cell Death Dis* 2018; 9(9): 909, <https://doi.org/10.1038/s41419-018-0935-9>.
42. English W.R., Ireland-Zecchini H., Baker A.H., Littlewood T.D., Bennett M.R., Murphy G. Tissue inhibitor of metalloproteinase-3 (TIMP-3) induces Fas dependent apoptosis in human vascular smooth muscle cells. *PLoS One* 2018; 13(4): e0195116, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195116>.
43. Imanishi T., McBride J., Ho Q., O'Brien K.D., Schwartz S.M., Han D.K. Expression of cellular FLICE-inhibitory protein in human coronary arteries and in a rat vascular injury model. *Am J Pathol* 2000; 156(1): 125–137, [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)64712-8](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)64712-8).
44. Sata M., Perlman H., Muruve D.A., Silver M., Ikebe M., Libermann T.A., Oettgen P., Walsh K. Fas ligand gene transfer to the vessel wall inhibits neointima formation and overrides the adenovirus-mediated T cell response. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95(3): 1213–1217, <https://doi.org/10.1073/pnas.95.3.1213>.
45. Luo Z., Sata M., Nguyen T. Adenovirus-mediated delivery of Fas ligand inhibits intimal hyperplasia after balloon injury in immunologically primed animals. *Circulation* 1999; 99(14): 1776–1779, <https://doi.org/10.1161/01.cir.99.14.1776>.
46. Sata M., Sugiura S., Yoshizumi M., Ouchi Y., Hirata Y., Nagai R. Acute and chronic smooth muscle cell apoptosis after mechanical vascular injury can occur independently of the Fas-death pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21(11): 1733–1737, <https://doi.org/10.1161/hq1201.098946>.
47. Anthoney N., Foldi I., Hidalgo A. Toll and toll-like receptor signalling in development. *Development* 2018; 145(9): dev156018, <https://doi.org/10.1242/dev.156018>.
48. Dishon S., Schumacher-Klinger A., Gilon C., Hoffman A., Nussbaum G. Myristoylation confers oral bioavailability and improves the bioactivity of c(MyD 4-4), a cyclic peptide inhibitor of MyD88. *Mol Pharm* 2019; 16(4): 1516–1522, <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.8b01180>.
49. Wu K., Zhang H., Fu Y., Zhu Y., Kong L., Chen L., Zhao F., Yu L., Chen X. TLR4/MyD88 signaling determines the metastatic potential of breast cancer cells. *Mol Med Rep* 2018; 18(3): 3411–3420, <https://doi.org/10.3892/mmr.2018.9326>.
50. Zhu Y., Li Y., Zhang N., Dong G.R. Effect of electroacupuncture preconditioning on myocardial ischemia and expression of TLR 4, MyD 88 and NF- κ B mRNAs in “Neiguan” (PC 6) area in rats with myocardial ischemia-reperfusion injury. *Zhen Ci Yan Jiu* 2018; 43(5): 302–306, <https://doi.org/10.13702/j.1000-0607.170308>.
51. Feng G., Zheng K., Cao T., Zhang J., Lian M., Huang D., Wei C., Gu Z., Feng X. Repeated stimulation by LPS promotes the senescence of DPSCs via TLR4/MyD88-NF- κ B-p53/p21 signaling. *Cytotechnology* 2018; 70(3): 1023–1035, <https://doi.org/10.1007/s10616-017-0180-6>.
52. Cen X., Liu S., Cheng K. The role of toll-like receptor in inflammation and tumor immunity. *Front Pharmacol* 2018; 9: 878–885, <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00878>.
53. Liu J., Geng F., Sun H., Wang X., Zhang H., Yang Q., Zhang J. Candida albicans induces TLR2/MyD88/NF- κ B signaling and inflammation in oral lichen planus-derived keratinocytes. *J Infect Dev Ctries* 2018; 12(9): 780–786, <https://doi.org/10.3855/jidc.8062>.
54. Cao C., An R., Yu Y., Dai H., Qu Z., Gao M., Wang J. BICP0 negatively regulates TRAF6-mediated NF- κ B and interferon activation by promoting K48-linked polyubiquitination of TRAF6. *Front Microbiol* 2020; 10: 3040, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.03040>.
55. Li X., Li H., Dong X., Wang X., Zhu J., Cheng Y., Fan P. Expression of NF- κ B and TLR-4 is associated with the occurrence, progression and prognosis of esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Clin Exp Pathol* 2018; 11(12): 5850–5859.
56. Shao Q., Jiang C., Xia Y., Zhao M., Zhang Q., Jin B., Liu J. Dioscin ameliorates peritoneal fibrosis by inhibiting epithelial-to-mesenchymal transition of human peritoneal mesothelial cells via the TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway. *Int J Clin Exp Pathol* 2019; 12(3): 867–875.
57. Michelsen K.S., Wong M.H., Shah P.K., Zhang W., Yano J., Doherty T.M., Akira S., Rajavashisth T.B., Arditi M. Lack of Toll-like receptor 4 or myeloid differentiation factor 88 reduces atherosclerosis and alters plaque phenotype in mice deficient in apolipoprotein E. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 10679–10684, <https://doi.org/10.1073/pnas.0403249101>.
58. Faghfour A.H., Zarrin R., Maleki V., Payahoo L., Khajebishak Y. A comprehensive mechanistic review insight into the effects of micronutrients on toll-like receptors functions. *Pharmacol Res* 2019; 152: 104619, <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2019.104619>.
59. Zheng C., Chen J., Chu F., Zhu J., Jin T. Inflammatory role of TLR-MyD88 signaling in multiple sclerosis. *Front Mol Neurosci* 2020; 12: 314, <https://doi.org/10.3389/fnmol.2019.00314>.
60. Martínez-García M.Á., Ojeda-Ojeda M., Rodríguez-Martín E., Insenser M., Moncayo S., Álvarez-Blasco F., Luque-Ramírez M., Escobar-Morreale H.F. TLR2 and TLR4 surface and gene expression in white blood cells after fasting and oral glucose, lipid and protein challenges: influence of obesity and sex hormones. *Biomolecules* 2020; 10(1): 111, <https://doi.org/10.3390/biom10010111>.
61. Lee G.L., Chang Y.W., Wu J.Y., Wu M.L., Wu K.K., Yet S.F., Kuo C.C. TLR 2 induces vascular smooth muscle cell migration through cAMP response element-binding protein-mediated interleukin-6 production. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012; 32(11): 2751–2760, <https://doi.org/10.1161/atvbaha.112.300302>.
62. Luo L., Lucas R.M., Liu L., Stow J.L. Signalling, sorting and scaffolding adaptors for toll-like receptors. *J Cell Sci* 2019; 133(5): jcs239194, <https://doi.org/10.1242/jcs.239194>.
63. Schoneveld A.H., Oude Nijhuis M.M., van Middelaar B., Laman J.D., de Kleijn D.P., Pasterkamp G. Toll-like receptor 2 stimulation induces intimal hyperplasia and atherosclerotic lesion development. *Cardiovasc Res* 2005; 66(1): 162–169, <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2004.12.016>.
64. Kobayashi N., Suzuki J., Ogawa M., Aoyama N., Komuro I., Izumi Y., Isobe M. Porphyromonas gingivalis promotes neointimal formation after arterial injury through toll-like receptor 2 signaling. *Heart Vessels* 2014; 29(4): 542–549, <https://doi.org/10.1007/s00380-013-0405-3>.

65. Zhang Y., Xia G., Zhang Y., Liu J., Liu X., Li W., Lv Y., Wei S., Liu J., Quan J. Palmitate induces VSMC apoptosis via toll like receptor (TLR)4/ROS/p53 pathway. *Atherosclerosis* 2017; 263: 74–81, <https://doi.org/10.1007/s00380-013-0405-3>.
66. Kiechl S., Lorenz E., Reindl M., Wiedermann C.J., Oberhollenzer F., Bonora E., Willeit J., Schwartz D.A. Toll-like receptor 4 polymorphisms and atherogenesis. *N Engl J Med* 2002; 347(3): 185–192, <https://doi.org/10.1056/nejmoa012673>.
67. Kale J., Osterlund E.J., Andrews D.W. BCL-2 family proteins: changing partners in the dance towards death. *Cell Death Differ* 2018; 25(1): 65–80, <https://doi.org/10.1038/cdd.2017.186>.
68. Birkinshaw R.W., Czabotar P.E. The BCL-2 family of proteins and mitochondrial outer membrane permeabilisation. *Semin Cell Dev Biol* 2017; 72: 152–162, <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2017.04.001>.
69. Hockings C., Alsop A.E., Fennell S.C., Lee E.F., Fairlie W.D., Dewson G., Kluck R.M. Mcl-1 and Bcl-x_L sequestration of Bak confers differential resistance to BH3-only proteins. *Cell Death Differ* 2018; 25(4): 721–734, <https://doi.org/10.1038/s41418-017-0010-6>.
70. Edlich F. BCL-2 proteins and apoptosis: recent insights and unknowns. *Biochem Biophys Res Commun* 2018; 500(1): 26–34, <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.06.190>.
71. Walensky L.D. Targeting BAX to drug death directly. *Nat Chem Biol* 2019; 15(7): 657–665, <https://doi.org/10.1038/s41589-019-0306-6>.
72. Opferman J.T., Kothari A. Anti-apoptotic BCL-2 family members in development. *Cell Death Differ* 2018; 25(1): 37–45, <https://doi.org/10.1038/cdd.2017.170>.
73. Peña-Blanco A., García-Sáez A.J. Bax, Bak and beyond — mitochondrial performance in apoptosis. *FEBS J* 2018; 285(3): 416–431, <https://doi.org/10.1111/febs.14186>.
74. Pollman M.J., Hall J.L., Mann M.J., Zhang L., Gibbons G.H. Inhibition of neointimal cell bcl-x expression induces apoptosis and regression of vascular disease. *Nat Med* 1998; 4(2): 222–227, <https://doi.org/10.1038/nm0298-222>.
75. Zhang J., Huang K., O'Neill K.L., Pang X., Luo X. Bax/Bak activation in the absence of Bid, Bim, Puma, and p53. *Cell Death Dis* 2016; 7: e2266, <https://doi.org/10.1038/cddis.2016.167>.
76. Bogner C., Kale J., Pogmore J., Chi X., Shamas-Din A., Fradin C., Leber B., Andrews D.W. Allosteric regulation of BH3 proteins in Bcl-x_L complexes enables switch-like activation of Bax. *Mol Cell* 2020; 7(4): 901–912.e9, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.12.025>.
77. Borrás C., Mas-Bargues C., Román-Domínguez A., Sanz-Ros J., Gimeno-Mallench L., Inglés M., Gambini J., Viña J. Bcl-x_L, a mitochondrial protein involved in successful aging: from *C. elegans* to human centenarians. *Int J Mol Sci* 2020; 21(2): 418, <https://doi.org/10.3390/ijms21020418>.
78. Chung S., Roy A.K., Webster T.J. Selenium nanoparticle protection of fibroblast stress: activation of ATF4 and Bcl-x_L expression. *Int J Nanomedicine* 2019; 14: 9995–10007, <https://doi.org/10.2147/ijn.s172236>.
79. Gupta A., Shah K., Oza M.J., Behl T. Reactivation of p53 gene by MDM2 inhibitors: a novel therapy for cancer treatment. *Biomed Pharmacother* 2019; 109: 484–492, <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.10.155>.
80. Zhang L., Gao W., Keohavong P. Analysis of mutations in K-ras and p53 genes in sputum and plasma samples. *Methods Mol Biol* 2020; 2102: 373–394, https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0223-2_22.
81. Tzovaras A.A., Gentimi F., Nikolaou M. Tumor protein p53 gene and cardiovascular disease. *Angiology* 2018; 69(8): 736–737, <https://doi.org/10.1177/0003319718772412>.
82. Miyashita T., Reed J.C. Tumor suppressor p53 is a direct transcriptional activator of the human bax gene. *Cell* 1995; 80(2): 293–299, [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(95\)90412-3](https://doi.org/10.1016/0092-8674(95)90412-3).
83. Wu D., Prives C. Relevance of the p53-MDM2 axis to aging. *Cell Death Differ* 2018; 25(1): 169–179, <https://doi.org/10.1038/cdd.2017.187>.
84. Wurz R.P., Cee V.J. Targeted degradation of mdm2 as a new approach to improve the efficacy of mdm2-p53 inhibitors. *Med Chem* 2019; 62(2): 445–447, <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b01945>.
85. Tanaka K., Zou J.P., Takeda K., Ferrans V.J., Sandford G.R., Johnson T.M., Finkel T., Epstein S.E. Effects of human cytomegalovirus immediate-early proteins on p53-mediated apoptosis in coronary artery smooth muscle cells. *Circulation* 1999; 99(13): 1656–1659, <https://doi.org/10.1161/01.cir.99.13.1656>.
86. Guevara N.V., Kim H.S., Antonova E.I., Chan L. The absence of p53 accelerates atherosclerosis by increasing cell proliferation in vivo. *Nat Med* 1999; 5(3): 335–339, <https://doi.org/10.1038/6585>.
87. Jacob T., Hingorani A., Ascher E. p53 gene therapy modulates signal transduction in the apoptotic and cell cycle pathways downregulating neointimal hyperplasia. *Vasc Endovascular Surg* 2012; 46(1): 45–53, <https://doi.org/10.1177/1538574411422277>.
88. Gerber H.P., Dixit V., Ferrara N. Vascular endothelial growth factor induces expression of the antiapoptotic proteins Bcl-2 and A1 in vascular endothelial cells. *J Biol Chem* 1998; 273(21): 13313–13316, <https://doi.org/10.1074/jbc.273.21.13313>.
89. Светозарский Н.Л., Артифексова А.А., Светозарский С.Н. Фактор роста эндотелия сосудов: биологические свойства и практическое значение (обзор литературы). *Медицина и образование в Сибири* 2015; 5: 24–32. Светозарский Н.Л., Артифексова А.А., Светозарский С.Н. Growth promoting factor of endothelium of vessels: biological properties and practical value (literature review). *Meditsina i obrazovanie v Sibiri* 2015; 5: 24–32.
90. Duran X., Vilahur G., Badimon L. Exogenous in vivo NO-donor treatment preserves p53 levels and protects vascular cells from apoptosis. *Atherosclerosis* 2009; 205(1): 101–106, <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2008.11.016>.
91. Spiguel L.R., Chandiwai A., Vosicky J.E., Weichselbaum R.R., Skelly C.L. Concomitant proliferation and caspase-3 mediated apoptosis in response to low shear stress and balloon injury. *J Surg Res* 2010; 161(1): 146–155, <https://doi.org/10.1016/j.jss.2008.11.001>.
92. Lee M., Rey K., Besler K., Wang C., Choy J. Immunobiology of nitric oxide and regulation of inducible nitric oxide synthase. *Results Probl Cell Differ* 2017; 62: 181–207, https://doi.org/10.1007/978-3-319-54090-0_8.
93. Boyd C.S., Cadenas E. Nitric oxide and cell signaling pathways in mitochondrial-dependent apoptosis. *Biol Chem* 2002; 383(3–4): 411–423, <https://doi.org/10.1515/bc.2002.045>.
94. Takahashi A., Masuda A., Sun M., Centonze V.E. Oxidative stress-induced apoptosis is associated with

alterations in mitochondrial caspase activity and Bcl-2-dependent alterations in mitochondrial pH (pH_m). *Brain Res Bull* 2004; 62(6): 497–504, <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2003.07.009>.

95. Chae I.H., Park K.W., Kim H.S., Oh B.H. Nitric oxide-induced apoptosis is mediated by Bax/Bcl-2 gene expression, transition of cytochrome C, and activation of caspase-3 in rat vascular smooth muscle cells. *Clin Chim Acta* 2004; 341(1–2): 83–91, <https://doi.org/10.1016/j.cccn.2003.11.009>.

96. Choi B.M., Pae H.O., Jang S.I., Kim Y.M., Chung H.T. Nitric oxide as a pro-apoptotic as well as anti-apoptotic modulator. *J Biochem Mol Biol* 2002; 35(1): 116–126, <https://doi.org/10.5483/bmbrep.2002.35.1.116>.

97. Chung H.T., Pae H.O., Choi B.M., Billiar T.R., Kim Y.M. Nitric oxide as a bioregulator of apoptosis.

Biochem Biophys Res Commun 2001; 282(5): 1075–1079, <https://doi.org/10.1006/bbrc.2001.4670>.

98. Dubey M., Nagarkoti S., Awasthi D., Singh A.K., Chandra T., Kumaravelu J., Barthwal M.K., Dikshit M. Nitric oxide-mediated apoptosis of neutrophils through caspase-8 and caspase-3-dependent mechanism. *Cell Death Dis* 2016; 7(9): e2348, <https://doi.org/10.1038/cddis.2016.248>.

99. Li X., Shang B., Li Y.N., Shi Y., Shao C. $IFN\gamma$ and $TNF\alpha$ synergistically induce apoptosis of mesenchymal stem/stromal cells via the induction of nitric oxide. *Stem Cell Res Ther* 2019; 10(1): 18–24, <https://doi.org/10.1186/s13287-018-1102-z>.

100. Zhang N., Diao Y., Hua R., Wang J., Han S., Li J., Yin Y. Nitric oxide-mediated pathways and its role in the degenerative diseases. *Front Biosci (Landmark Ed)* 2017; 22: 824–834, <https://doi.org/10.2741/4519>.