



Уровень маркёров апоптоза и пролиферации клеток в зоне рестеноза после реконструктивных вмешательств на артериях нижних конечностей

Роман Евгеньевич Калинин¹, Игорь Александрович Сучков¹,
Эмма Анатольевна Климентова^{2*}, Алексей Владимирович Шулькин¹,
Александр Андреевич Герасимов, Владислав Олегович Поваров¹

¹Рязанский государственный медицинский университет, г. Рязань, Россия;

²Областная клиническая больница, г. Рязань, Россия

Реферат

Цель. Оценка количества маркёров апоптоза и пролиферации клеток, а также их взаимосвязей в зоне рестеноза артериальных реконструкций.

Методы. В исследование включены 14 пациентов с диагнозом «Облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей. Посттромботическая окклюзия бедренно-подколенных шунтов». Все пациенты были мужского пола с III стадией заболевания по классификации А.В. Покровского–Фонтейна. Средний возраст пациентов составил 65±3,4 года. Давность заболевания 9±2,5 мес после первоначального вмешательства. У пациентов во время выполнения повторных артериальных реконструкций забирали интраоперационный материал — дистальный анастомоз бедренно-подколенного шунта. В качестве контроля использовали образцы артериальной стенки, полученные во время эксплантации органов от посмертных доноров без облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей. Количество образцов — 8. Участок их забора — подколенная артерия. После забора образцов их измельчали и готовили гомогенат с последующим определением белков p53, тромбоцитарного фактора роста BB, Bcl2 и Вах с помощью иммуноферментного метода. Статистический анализ проведён с использованием пакета программ Statistica 10.0. Групповые различия оценивали с помощью критерия Манна–Уитни. Коэффициенты корреляции определяли с помощью теста Спирмена. Данные представлены медианой и межквартильным интервалом.

Результаты. В образцах с рестенозом количество белка p53 составило 0,07 ед./мг и было значимо снижено в сравнении с контрольными образцами — 0,14 ед./мг ($p=0,015$). Количество тромбоцитарного фактора роста BB составило 0,17 нг/мг ($p=0,05$), Bcl2 — 1,61 нг/мг ($p=0,008$), Вах — 6,0 нг/мг ($p=0,25$) в зоне рестеноза и было повышено в сравнении с их количеством в контрольных образцах (0,04; 0,9 и 4,4 нг/мг соответственно). Выявлена взаимосвязь между p53 и тромбоцитарным фактором роста BB ($r=-0,724$, $p=0,002$), тромбоцитарным фактором роста BB и Bcl2 ($r=0,672$, $p=0,003$) в образцах с рестенозом зоны вмешательства.

Вывод. Сниженная активность апоптоза, выражающаяся в низких значениях белка p53 на фоне повышенного соотношения Bcl2/Вах, связана с усилением пролиферативного ответа клеток сосудистой стенки в зоне рестеноза артериальной реконструкции.

Ключевые слова: Bcl2, Вах, p53, апоптоз, рестеноз, тромбоцитарный фактор роста BB (PDGF BB).

Для цитирования: Калинин Р.Е., Сучков И.А., Климентова Э.А., Шулькин А.В., Герасимов А.А., Поваров В.О. Уровень маркёров апоптоза и пролиферации клеток в зоне рестеноза после реконструктивных вмешательств на артериях нижних конечностей. *Казанский мед. ж.* 2021; 102 (4): 453–458. DOI: 10.17816/KMJ2021-453.

The level of markers of apoptosis and cell proliferation in the area of restenosis after lower extremity arterial reconstruction

R.E. Kalinin¹, I.A. Suchkov¹, E.A. Klimentova², A.V. Shchulkin¹, A.A. Gerasimov², V.O. Povarov¹

¹Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia;

²Regional Clinical Hospital, Ryazan, Russia

Abstract

Aim. To assess the number of markers of apoptosis and cell proliferation, as well as their relationships in the area of restenosis of arterial reconstructions.

Methods. The study included 14 patients with a diagnosis of “arteriosclerosis obliterans of the lower extremities. Post-thrombotic occlusion of femoropopliteal bypass”. All patients were males with stage III disease according to the Fontaine classification modified by A.V. Pokrovsky. The average age of the patients was 65 ± 3.4 years. The mean disease duration was 9 ± 2.5 months after the initial intervention. Intraoperative material — distal anastomosis of femoropopliteal bypass — was taken from patients during arterial reconstructions. As a control, we used arterial wall samples obtained at organ procurement from postmortem donors without arteriosclerosis obliterans of the lower extremities. The number of samples is 8. The site of their collection is the popliteal artery. After sampling, they were crushed, and a homogenate was prepared, followed by the determination of the amount of p53, PDGF BB, Bcl2, and Bax proteins using the enzyme immunoassay. Statistical analysis was performed using the Statistica 10.0 software. Group differences were assessed by using the Mann–Whitney test. Correlation coefficients were determined using the Spearman test. Data are presented as medians and interquartile ranges.

Results. In tissue samples of restenosis, the amount of p53 protein was 0.07 units/mg and was significantly reduced compared with the control samples — 0.14 units/mg ($p=0,015$). The amount of platelet-derived growth factor PDGF BB was 0.17 ng/mg ($p=0,05$), Bcl2 — 1.61 ng/mg ($p=0,008$), Bax — 6.0 ng/mg ($p=0,25$) in the restenosis area and was increased in comparison with the control samples (0.04 ng/mg, 0.9 ng/mg, 4.4 ng/mg, respectively). A relationship between p53 and platelet-derived growth factor BB ($r=-0,724$, $p=0,002$), platelet-derived growth factor BB and Bcl2 ($r=0,672$, $p=0,003$) was revealed in samples from restenosis tissue obtained during arterial reconstructions.

Conclusion. The decreased apoptosis, expressed in a low level of p53 protein, with an increased Bax/Bcl-2 ratio is associated with an increase in the proliferative response of vascular wall cells in the area of restenosis of arterial reconstruction.

Keywords: Bcl2, Bax, p53, apoptosis, restenosis, PDGF BB.

For citation: Kalinin R.E., Suchkov I.A., Klimentova E.A., Shchulkin A.V., Gerasimov A.A., Povarov V.O. The level of markers of apoptosis and cell proliferation in the area of restenosis after lower extremity arterial reconstruction. *Kazan Medical Journal*. 2021; 102 (4): 453–458. DOI: 10.17816/KMJ2021-453.

Актуальность. В настоящий момент отмечают постоянный рост количества реконструктивно-восстановительных вмешательств на магистральных артериях нижних конечностей. Успех хирургического лечения ведёт к купированию ишемии нижних конечностей и улучшению качества жизни пациента. Однако развитие рестеноза зоны вмешательства сводит на нет успех операций и требует повторных реконструкций.

Гиперплазия неоинтимы (НИ) — одна из основных причин, ведущих к рестенозу. Пролиферативный ответ интимы представляет собой часть процесса нормального заживления сосудистой стенки после операционной травмы. Однако в ряде случаев происходит развитие неконтролируемой гиперплазии НИ, предотвращение и контроль которой остаются нерешённой проблемой [1].

В последнее время ряд исследований, посвящённых изучению патогенеза данного осложнения, показывает, что система апоптоза может играть важную роль в развитии гиперплазии НИ [2].

Апоптоз — форма генетически запрограммированной гибели клеток, которая играет

ключевую роль в регуляции клеточного состава различных тканей, в том числе и артериальной стенки, как в норме, так и при атеросклеротическом поражении [3,4].

Современные методы диагностики (световая микроскопия, проточная цитометрия и др.) позволяют определять морфологические признаки апоптоза — уменьшение размера клетки, сморщивание цитоплазматической мембраны, конденсация ядра, разрывы нитей ядерной дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) и др. Более информативным способом служит определение биохимических маркёров апоптоза, дающее практические точки приложения для терапевтического воздействия при лечении пациентов с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей (ОААНК) [5].

В доступной литературе баз данных PubMed, Elibrary, Google Scholar, Medline исследований, посвящённых изучению лабораторных маркёров апоптоза в зоне рестеноза у пациентов ОААНК, найдено не было.

К основным маркёрам, участвующим в регуляции системы апоптоза в клетках сосудистой стенки относятся белки семейства Bcl2, p53 [6].

p53 представляет собой стресс-зависимый белок, который активируется различными стимулами (повреждение ДНК, гипоксия, окислительный стресс), присутствующими при атеросклерозе. После активации он тормозит смену фаз клеточного цикла, поддерживая тем самым стабильный клеточный состав. Своё участие в регулировании апоптоза он осуществляет либо через белки семейства Bcl2 (индуцируя проапоптотический белок Bax при ингибировании антиапоптотического белка Bcl2), либо через рецепторный путь (индуцируя взаимодействие Fas-рецептора с Fas-лигандом с последующей активацией каспаз) [7].

R.Y. Cao и соавт. (2017) показали, что у мышей, лишённых гена белка p53, происходит ускоренное развитие атеросклеротического поражения, причём гладкомышечные клетки (ГМК) имеют увеличенную скорость пролиферации на фоне незначительной их гибели [8].

Другой активный участник системы апоптоза — семейство белков Bcl2. К основным его представителям относятся антиапоптотический белок Bcl2 и проапоптотический белок Bax. Их соотношение Bcl2/Bax в митохондриальной мембране определяет судьбу клетки и называется проапоптотическим индексом. Данные белки были обнаружены в клетках атеросклеротической бляшки (преимущественно ГМК и макрофаги) при различной локализации поражения [9]. Рядом учёных показано, что два противоположных клеточных процесса, пролиферация и апоптоз, существуют вместе в зоне рестеноза сонной артерии крысы после баллонной ангиопластики [10].

Роль пролиферации и миграции клеток в формировании гиперплазии НИ в зоне рестеноза доказана экспериментальными и клиническими исследованиями. Один из ключевых представителей пролиферации и миграции клеток, принимающий участие в формировании гиперплазии НИ, — тромбоцитарный фактор роста BB (PDGF BB — от англ. platelet-derived growth factor). В ответ на операционную травму он активируется в первые часы и индуцирует миграцию ГМК из медиа в интиму. Применение ингибиторов PDGF BB в экспериментальных моделях приводило к уменьшению формирования НИ. Однако взаимосвязь и соотношение PDGF BB с маркерами апоптоза в развитии гиперплазии НИ изучены недостаточно, а полученные результаты противоречивы [11].

Цель. Исходя из вышеизложенного, была сформулирована цель нашего исследования: оценка количества маркеров апоптоза и проли-

ферации клеток, а также их взаимосвязей в зоне рестеноза артериальных реконструкций.

Материал и методы исследования. В когортное исследование были включены 14 пациентов с 2019 по 2020 г. с диагнозом «ОААНК. Посттромботическая окклюзия синтетических бедренно-подколенных шунтов выше щели коленного сустава». Все пациенты были мужского пола с III стадией заболевания по классификации А.В. Покровского–Фонтейна. Средний возраст пациентов составил $65 \pm 3,4$ года, давность заболевания — $9 \pm 2,5$ мес после первоначального реконструктивно-восстановительного вмешательства.

Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом Рязанского государственного медицинского университета им. И.П. Павлова (№7 от 03.03.2020).

После проведённого дополнительного обследования (ультразвуковое дуплексное сканирование, ангиография артерий нижних конечностей) пациенты подвергались повторным артериальным реконструкциям на базе Областной клинической больницы г. Рязани. Интраоперационно производили забор материала, представляющего собой дистальный анастомоз синтетического бедренно-подколенного шунта (раннее шунтабельная артерия, участок самого протеза с неоинтимальной выстилкой).

В качестве контроля использовали образцы артериальной стенки, полученные во время эксплантации органов от посмертных доноров без ОААНК (по данным ультразвукового дуплексного сканирования артерий нижних конечностей). Количество образцов — 8. Участок их забора — подколенная артерия. Все доноры были мужского пола, средний возраст составил $61 \pm 4,4$ года. Различия по возрасту между исследуемой группой и группой контроля отсутствовали ($p=0,143$).

Образцы измельчали и готовили гомогенат с помощью лизирующего буфера Thermo Fisher Scientific (США) и роторного высокоскоростного гомогенизатора DIAH 900 (Heidolph, Германия) (насадка 6G), со скоростью 24 000 об./мин в течение 60 с при температуре $+2$ °C. Полученный гомогенат центрифугировали при 1000 g в течение 10 мин (температура $+2$ °C). В полученном супернатанте определяли количество протеина Bcl-2 с помощью коммерческого набора Invitrogen (США), уровень Bcl2-ассоциированного белка X (Bax — от англ. Bcl2 associated X protein) — с помощью набора Cloud-Clone Corporation (Китай) количество белка p53 — с помощью набора Invitrogen (США), количество PDGF BB — с помощью набора Invitrogen (США) методом иммуноферментного анализа.

Таблица 1. Маркёры апоптоза и пролиферации клеток у пациентов с рестенозом зоны реконструкции

Показатели, Ме [Q ₁ -Q ₃]	p53, ед./мг	PDGF BB, нг/мг	Bcl2, нг/мг	Bax, нг/мг	Bcl2/Bax
Образцы с рестенозом зоны артериальной реконструкции	0,07 [0,06; 0,08]	0,17 [0,09; 0,34]	1,61 [1,21; 1,8]	6,0 [5,1; 7,2]	0,28
Образцы с нормальной артериальной стенкой	0,14 [0,09; 0,24]	0,04 [0,02; 0,09]	0,9 [0,77; 1,26]	4,4 [3,2; 6,7]	0,20
p	0,015*	0,05*	0,008*	0,25	0,473

Примечание: *статистически значимое отличие ($p < 0,05$); Ме — медиана; Q₁-Q₃ — нижний и верхний квартили; PDGF BB — тромбоцитарный фактор роста BB.

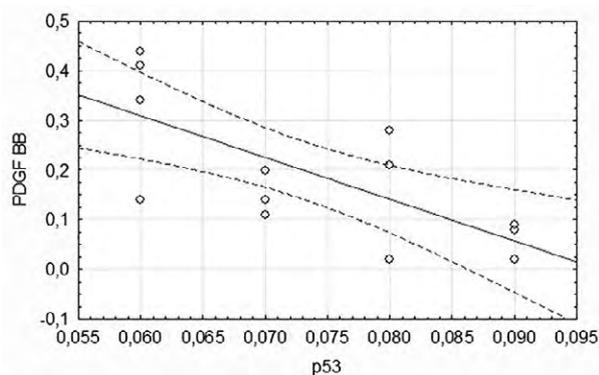


Рис. 1. Обратная корреляционная взаимосвязь между показателями белка p53 и тромбоцитарным фактором роста BB (PDGF BB) у пациентов с рестенозом зоны реконструкции

Полученные показатели пересчитывали на содержание белка, которое оценивали по методу Бредфорда с помощью Coomassie Plus (Bradford) AssayKit (Thermo Fisher Scientific, США).

Статистический анализ полученных данных производили после оценки распределения показателей по критерию Шапиро-Уилка ($p > 0,05$) с использованием пакета статистических программ Statistica 10.0. В связи с отклонением от нормального распределения данных для дальнейшего анализа применяли непараметрические тесты. Групповые различия оценивали с помощью критерия Манна-Уитни. Коэффициенты корреляции определяли с помощью теста Спирмена. Данные представлены медианой и межквартильным интервалом — Ме (Q₁-Q₃). Принятый уровень статистической значимости — $p < 0,05$.

Результаты. В ходе исследования было показано, что количество белка p53 в образцах с рестенозом было ниже значений в нормальной артериальной стенке — в 2 раза ($p=0,015$).

Количество PDGF BB в образцах с рестенозом превышало на 23,5% его количество в контрольных образцах ($p=0,05$).

В зоне рестеноза количество антиапоптотического белка Bcl2 было повышено на 59% ($p=0,008$), а проапоптотического белка Bax —

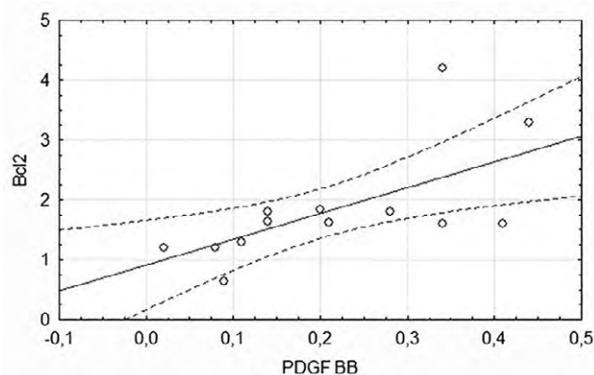


Рис. 2. Прямая корреляционная взаимосвязь между тромбоцитарным фактором роста BB (PDGF BB) и белком Bcl2 у пациентов с рестенозом зоны реконструкции

на 73% ($p=0,25$), соотношение Bcl2/Bax — на 71% ($p=0,473$) по сравнению с их количеством в контрольных образцах (табл. 1).

При проведении корреляционного анализа была выявлена взаимосвязь между p53 и PDGF BB ($r=-0,724$, $p=0,002$), а также между PDGF BB и Bcl2 ($r=0,672$, $p=0,003$) в образцах с рестенозом зоны вмешательства (рис. 1, 2). В контрольных образцах была обнаружена прямая взаимосвязь между PDGF BB и Bax ($r=0,754$, $p=0,031$).

Обсуждение. Результаты проведенного исследования показали, что в нормальной артериальной стенке существует баланс между апоптозом клеток и их пролиферацией. Корреляционная взаимосвязь между PDGF BB и проапоптотическим белком Bax доказывает, что эти два процесса взаимосвязаны и уравнивают друг друга. В норме в ответ на гибель клеток в сосудистой стенке происходит компенсаторное замещение за счёт увеличения пролиферации и миграции соседних клеток на фоне роста новых под действием митогенных сигналов, вырабатываемых апоптотическими клетками [12].

Совсем иную картину мы получили в образцах с рестенозом зоны вмешательства.

Повышенный уровень PDGF BB свидетельствует о высокой пролиферативной активности

клеток в области рестеноза. Пролиферация клеток, образование и ремоделирование внеклеточного матрикса — общеизвестные механизмы образования рестенозических повреждений.

В свою очередь белок p53 в низких количествах не смог вызвать активацию апоптоза через белок Вах, а даже наоборот, за счёт его контроля в регуляции клеточного цикла способствовал пролиферации клеток, усиливая митогенный эффект PDGF BB, что подтверждено проведённым корреляционным анализом. Остановка клеточного цикла, регуляция системы апоптоза, подавление пролиферации и миграции клеток — основные точки приложения действия белка p53, что было доказано в различных работах. Так, увеличенная экспрессия гена белка p53 приводит к уменьшению утолщения интимы на $\approx 80\%$ в послеоперационном периоде [13].

Это обусловлено тем, что повышенное количество белка p53 ведёт к уменьшению включения тимидина в пролиферирующие ГМК, стимулированного PDGF BB. После этого в данных клетках быстрее заканчивается фаза смены фенотипа на синтетический, следовательно, они меньше пролиферируют и мигрируют в формирующуюся НИ.

S.J. George продемонстрировал на животных, что сверхэкспрессия p53 способствует активации апоптоза при ингибировании миграции ГМК, что приводит к уменьшению толщины НИ после аутовенозного шунтирования [14]. G. Baugiedel и соавт. показали с помощью TUNEL-метода, что область рестеноза содержит меньшее количество апоптотических клеток, чем атеросклеротическая бляшка [15]. Любопытное исследование провёл S. Scott, применяя брахитерапию для лечения рестеноза, что приводило к активации p53 и индукции апоптоза в рестенозических ГМК. Данные клетки оказались более чувствительны к апоптозу вызванному p53, чем неповреждённые клетки сосудистой стенки [16].

Интересен тот факт, что в данных образцах мы обнаружили статистически значимое повышение количества антиапоптотического белка Bcl2. В ранее проведённых исследованиях было отмечено, что клетки в зоне гиперплазии НИ менее чувствительны к апоптозу, чем клетки меди. Однако механизм данного процесса был до конца не определён [17].

Мы можем предположить, что именно повышенный уровень белка Bcl2 защищает пролиферирующие клетки НИ от гибели, увеличивая период их жизни (прямая корреляционная взаимосвязь между Bcl2 и PDGF BB). С одной сто-

роны, такое повышение количества белка Bcl2 может быть обусловлено сменой фенотипа ГМК от сократительного к синтетическому после операционной травмы. С другой стороны, белок p53 осуществляет своё действие — запуск апоптоза через семейство белков Bcl2 (увеличивая соотношение Вах/Bcl2) и пониженный его уровень могли способствовать повышению количества Bcl2.

В образцах с рестенозом количество Вах было повышено, но статистически незначимо, поэтому он не смог уравновесить такой усиленный пролиферативный ответ, что возможно, повлияло на развитие данного осложнения.

К ограничениям нашего исследования можно отнести то обстоятельство, что пока были определены только основные маркёры митохондриального пути апоптоза (белки Bcl2 и Вах). На наш взгляд, также необходимо изучить состояние рецепторного пути апоптоза — систему «рецептор Fas — лиганд Fas» и её соотношение с маркёрами Bcl2, Вах, p53 и PDGF BB. Дальнейший поиск показателей, ведущих к развитию рестеноза зоны реконструкции, позволит найти новые стратегии в предотвращении данного осложнения.

ВЫВОДЫ

1. Сниженная активность апоптоза, выражающаяся в низких значениях белка p53 (0,07 ед./мг) на фоне повышенного соотношения Bcl2/Вах (0,28), ведёт к усилению пролиферативного ответа клеток сосудистой стенки в зоне рестеноза артериальной реконструкции.

2. При проведении корреляционного анализа выявлена взаимосвязь между p53 и тромбоцитарным фактором роста BB ($r=-0,724$, $p=0,002$), тромбоцитарным фактором роста BB и Bcl2 ($r=0,672$, $p=0,003$) в образцах с рестенозом зоны вмешательства.

Участие авторов. Р.Е.К. и И.А.С. — концепция и дизайн исследования; Э.А.К. и А.В.Щ. — анализ полученных данных, хирургическое лечение, написание текста, список литературы; А.А.Г. — хирургическое лечение; О.В.П. — анализ полученных данных.

Источник финансирования. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов по представленной статье.

ЛИТЕРАТУРА

1. Zhu Z.R., He Q., Wu W.B., Chang G., Yao C., Zhao Y., Wang M., Wang S.M. MiR-140-3p is involved in

- in-stent restenosis by targeting C-Myb and BCL-2 in peripheral artery disease. *J. Atheroscler. Thromb.* 2018; 25 (11): 1168–1181. DOI: 10.5551/jat.44024.
2. Zhu H., Zhang Y. Life and death partners in post-PCI restenosis: Apoptosis, autophagy, and the cross-talk between them. *Curr. Drug Targets.* 2018; 19 (9): 1003–1008. DOI: 10.2174/1389450117666160625072521.
3. Калинин Р.Е., Сучков И.А., Климентова Э.А., Егоров А.А. К вопросу о роли апоптоза в развитии атеросклероза и рестеноза зоны реконструкции. *Новости хир.* 2020; 28 (4): 418–427. [Kalinin R.E., Suchkov I.A., Klimentova E.A., Egorov A.A. To the question of the role of apoptosis in the development of atherosclerosis and restenosis of the reconstruction zone. *Novosti khirurgii.* 2020; 28 (4): 418–427. (In Russ.)] DOI: 10.18484/2305-0047.2020.4.418.
4. Климентова Э.А., Сучков И.А., Егоров А.А., Калинин Р.Е. Маркёры апоптоза и пролиферации клеток при воспалительно-фибропролиферативных заболеваниях сосудистой стенки (обзор). *Соврем. технол. в мед.* 2020; 12 (4): 119–128. [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). *Sovremennye tekhnologii v meditsine.* 2020; 12 (4): 119–128. (In Russ.)] DOI: 10.17691/stm2020.12.4.13.
5. Banfalvi G. Methods to detect apoptotic cell death. *Apoptosis.* 2017; 22 (2): 306–323. DOI: 10.1007/s10495-016-1333-3.
6. Gross A., Katz S.G. Non-apoptotic functions of BCL-2 family proteins. *Cell Death Differ.* 2017; 24 (8): 1348–1358. DOI: 10.1038/cdd.2017.22.
7. Kolovou V., Tshipis A., Mihos C., Katsiki N., Vartela V., Koutelou M., Manolopoulou D., Leondiadis E., Iakovou I., Mavrogieni S., Kolovou G. Tumor protein p53 (TP53) gene and left main coronary artery disease. *Angiology.* 2018; 69 (8): 730–735. DOI: 10.1177/0003319718760075.
8. Cao R.Y., Eves R., Jia L., Funk C.D., Jia Z., Mak A.S. Effects of p53-knockout in vascular smooth muscle cells on atherosclerosis in mice. *PLoS One.* 2017; 12 (3): e0175061. DOI: 10.1371/journal.pone.0175061.
9. 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. DOI: 10.1038/cdd.2017.186.
10. Igase M., Okura T., Kitami Y., Hiwada K. Apoptosis and Bcl-xs in the intimal thickening of balloon-injured carotid arteries. *Clin. Sci. (Lond.).* 1999; 96 (6): 605–612. PMID: 10334966.
11. Chen S., Dong S., Li Z., Guo X., Zhang N., Yu B., Sun Y. Atorvastatin calcium inhibits PDGF- β -induced proliferation and migration of VSMCs through the G0/G1 cell cycle arrest and suppression of activated PDGFR β -PI3K-Akt signaling cascade. *Cell Physiol. Biochem.* 2017; 44 (1): 215–228. DOI: 10.1159/000484648.
12. Aravani D., Foote K., Figg N., Finigan A., Uryga A., Clarke M., Bennett M. Cytokine regulation of apoptosis-induced apoptosis and apoptosis-induced cell proliferation in vascular smooth muscle cells. *Apoptosis.* 2020; 25 (9–10): 648–662. DOI: 10.1007/s10495-020-01622-4.
13. Yonemitsu Y., Kaneda Y., Tanaka S., Nakashima Y., Komori K., Sugimachi K., Sueishi K. Transfer of wild-type p53 gene effectively inhibits vascular smooth muscle cell proliferation *in vitro* and *in vivo*. *Circ. Res.* 1998; 82 (2): 147–156. DOI: 10.1161/01.res.82.2.147.
14. George S.J., Angelini G.D., Capogrossi M.C., Baker A.H. Wild-type p53 gene transfer inhibits neointima formation in human saphenous vein by modulation of smooth muscle cell migration and induction of apoptosis. *Gene Ther.* 2001; 8 (9): 668–676. DOI: 10.1038/sj.gt.3301431.
15. Bauriedel G., Hutter R., Schluckebier S., Welsch U., Prescott M.F., Kandolf R., Lüderitz B. Decreased apoptosis as a pathogenic factor in intimal hyperplasia of human arteriosclerosis lesions. *Z. Kardiol.* 1997; 86 (8): 572–580. DOI: 10.1007/s003920050096.
16. Scott S., O'Sullivan M., Hafizi S., Shapiro M., Bennett M.R. Human vascular smooth muscle cells from restenosis or in-stent stenosis sites demonstrate enhanced responses to p53: implications for brachytherapy and drug treatment for restenosis. *Circ. Res.* 2002; 90 (4): 398–404. DOI: 10.1161/hh0402.10590.
17. Walsh K., Smith R.C., Kim H.S. Vascular cell apoptosis in remodeling, restenosis, and plaque rupture. *Circ. Res.* 2000; 87 (3): 184–188. DOI: 10.1161/01.res.87.3.184.