



## Взаимосвязь маркеров апоптоза с выраженностью атеросклеротического поражения коронарных артерий и клинико-инструментальными характеристиками пациентов с ишемической болезнью сердца

Захарьян Е. А., Фомочкина И. И.

**Цель.** Определение маркеров апоптоза в сыворотке крови в зависимости от выраженности атеросклеротического поражения коронарных артерий (КА); изучение связи с клинико-инструментальными характеристиками пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС).

**Материал и методы.** В исследование включены 176 человек (105 мужчин и 71 женщина), из них 150 — пациенты с установленным диагнозом ИБС, 26 — здоровые добровольцы (группа контроля). Больные были разделены на следующие группы: 1 группа — с атеросклеротическим поражением КА без явных стенозических сужений (17 человек); 2 группа — с гемодинамически невыраженным ("стенозы <50%") атеросклерозом КА (21 человек); 3 группа — с гемодинамически значимым ("стенозы >50%") атеросклеротическим поражением КА (112 человек). Группа 4 была представлена здоровыми добровольцами (26 человек). Пациентам была выполнена коронароангиография с использованием шкалы SYNTAX; эхокардиографическое исследование; дуплексное ультразвуковое сканирование внечерепных отделов брахиоцефальных артерий. У всех испытуемых проведено исследование уровня маркеров апоптоза Bcl-2, Bax, Bcl-2/Bax, TRAIL и p53 в сыворотке крови. Статистическую обработку полученных результатов осуществляли с использованием программного обеспечения "Statistica 10.0"; достоверными считали различия при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Отмечена сильная корреляционная связь очень высокой значимости между показателями Bcl-2 ( $r = -0,84$ ;  $p < 0,001$ ), Bax ( $r = 0,83$ ;  $p < 0,001$ ), Bcl-2/Bax ( $r = -0,86$ ;  $p < 0,001$ ), p53 ( $r = 0,80$ ;  $p < 0,001$ ), TRAIL ( $r = -0,78$ ;  $p < 0,001$ ) и выраженностью атеросклеротического поражения КА. Выявлена корреляционная связь разной силы и значимости между значениями данных маркеров апоптоза — и рядом клинико-инструментальных характеристик пациентов. Также необходимо отметить достоверность различий ( $p < 0,001$ ) показателей Bcl-2, Bax, Bcl2/Bax, p53 и TRAIL между группами пациентов с мультифокальным атеросклерозом, рестенозами после ранее проведенной реваскуляризации и наличием инфаркта миокарда в анамнезе в сравнении с пациентами без данных признаков.

**Заключение.** Выявленные нами корреляционные связи между лабораторными признаками апоптоза и поражением КА, клинико-инструментальными характеристиками пациентов, а также обнаруженная достоверность различий между группами с мультифокальным атеросклерозом, рестенозами КА и инфарктом миокарда в анамнезе, позволяют рассматривать данные биомаркеры как показатели выраженности атеросклеротических процессов, а также могут лечь в основу формирования новых лечебно-диагностических стратегий.

**Ключевые слова:** атеросклероз, апоптоз, Bcl-2, Bax, TRAIL, p53.

**Отношения и деятельность.** Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-25-20053, <https://rscf.ru/project/22-25-20053/>.

Институт "Медицинская академия им. С. И. Георгиевского", ФГАОУ ВО Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского, Симферополь, Россия.

Захарьян Е. А.\* — к. м. н., доцент кафедры внутренней медицины № 1, ORCID: 0000-0002-7384-9705, Фомочкина И. И. — д. м. н., профессор кафедры общей и клинической патофизиологии, ORCID: 0000-0003-3065-5748.

\*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):  
locren@yandex.ru

АГ — артериальная гипертензия, ГМК — гладкомышечные клетки, ИБС — ишемическая болезнь сердца, ИМ — инфаркт миокарда, КА — коронарные артерии, ЛЖ — левый желудочек, МФА — мультифокальный атеросклероз, ОКС — острый коронарный синдром, СН — сердечная недостаточность, ТИМ — толщина комплекса интима-медиа, ФВ — фракция выброса, ФК — функциональный класс, ЭхоКГ — эхокардиографическое исследование, Bax — белок-регулятор апоптоза, кодируемый геном BAX, Bcl-2 — внутриклеточный белковый регулятор апоптоза, основной представитель Bcl-2-семейства, DR4, DR5 — рецепторы клеточной смерти, TNF- $\alpha$  — фактор некроза опухоли-альфа, TNFR1 — рецептор фактора некроза опухоли, TRAIL — цитокин семейства факторов некроза опухоли, лиганд, вызывающий апоптоз, p53 — продукт гена-супрессора опухоли TP53, транскрипционный фактор, регулирующий клеточный цикл.

Рукопись получена 09.07.2023

Рецензия получена 04.08.2023

Принята к публикации 16.09.2023



**Для цитирования:** Захарьян Е. А., Фомочкина И. И. Взаимосвязь маркеров апоптоза с выраженностью атеросклеротического поражения коронарных артерий и клинико-инструментальными характеристиками пациентов с ишемической болезнью сердца. *Российский кардиологический журнал*. 2023;28(11):5518. doi:10.15829/1560-4071-2023-5518. EDN RVEQTN

## Relationship between apoptosis markers and the severity of coronary atherosclerosis and clinical and paraclinical characteristics of patients with coronary artery disease

Zakharyan E. A., Fomochkina I. I.

**Aim.** To assess markers of serum apoptosis markers depending on the severity of coronary atherosclerosis, as well as to study their relationship with clinical and paraclinical characteristics of patients with coronary artery disease (CAD).

**Material and methods.** The study included 176 people (105 men and 71 women), of which 150 were patients with an established diagnosis of CAD, 26 — healthy volunteers (control group). The patients were divided into the following groups: group 1 — with coronary atherosclerosis without stenosis ( $n=17$ ); group 2 — with hemodynamically insignificant (stenosis <50%) coronary atherosclerosis ( $n=21$ ); group 3 — with hemodynamically significant (stenosis >50%) coronary atherosclerosis ( $n=112$ ). Group 4 was represented by healthy

volunteers ( $n=26$ ). Patients underwent coronary angiography using the SYNTAX score, echocardiography, extracranial artery duplex ultrasound. All subjects were studied for the serum level of apoptosis markers Bcl-2, Bax, Bcl-2/Bax, TRAIL and p53. Statistical processing was carried out using the Statistica 10.0 software. Differences were considered significant at  $p < 0,05$ .

**Results.** There was a very high correlation between the Bcl-2 ( $r = -0,84$ ;  $p < 0,001$ ), Bax ( $r = 0,83$ ;  $p < 0,001$ ), Bcl-2/Bax ( $r = -0,86$ ;  $p < 0,001$ ), p53 ( $r = 0,80$ ;  $p < 0,001$ ), TRAIL ( $r = -0,78$ ;  $p < 0,001$ ) and the severity of coronary atherosclerosis. A correlation of varying strength and significance was revealed between the values of these apoptosis markers and a number of clinical and paraclinical characteristics of

patients. In addition, there were significant differences ( $p < 0,001$ ) in Bcl-2, Bax, Bcl2/Bax, p53 and TRAIL between groups of patients with multifocal atherosclerosis, restenosis after previous revascularization and a history of myocardial infarction in comparison with patients without these signs.

**Conclusion.** The correlations we have identified between laboratory signs of apoptosis and coronary lesions, clinical and paraclinical characteristics of patients, as well as the detected reliability of differences between groups with multifocal atherosclerosis, coronary artery restenosis and myocardial infarction in history, make it possible to consider these biomarkers as indicators of atherosclerosis severity. This can also be the basis for the development of novel treatment and diagnostic strategies.

**Keywords:** atherosclerosis, apoptosis, Bcl-2, Bax, TRAIL, p53.

**Relationships and Activities.** The study was supported by the Russian Science Foundation grant № 22-25-20053, <https://rscf.ru/project/22-25-20053/>.

S. I. Georgievsky Medical Academy, V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia.

Zakharyan E. A.\* ORCID: 0000-0002-7384-9705, Fomochkina I. I. ORCID: 0000-0003-3065-5748.

\*Corresponding author: locren@yandex.ru

**Received:** 09.07.2023 **Revision Received:** 04.08.2023 **Accepted:** 16.09.2023

**For citation:** Zakharyan E. A., Fomochkina I. I. Relationship between apoptosis markers and the severity of coronary atherosclerosis and clinical and paraclinical characteristics of patients with coronary artery disease. *Russian Journal of Cardiology*. 2023;28(11):5518. doi:10.15829/1560-4071-2023-5518. EDN RVEQTN

### Ключевые моменты

#### Что известно о предмете исследования?

- Апоптоз считается одним из морфологических признаков, характерных для различных типов регулируемой гибели клеток.
- Апоптоз кардиомиоцитов является ведущим процессом в развитии ишемии.
- В результате воздействия триггерных факторов во всех клетках атеромы обнаруживаются морфологические признаки апоптоза, что впоследствии может приводить к нестабильности атеросклеротической бляшки с увеличением риска тромбообразования и разрыва.

#### Что добавляют?

- Изучение связи маркеров апоптоза Bax, Bcl-2, Bcl-2/Bax, p53, TRAIL с выраженностью атеросклеротического поражения коронарных артерий и клинико-инструментальными характеристиками демонстрирует преобладание процессов апоптоза у пациентов с ишемической болезнью сердца и может создать перспективы в создании новых лечебно-диагностических стратегий.

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) является основной причиной смерти от сердечно-сосудистых заболеваний [1]. В основе ее патогенеза лежит дисфункция как сосудистых, так и миокардиальных процессов, которые индуцируются и усугубляются ишемией, гипоксией, окислительным стрессом, воспалением и различными типами гибели клеток [1]. На сегодняшний день известны такие варианты клеточной смерти, как апоптоз, некроз, некроптоз, пироптоз, ферроптоз и аутофагия [1-3]. Поскольку миокард обладает крайне ограниченной способностью к регенерации, механизмы регулируемой гибели клеток, включая апоптоз, являются наиболее значимыми для современных исследований из-за их

### Key messages

#### What is already known about the subject?

- Apoptosis is considered one of the morphological features characteristics of various types of regulated cell death.
- Apoptosis of cardiomyocytes is the leading process in ischemia development.
- As a result of exposure to trigger factors, morphological signs of apoptosis are found in all atheroma cells, which can subsequently lead to plaque instability with an increased risk of thrombosis and rupture.

#### What might this study add?

- Studying the relationship between apoptosis markers Bax, Bcl-2, Bcl-2/Bax, p53, TRAIL with the severity of coronary atherosclerosis and clinical and paraclinical characteristics demonstrates the predominance of apoptosis processes in patients with coronary artery disease and may create prospects for the creation of novel treatment and diagnostic strategies.

потенциальной обратимости. Более того, по данным ряда авторов, апоптоз считается одним из ключевых звеньев процессов атерогенеза [2, 4-6]. Известно, что в результате воздействия перечисленных триггерных факторов, во всех клетках атеромы обнаруживаются морфологические признаки апоптоза, что впоследствии может приводить к нестабильности атеросклеротической бляшки с увеличением риска тромбообразования и разрыва [2].

Существует три классических сигнальных пути апоптоза: внешний (через рецепторы смерти), внутренний (митохондриальный) и путь напряжения эндоплазматического ретикула. Активируя один или несколько из вышеперечисленных путей, различные стимулы могут индуцировать апоптоз [7].

Апоптоз, инициируемый внешним путем, запускается трансмембранными рецепторами смерти, которые являются членами семейства фактора некроза опухоли и содержат "домен смерти". Ряд лигандов и соответствующих рецепторов, включающих лиганд фрагмента, стимулирующего апоптоз FasL/FasR, фактор некроза опухоли-альфа (TNF- $\alpha$ )/рецептор фактора некроза опухоли (TNFR1), TRAIL, TRAIL/DR4 и TRAIL/DR5 (DR от англ. death receptors — рецепторы клеточной смерти), могут способствовать передаче сигналов смерти с поверхности клетки на внутриклеточные пути через домен смерти [2].

Внутренний сигнальный путь (также известный как митохондриальный) индуцируется митохондриями и также может запускать апоптоз. Такие стимулы, как гипоксия, гипертермия и др., способствуют росту проницаемости внешней мембраны митохондрий и, таким образом, ускоряют высвобождение проапоптотических белков (цитохром С и фактор, индуцирующий апоптоз) из межмембранного пространства в цитозоль. Происходит активация фактора апоптотической протеазы 1 ((Araf-1), клеточный цитозольный белок, инициирующий апоптоз), а также прокаспазы и впоследствии каспазы-9, которая, в свою очередь, стимулирует каспазу-3 и каспазу-7. Примечательно, что вышеупомянутые митохондриально-инициируемые события регулируют белки семейства В-клеточной лимфомы-2 (Bcl-2), которые находятся во внешней мембране митохондрий. Функционально они могут быть классифицированы на проапоптотические и антиапоптотические. К первым относятся Bad, Bax, Bak, Bid, Bim, PUMA (от англ. p53 upregulated modulator of apoptosis — проапоптотический белок из семейства Bcl-2, активирующийся при помощи транскрипционного фактора p53) и BNIP3 (от англ. BCL2 interacting protein 3 — белок семейства Bcl-2, участвующий в регуляции апоптоза); в то время как последние включают Bcl-2, Bcl-x, Bcl-XL и BAG. Среди белков семейства Bcl-2, Bax может усиливаться белком-супрессором опухоли p53 либо в ядре, либо в митохондриях (np53 или mp53); в то время как Bcl-2 или Bcl-XL могут блокировать np53 или mp53-опосредованный апоптоз. Известно о существовании взаимодействия между внешними и внутренними путями, что подтверждается возможностью Fas-опосредованного апоптоза инициировать повреждение митохондрий посредством расщепления Bid каспазой-8 [2]. Одним из ведущих направлений по изучению процессов апоптоза при ИБС является исследование маркеров, индуцирующих апоптоз, а также его ингибирующих, их соотношения, в сыворотке либо плазме крови пациентов. В связи с вышеизложенным представляется актуальным изучение концентрации маркеров апоптоза у пациентов с различной выраженностью атеросклеротического поражения коронарных арте-

рий (КА), в т.ч. в рамках клинических особенностей течения ИБС.

Целью исследования явилось определение маркеров апоптоза в сыворотке крови в зависимости от выраженности атеросклеротического поражения КА, а также изучение их связи с клинико-инструментальными характеристиками пациентов с ИБС.

### Материал и методы

Критерием включения больных было наличие ИБС, подтвержденное специфическими жалобами, данными анамнеза, ишемией при проведении электрокардиографического исследования либо холтеровского мониторирования электрокардиограммы, а также присутствием коронарного атеросклероза при проведении коронарографии. Критериями не включения были: перенесенные <6 нед. назад инфаркт миокарда (ИМ) либо острое нарушение мозгового кровообращения, любое острое воспалительное заболевание, хроническая болезнь почек  $\geq$  III стадии (скорость клубочковой фильтрации <60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>), потребность в гемодиализе или перитонеальном диализе, сахарный диабет обоих типов в стадии декомпенсации (уровень гликированного гемоглобина >11% или уровень глюкозы в течение суток  $\geq$ 11,0 ммоль/л), гипертрофическая или дилатационная кардиомиопатия, онкологические заболевания, заболевания крови и иммунной системы, беременность или период кормления.

В исследование включены 176 человек (105 мужчин и 71 женщина), из них 150 — пациенты с установленным диагнозом ИБС, 26 — здоровые добровольцы (группа контроля).

Больные были разделены на следующие группы: 1 группа — с атеросклеротическим поражением КА без явных стенозных сужений (17 человек); 2 группа — с гемодинамически невыраженным (стенозы <50%) атеросклерозом КА (21 человек); 3 группа — с гемодинамически значимым (стенозы >50%) атеросклеротическим поражением КА (112 человек). Среди пациентов с ИБС были выделены подгруппы больных с рестенозами после ранее перенесенной коронарной реваскуляризации миокарда в сроки от 4 мес. до 6 лет (25 человек), мультифокальным атеросклерозом (МФА) (35 человек), наличием ИМ в анамнезе (80 человек). Группа 4 была представлена здоровыми добровольцами, у которых сердечно-сосудистая патология исключалась на основании отсутствия клинических, анамнестических и электрокардиографических признаков заболевания сердца (26 человек). Все группы были сопоставимы по возрасту и полу.

Проведенное исследование было одобрено этическим комитетом ФГАОУ ВО "КФУ им. В. И. Вернадского" (протокол № 5 от 19.05.2022). Пациенты дали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Таблица 1

Клинико-инструментальная характеристика пациентов

Показатель	Группа 1 (n=17)	Группа 2 (n=21)	Группа 3 (n=112)
Syntax (Ме [Q25; Q75]), (баллы)	0,0 [0,0; 0,0]	8,0 [5,0; 14,0]	24,0 [16,0; 31,5]
МФА, n (%)	—	5 (9,5%)	31 (27,7%)
Стадия 2 АГ, n (%)	11 (64,7%)	13 (61,9%)	13 (11,6%)
Стадия 3 АГ, n (%)	5 (29,4%)	8 (38,1%)	102 (91,1%)
ФК 2 СН, n (%)	9 (52,9%)	10 (47,6%)	24 (21,4%)
ФК 3 СН, n (%)	8 (47,1%)	11 (52,4%)	85 (75,9%)
ФК 4 СН, n (%)	—	—	3 (2,7%)
Рестеноз КА, n (%)	—	—	24 (21,4%)
ФК 2 стенокардии, n (%)	1 (5,9%)	3 (14,3%)	24 (21,4%)
ФК 3 стенокардии, n (%)	5 (29,4%)	6 (28,6%)	69 (61,6%)
ФК 4 стенокардии, n (%)	—	—	3 (2,7%)
ФВ ЛЖ (Ме [Q25; Q75]), %	61,0 [58,0; 64,0]	60,5 [53,0; 63,5]	54,0 [47,0; 59,0]
ИМ в анамнезе, n (%)	—	2 (9,5%)	82 (73,2%)
ТИМ сонных артерий (Ме [Q25; Q75]), см	0,8 [0,75; 0,9]	0,8 [0,6; 1,1]	0,9 [0,7; 1,2]

**Сокращения:** АГ — артериальная гипертензия, ИМ — инфаркт миокарда, КА — коронарные артерии, МФА — мультифокальный атеросклероз, ФВ ЛЖ — фракция выброса левого желудочка, ФК СН — функциональный класс сердечной недостаточности согласно классификации Нью-Йоркской ассоциации сердца, ФК стенокардии — функциональный класс стенокардии согласно классификации Канадского кардиологического общества, ТИМ — толщина комплекса интима-медиа.

Пациентам из 1, 2 и 3 групп была выполнена коронароангиография с использованием радиального или трансфеморального доступов в условиях рентгеноперационной на ангиографической установке "General Electric Optima IGS 330". Для объективной количественной оценки тяжести атеросклероза КА использована шкала SYNTAX в виде онлайн калькулятора (<https://officialsyntaxscore.com>).

Эхокардиографическое исследование (ЭхоКГ) проводили с помощью ультразвукового сканера "Samsung Accuvix A30" методом двухмерной ЭхоКГ, доплер-ЭхоКГ в импульсном режиме и режиме непрерывной волны, цветным доплеровским сканированием. Оценивали стандартные структурные параметры желудочков, сократительную и диастолическую функцию левого желудочка (ЛЖ), состоятельность клапанного аппарата.

МФА представляет собой гемодинамически значимое атеросклеротическое поражение нескольких магистральных сосудистых бассейнов, таких как брахиоцефальный и бассейн артерий нижних конечностей, а также наличие утолщения комплекса интима-медиа сонных артерий. Известно, что МФА зачастую определяет тяжесть состояния пациентов и дальнейший прогноз. В настоящем исследовании толщина комплекса интима-медиа (ТИМ), выраженность стеноза сонных артерий исследовались с помощью дуплексного ультразвукового сканирования внечерепных отделов брахиоцефальных артерий с помощью ультразвукового сканера "Samsung UGEO H60"; увеличением комплекса считали его значения, равные или превышающие 0,9 мм.

Также нами проведено исследование уровня маркеров апоптоза Bcl-2 (внутриклеточный белковый фактор — регулятор апоптоза, основной представитель семейства Bcl-2), Вах (белок-регулятор апоптоза, кодируемый геном *BAX*), Bcl-2/Вах, TRAIL (цитокин семейства факторов некроза опухоли, лиганд, вызывающий апоптоз, продукт гена *TNFSF10*) и p53 (продукт гена-супрессора опухоли *TP53*, транскрипционный фактор, регулирующий клеточный цикл) в сыворотке крови. Для этого до проведения коронарографии проводился забор венозной крови натощак; кровь в вакуумной пробирке была выдержана при комнатной температуре 30 мин, после центрифугирования в течение 15 мин при 2500 об./мин сыворотку крови алиquotировали для дальнейшего замораживания (при  $-70^{\circ}\text{C}$ ). Использовали микропланшетный фотометр Multiskan FC Thermo Fisher Scientific (США), автоматический микропланшетный вошер W600 Sinnova (Китай), термошейкер для планшетов PST-60HL Biosan (Латвия). Уровень Bcl-2 (нг/мл) определяли с помощью прямого иммуноферментного анализа с использованием аналитического набора "Human Bcl-2 ELISA Kit" (Cloud Clone Corp., Китай), Вах (нг/мл) — с использованием "Human ELISA Kit for Bcl2 associated X protein (Вах)"

(Cloud Clone Corp., Китай), p53 (нг/мл) — "Human p53 ELISA Kit" (RayBiotech, Inc., США), TRAIL (пг/мл) — "Human TRAIL ELISA Kit" (RayBiotech, Inc., США) согласно инструкциям производителя.

Статистическую обработку полученных результатов осуществляли с использованием программного обеспечения "Statistica 10.0". Для данных, выраженных в дихотомической шкале, в качестве описательных статистик использовали абсолютные и относительные частоты. Для данных, представленных в порядковой или количественной шкалах, в качестве описательных статистик использовали медиану (Ме) и интерквартильный размах (Q25; Q75). Для оценки статистической значимости различий между двумя группами по каким-либо параметрам использовали критерий Манна-Уитни. Для оценки статистической связи между двумя признаками использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена с оценкой его значимости. Достоверными считали различия при  $p < 0,05$ .

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-25-20053, <https://rscf.ru/project/22-25-20053/>.

**Результаты**

Клинико-анамнестическая характеристика пациентов, включенных в исследование, представлена в таблице 1.

Таблица 2

Значения маркеров апоптоза в сыворотке крови в зависимости от выраженности атеросклеротического поражения КА

Показатель, Ме [Q25; Q75]	Группа 1 (n=17)	Группа 2 (n=21)	Группа 3 (n=112)	Группа 4 (n=26)
Vcl-2, нг/мл	4,80 [4,50; 5,00]*	3,85 [3,60; 3,95]*	2,60 [2,20; 2,90]*	5 [4,40; 5,40]*
Vax, нг/мл	20,30 [20,00; 21,70]*	28,80 [25,25; 31,00]*	35,10 [33,30; 36,30]*	15,60 [15,00; 16,20]*
p53, нг/мл	5,36 [4,74; 5,90]*	6,80 [6,11; 7,50]*	8,62 [7,96; 9,26]*	2,91 [2,20; 3,25]*
TRAIL, пг/мл	833,50 [648,30; 912,50]*	532,90 [451,70; 591,90]*	311,90 [222,10; 411,26]*	1749,60 [982,50; 2300,10]*
Vcl-2/Vax	0,23 [0,20; 0,25]*	0,13 [0,12; 0,15]*	0,07 [0,06; 0,09]*	0,32 [0,28; 0,36]*

Примечание: \* — все группы продемонстрировали достоверность различий по всем показателям  $p < 0,001$  при сравнении между собой.

Таблица 3

Оценка статистической связи между клинико-инструментальными показателями и значениями маркеров апоптоза с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена

Показатель	Vcl-2	Vax	Vcl-2/Vax	p53	TRAIL
Возраст	-0,37***	0,48***	-0,42***	0,45***	-0,41***
SYNTAX	-0,63***	0,69***	-0,68***	0,78***	-0,71***
ТИМ	-0,63***	0,54***	-0,65***	0,43**	0,11
ИМ в анамнезе	-0,58***	0,58***	-0,60***	0,55***	-0,55***
ФК стенокардии	-0,56***	0,53***	-0,57***	0,47***	-0,49***
ФК СН	-0,17*	0,24**	-0,19*	0,18*	-0,29**
ФВ ЛЖ	0,21*	-0,23**	0,23**	-0,24**	0,20*
Стадия АГ	-0,45***	0,48***	-0,49***	0,43***	-0,37***
МФА	-0,26***	0,32***	-0,30***	0,41***	-0,39***
Рестенозы КА	-0,22*	0,35***	-0,27**	0,24**	-0,33***
Уровень глюкозы	-0,23*	0,27*	-0,25**	0,20*	-0,26*

Примечание: уровень статистической значимости корреляционной связи \* —  $p < 0,05$ , \*\* —  $p < 0,01$ , \*\*\* —  $p < 0,001$ .

Сокращения: АГ — артериальная гипертензия, ИМ — инфаркт миокарда, КА — коронарные артерии, МФА — мультифокальный атеросклероз, ФВ ЛЖ — фракция выброса левого желудочка, ФК СН — функциональный класс сердечной недостаточности согласно классификации Нью-Йоркской ассоциации сердца, ФК стенокардии — функциональный класс стенокардии согласно классификации Канадского кардиологического общества, ТИМ — толщина комплекса интима-медиа.

В результате проведенного исследования отмечена сильная корреляционная связь очень высокой значимости между показателями Vcl-2 ( $r = -0,84$ ;  $p < 0,001$ ), Vax ( $r = 0,83$ ;  $p < 0,001$ ), Vcl-2/Vax ( $r = -0,86$ ;  $p < 0,001$ ), p53 ( $r = 0,80$ ;  $p < 0,001$ ), TRAIL ( $r = -0,78$ ;  $p < 0,001$ ) и выраженностью атеросклеротического поражения КА (табл. 2).

Также выявлена корреляционная связь разной силы и значимости между показателями Vcl-2, Vax, Vcl-2/Vax, p53 и TRAIL — и рядом клинико-инструментальных характеристик пациентов с ИБС (табл. 3).

Необходимо отметить полученную достоверность различий ( $p < 0,001$ ) показателей Vcl-2, Vax, Vcl2/Vax, p53 и TRAIL между группами пациентов с МФА — и пациентами с поражением только КА, с рестенозами после ранее проведенной реваскуля-

ризации — и с проходимыми стентами в КА, а также между группами пациентов с наличием ИМ и без острых коронарных событий в анамнезе (табл. 4).

### Обсуждение

В 1972г австрийский патологоанатом Дж. Ф. Керр в сотрудничестве с шотландскими коллегами А.Х. Уайли и А.Р. Карри ввели понятие "апоптоз" (от древнегреческого ἀπόπτωσις — опадение листьев) для описания морфологически стереотипной формы клеточной гибели, характеризующейся уменьшением объема цитоплазмы, конденсацией хроматина и маргинализацией, сморщиванием ядра (кариопикноз), фрагментацией ядра (кариорексис), вздутием мембран и образованием отдельных апоптотических телец с неповрежденной клеточной мембраной [7]. Согласно современной биохимической классификации Номенклатурного комитета по клеточной смерти, апоптоз считается одним из морфологических признаков, характерных для различных типов регулируемой гибели клеток [8].

Важное значение в понимании процессов апоптоза при ИБС имеют проапоптотические и антиапоптотические белки семейства BCL-2. При этом соотношение Vcl-2/Vax является своего рода "реостатом", регулирующим гибель клеток в зависимости от баланса между Vcl-2 и Vax. Апоптоз кардиомиоцитов является известным ведущим процессом при развитии ишемии. При ингибировании апоптоза соотношение Vcl-2/Vax увеличивается, что способствует выживанию кардиомиоцитов в перинфарктной области. Предыдущие исследования выявили значительную роль аномальной экспрессии Vcl-2 в модуляции апоптоза кардиомиоцитов при реперфузионном повреждении [9, 10].

Нами обнаружена обратная сильная очень высоко значимая корреляционная связь между концентрацией антиапоптотических маркеров Vcl-2 ( $r = -0,84$ ,  $p < 0,001$ ) и Vcl-2/Vax ( $r = -0,86$ ,  $p < 0,001$ ), прямая сильная очень высоко значимая корреляционная связь между значениями проапоптотического показателя Vax ( $r = 0,83$ ,  $p < 0,001$ ) — и выраженностью атеросклеротического поражения КА, а также статистически значимые различия показателей в группах с МФА,

Таблица 4

Маркеры апоптоза у пациентов в зависимости от наличия МФА, рестенозов и ИМ в анамнезе

Показатель, Me [Q25; Q75]	Пациенты с МФА (n=35)	Пациенты без МФА (n=115)	Пациенты с рестенозом КА (n=25)	Пациенты без рестенозов КА (n=125)	Пациенты с ИМ в анамнезе (n=80)	Пациенты без ИМ в анамнезе (n=70)
Vcl-2, нг/мл	2,5 [2,2; 3,1]*	3,1 [2,5; 4,35]	2,6 [2,4; 2,9]*	3,0 [2,5; 4,1]	2,55 [2,2; 2,9]*	3,9 [2,9; 4,9]
Vax, нг/мл	35,7 [32,7; 37,0]*	25,81 [20,3; 35,2]	36,1 [34,7; 37,0]*	31,9 [22,3; 35,5]	35,35 [33,5; 36,25]*	25,3 [17,0; 33,0]
Vcl-2/Vax	0,07 [0,06; 0,09]*	0,09 [0,07; 0,22]	0,07 [0,07; 0,08]*	0,09 [0,07; 0,19]	0,07 [0,06; 0,09]*	0,15 [0,09; 0,27]
p53, нг/мл	9,12 [7,97; 9,9]*	7,65 [5,26; 8,58]	8,41 [8,0; 9,22]*	7,78 [5,68; 8,9]	8,66 [7,97; 9,26]*	6,19 [3,97; 8,09]
TRAIL, пг/мл	279,1 [185,71; 379,2]*	451,7 [310,6; 845,1]	297,2 [199,2; 364,81]*	439,12 [301,6; 712,2]	311,85 [251,9; 389,75]*	605,75 [415,55; 945,88]

Примечание: \* — достоверность различий при значениях  $p < 0,001$ .

Сокращения: ИМ — инфаркт миокарда, КА — коронарные артерии, МФА — мультифокальный атеросклероз.

рестенозами и ИМ в анамнезе ( $p < 0,001$ ) в сравнении с пациентами без указанных признаков. Схожие тенденции наблюдаются при рассмотрении значений ТИМ, баллов по шкале SYNTAX, функционального класса (ФК) стенокардии, ФК сердечной недостаточности (СН), фракции выброса (ФВ) ЛЖ и стадии артериальной гипертензии (АГ): нами выявлена корреляционная связь различной силы и значимости между уровнем Vcl-2, Vax, Vcl-2/Vax и указанными клинико-инструментальными показателями. Полученные данные свидетельствуют об активации процессов апоптоза, что, вероятно, может быть обусловлено действием провоспалительных цитокинов, гипоксии и явлений окислительного стресса у данных категорий пациентов.

Существует ряд исследований, подтверждающих роль апоптоза в развитии ремоделирования ЛЖ и СН после ИМ [2, 10]. Более того, апоптоз коррелирует с прогрессированием параметров ремоделирования, что сопровождается увеличением Vax в месте инфаркта [10]. Экспериментальные исследования показали, что индуцированный ИМ апоптоз кардиомиоцитов связан с путем СНIP-p53 (от англ. carboxy-terminus of Hsc70 interacting protein — Hsp-ассоциированная E3-убиквитин-лигаза); при подавлении p53 апоптоз миокарда и ремоделирование желудочков останавливаются [11].

Аномальный апоптоз сосудистых эндотелиальных клеток, макрофагов и гладкомышечных клеток (ГМК) сосудов является распространенным патогенетическим этапом атерогенеза, в т.ч. способствующим нестабильности атеросклеротических бляшек. Так, апоптоз эндотелиальных клеток КА вызывает повреждения самого эндотелия, что лежит в основе развития атеросклероза. Апоптоз макрофагов опосредуется через путь СНОР-Vax (СНОР — транскрипционный фактор, гомологичный ССААТ-энхансер-связывающему белку) во время стресса эндоплазматического ретикула, что приводит к разрыву атеросклеротической бляшки и, таким образом, повышает риск разви-

тия острого коронарного синдрома (ОКС). Наряду с гибелью макрофагов имеет место апоптоз ГМК сосудов, вероятно, индуцируемый макрофагами посредством взаимодействий лиганда смерти с соответствующими рецепторами смерти, что может быть центральным событием в разрыве бляшки. Апоптоз ГМК приводит к прогрессированию атерогенеза: способствует кальцификации, вызывает признаки медиальной дегенерации, включая атрофию, фрагментацию эластина [2, 12].

Исследования *in vitro* продемонстрировали способность p53 дифференцированно регулировать пролиферацию и апоптоз макрофагов и ГМК [11, 12]. Нами получены данные, демонстрирующие повышение концентрации p53 в сыворотке крови при увеличении выраженности атеросклеротического поражения КА ( $r=0,80$ ;  $p < 0,001$ ), а также статистически значимо более высокие его значения в группах с МФА, рестенозами и ИМ в анамнезе ( $p < 0,001$ ) в сравнении с пациентами без указанных признаков. Обнаружена прямая умеренная корреляционная связь показателей p53 со значениями ТИМ ( $p < 0,01$ ), ФК стенокардии ( $p < 0,001$ ) и стадией АГ ( $p < 0,001$ ), слабая обратная корреляционная связь с ФВ ЛЖ ( $p < 0,01$ ), прямая очень слабая корреляционная связь с ФК СН ( $p < 0,05$ ). Выявленные закономерности подтверждают усиление апоптотических процессов у пациентов при прогрессировании атеросклероза и подчеркивают роль p53 как одного из маркеров неблагоприятного течения ИБС.

Важно подчеркнуть взаимосвязь воспалительных и апоптотических механизмов формирования и эволюции атеросклеротической бляшки, поскольку есть доказательства задержки, дефектного фагоцитоза и активного выделения провоспалительных медиаторов, сигнальных молекул при гиперлипидемии. По-видимому, при атеросклерозе имеет место "порочный круг", включающий в себя первичное воспаление, активацию проапоптотических сигнальных путей, чрезмерный апоптоз эндотелиальных клеток, макрофагов и ГМК, который, в свою очередь, со-

проводится высвобождением провоспалительных цитокинов (интерлейкина-1, интерлейкина-1 $\beta$ ), что в итоге приводит к прогрессированию воспаления, апоптоза и атеросклеротического повреждения [12]. В качестве доказательства от противного можно привести исследование, которое продемонстрировало ингибирующий апоптоз ГМК сосудов по пути JAK2-STAT3 (JAK — от англ. Janus Kinase — семейство ассоциированных с рецепторами киназ; STAT — от англ. Signal Transducer and Activator of Transcription — активатор транскрипции, участвующий в передаче сигнала) эффект противовоспалительного интерлейкина-10 [2].

Поскольку атеросклеротическая бляшка представлена гетерогенными популяциями клеток, стоит отметить, что их изменения не всегда носят односторонний характер. Индуцирует ли апоптоз воспаление, зависит от происхождения клеток: например, ГМК-подобные клетки, имеющие костномозговое происхождение, уже имеют провоспалительный фенотип, и их апоптоз уменьшает воспаление [13].

В связи с вышеописанным особенный интерес в качестве потенциальных мишеней терапевтического воздействия и диагностического поиска имеют некоторые сигнальные молекулы, которые принимают участие в регуляции процессов воспаления и апоптоза. Так, исследования предполагают, что TNF- $\alpha$  также имеет прогностическое значение у пациентов с острым ИМ. Однако клиническое исследование с применением антагониста TNF- $\alpha$  у данной категории больных не продемонстрировало положительного терапевтического эффекта. Эти результаты свидетельствуют о том, что значение TNF- $\alpha$  в развитии ИБС представляется сложным и включает в себя широкий спектр биологических процессов. Эта концепция подтверждается противоречивостью роли TRAIL в развитии атеросклероза и прогрессировании ИБС. После связывания с рецепторами TRAIL-R1 и TRAIL-R2, TRAIL инициирует внутриклеточный сигнальный каскад, приводящий к апоптотической гибели клеток. Однако точный молекулярный механизм действия TRAIL продолжает оставаться предметом научных дискуссий и инициации исследований. В ряде экспериментальных работ показана протекторная активность TRAIL. Так, у мышей с сахарным диабетом прямое введение TRAIL снижало развитие кардиомиопатии и имело антиатеросклеротическую активность. В нескольких клинических исследованиях сообщалось, что уровни TRAIL оказались обратно пропорциональны тяжести ИБС, ОКС и частоте сердечно-сосудистых осложнений после острого ИМ. По данным авторов, сывороточные уровни TRAIL были значительно снижены у пациентов с острым ИМ исходно (по сравнению с контрольной группой) и были связаны с увеличением частоты сердечной смерти и СН в течение 12 мес. наблюде-

ния, даже после корректировки демографических и клинических параметров риска, а также оказались наиболее значимым и независимым предиктором комбинированной конечной точки смерти и госпитализации по поводу СН в течение 6 мес. после ОКС [1, 2, 14]. Низкие уровни TRAIL могут предсказывать худший прогноз также у пациентов с хронической СН и у пожилых пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями [1].

Это согласуется с полученными нами статистически значимо меньшими значениями концентрации TRAIL в сыворотке крови в группах пациентов с МФА, рестенозами и ИМ в анамнезе ( $p < 0,001$ ) в сравнении с пациентами без данных признаков, а также с обнаруженной обратной сильной очень высоко значимой корреляционной связью с выраженностью атеросклеротического поражения КА ( $r = -0,78$ ;  $p < 0,001$ ), обратной очень высоко значимой связью умеренной силы с ФК стенокардии ( $r = -0,49$ ,  $p < 0,001$ ) и стадией АГ ( $r = -0,37$ ,  $p < 0,001$ ), обратной слабой высоко значимой корреляционной связью с ФК СН ( $r = -0,29$ ,  $p < 0,01$ ), обратной слабой корреляционной связью с ФВ ЛЖ ( $r = -0,20$ ,  $p < 0,05$ ).

Необходимо отметить, что остается неясным, является ли снижение уровня TRAIL результатом уменьшения продукции, либо является отражением увеличения его потребления: так, в исследовании *in vitro* было показано, что металлопротеиназа 2 типа, уровень которой повышен у пациентов с ОКС, способна расщеплять TRAIL [15]. Лучшее понимание точного молекулярного механизма TRAIL может стать новой мишенью для разработки новых терапевтических стратегий.

**Ограничения исследования.** Включение в работу пациентов, которым на основании клинико-анамнестических признаков был выставлен диагноз ИБС, однако при проведении коронарографии стенозных сужений КА выявлено не было. Вероятно, это может быть связано с наличием таких форм, как вазоспастическая либо микрососудистая стенокардия, что требует в дальнейшем более детального определения критериев включения пациентов в исследование.

### Заключение

В последние годы внимание многих ученых сосредоточено на процессе апоптоза при различных заболеваниях сердечно-сосудистой системы в связи с потенциальной возможностью его контроля. Изучение маркеров апоптоза в сыворотке крови является многообещающим направлением в исследованиях атерогенеза и ИБС в связи с технической простотой получения материала и высокой информативностью результатов. Однако при изучении данных показателей отсутствует единое мнение: ряд исследователей рассматривают их с точки зрения

возможной кардиопротекции, другие — как одни из звеньев патогенетического механизма. В нашей работе при изучении комплекса про- и антиапоптотических факторов продемонстрировано статистически значимое увеличение уровня Вах, р53 и снижение Bcl-2, Bcl-2/Вах и TRAIL в сыворотке крови по мере нарастания выраженности атеросклеротического поражения КА, а также выявлены корреляционные связи различной силы между лабораторными маркерами и рядом клинико-инструментальных по-

казателей у пациентов с ИБС. Полученные данные позволяют предположить возможное использование показателей апоптоза в качестве маркеров выраженности атеросклеротических процессов, а также могут явиться плацдармом для разработки новых лечебно-диагностических подходов.

**Отношения и деятельность.** Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-25-20053, <https://rscf.ru/project/22-25-20053/>.

### Литература/References

1. Teringova E, Tousek P. Apoptosis in ischemic heart disease. *J Transl Med.* 2017;15(1):87. doi:10.1186/s12967-017-1191-y.
2. Dong Y, Chen H, Gao J, et al. Molecular machinery and interplay of apoptosis and autophagy in coronary heart disease. *J Mol Cell Cardiol.* 2019;136:27-41. doi:10.1016/j.jmcc.2019.09.001.
3. Ji N, Qi Z, Wang Y, et al. Pyroptosis: A New Regulating Mechanism in Cardiovascular Disease. *J Inflamm Res.* 2021;14:2647-66. doi:10.2147/JIR.S308177.
4. Del Re DP, Amgala D, Linkermann A, et al. Fundamental Mechanisms of Regulated Cell Death and Implications for Heart Disease. *Physiol Rev.* 2019;99(4):1765-817. doi:10.1152/physrev.00022.2018.
5. 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):175-93. doi:10.1038/s41580-018-0089-8.
6. Pahlavani HA. Exercise-induced signaling pathways to counteracting cardiac apoptotic processes. *Front Cell Dev Biol.* 2022;10:950927. doi:10.3389/fcell.2022.950927.
7. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer.* 1972;26(4):239-57. doi:10.1038/bjc.1972.33.
8. Galluzzi L, Vitale I, Aaronson SA, et al. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell Death Differ.* 2018;25(3):486-541. doi:10.1038/s41418-017-0012-4.
9. Kalinin RE, Suchkov IA, Klimentova EA, et al. On the role of apoptosis in the development of atherosclerosis and restenosis of the reconstruction zone. *Novosti khirurgii.* 2020;28(4):418-27. (In Russ.) Калинин Р.Е., Сучков И.А., Климентова Э.А. и др. К вопросу о роли апоптоза в развитии атеросклероза и рестеноза зоны реконструкции. *Новости хирургии.* 2020;28(4):418-27. doi:10.18484/2305-0047.2020.4.418.
10. Korshunova AY, Blagonravov ML, Neborak EV, et al. BCL2-regulated apoptotic process in myocardial ischemia-reperfusion injury (Review). *Int J Mol Med.* 2021;47(1):23-36. doi:10.3892/ijmm.2020.4781.
11. Glukhov AI, Gryzunova GK, Usai LI, et al. The Role of Apoptosis in the Pathogenic Mechanism of Critical States (Review). *General Reanimatology.* 2019;15(2):79-98. doi:10.15360/1813-9779-2019-2-79-98.
12. Clarke M, Talib S, Figg N, et al. Vascular smooth muscle cell apoptosis induces IL-1-directed inflammation; effects of hyperlipidemia-mediated inhibition of phagocytosis. *Circ Res.* 2010;106:363-72.
13. Yu H, Stoneman V, Clarke M, et al. Bone Marrow-Derived Smooth Muscle-Like Cells Are Infrequent in Advanced Primary Atherosclerotic Plaques but Promote Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011;31:1291-9.
14. Xu X, Lai Y, Hua ZC. Apoptosis and apoptotic body: disease message and therapeutic target potentials. *Biosci Rep.* 2019;39(1):BSR20180992. doi:10.1042/BSR20180992.
15. Obeng E. Apoptosis (programmed cell death) and its signals — A review. *Braz J Biol.* 2021;81(4):1133-43. doi:10.1590/1519-6984.228437.