


# Маркеры развития рестеноза зоны реконструкции после эндоваскулярных вмешательств на артериях нижних конечностей

Р.Е. Калинин, И.А. Сучков , Э.А. Климентова, А.В. Шулькин

Кафедра сердечно-сосудистой, рентгенэндоваскулярной, оперативной хирургии и топографической анатомии ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» МЗ РФ  
Российская Федерация, 390026, Рязань, ул. Высоковольтная, д. 9

 **Контактная информация:** Сучков Игорь Александрович, доктор медицинских наук, профессор кафедры сердечно-сосудистой, рентгенэндоваскулярной, оперативной хирургии и топографической анатомии ФГБОУ ВО «РязГМУ им. акад. И.П. Павлова» МЗ РФ. Email: suchkov\_med@mail.ru

## ВВЕДЕНИЕ

Рестеноз зоны реконструкции является одним из основных послеоперационных осложнений оперативных вмешательств на артериях нижних конечностей, который развивается в 18–40% случаев и ведет к развитию тромбоза зоны реконструкции и увеличению риска потери конечности до 20–25%. Поиск новых маркеров прогнозирования развития данного осложнения у пациентов с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей (ОААНК) является актуальной проблемой на сегодняшний день.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка динамики маркеров апоптоза и пролиферации клеток в различные сроки после эндоваскулярного вмешательства и их роль в развитии рестеноза зоны реконструкции у пациентов с ОААНК.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 30 пациентов с ОААНК с III стадией заболевания. После дообследования пациентам было выполнено эндоваскулярное вмешательство на артериях бедренно-подколенного сегмента. В случае развития рестеноза зоны вмешательства пациенты были повторно оперированы. У пациентов до операции в первый час, а затем на 1-е, 7-е, 14-е, 21-е, 30-е сутки после операции была взята венозная кровь для определения маркеров *Bax*, *sFas*, *PDGF BB* с помощью иммуноферментного анализа.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

После эндоваскулярного вмешательства происходил запуск первой волны апоптоза с повышением в крови количества белка *Bax* ( $p=0,00003$ ) с 1 по 24 часа с его последующим снижением к 7-м суткам ( $p=0,0008$ ) по сравнению с количеством на 1-е сутки. Уровень *PDGF BB* возрастал с 1-х суток после операции ( $p=0,03$ ) с максимальными значениями на 7-е сутки ( $p=0,0002$ ) по сравнению с уровнем на 1-е сутки. Затем происходил запуск второй волны с пиковым снижением уровня ингибитора апоптоза *sFas* на 21-е сутки ( $p=0,002$ ). У 10 пациентов через 9–12 месяцев развился рестеноз зоны вмешательства с возвратом ишемии конечности. В первый час ( $p=0,004$ ) у пациентов с рестенозом был статистически значимо повышен уровень белка *Bax*, при повышении *PDGF BB* на 7-е сутки ( $p=0,011$ ), а *sFas* на 21-е сутки ( $p=0,0001$ ), *PDGF BB* к концу 1-го месяца ( $p=0,004$ ) по сравнению со значениями у пациентов без данного осложнения.

## ВЫВОДЫ

1. Эндоваскулярное вмешательство вызывает две волны апоптоза в послеоперационном периоде. Первая волна связана с повышением содержания белка *Bax* в первые часы с последующим увеличением *PDGF BB* на 7-е сутки. Вторая волна апоптоза обусловлена снижением уровня ингибитора апоптоза – *sFas* на 21-е сутки на фоне сдвига *PDGF BB* к исходному уровню.
2. Повышение содержания белка *Bax* в первые часы после операции на фоне роста *PDGF BB* на 7-е сутки при увеличенном количестве *sFas* на 21-е сутки и *PDGF BB* к концу 1-го месяца ведет к развитию рестеноза зоны вмешательства.

## Ключевые слова:

рестеноз, *Bax*, *PDGF BB*, *sFas*, атеросклероз артерий нижних конечностей

## Ссылка для цитирования

Калинин Р.Е., Сучков И.А., Климентова Э.А., Шулькин А.В. Маркеры развития рестеноза зоны реконструкции после эндоваскулярных вмешательств на артериях нижних конечностей. *Журнал им. Н.В. Склифосовского неотложная медицинская помощь*. 2021;10(4):669–675. <https://doi.org/10.23934/2223-9022-2021-10-4-669-675>

## Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

## Благодарность, финансирование

Исследование не имеет спонсорской поддержки

ГМК — гладкомышечные клетки  
ГН — гиперплазия неоинтимы  
ОААНК — облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей  
ЧТБА — чрескожная транслюминальная баллонная ангиопластика

ЭК — эндотелиальные клетки  
*PDGF BB* — тромбоцитарный фактор роста *BB*  
*sFas* — растворимый *Fas* рецептор  
*Bax* — *Bcl-2 Associated X Protein*

## ВВЕДЕНИЕ

Облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей (ОААНК) является широко распространенным заболеванием, которое наблюдается у 20% населения мира. Эндovasкулярное вмешательство является одним из ведущих методов лечения пациентов с ОААНК, позволяющее получить удовлетворительные результаты. Однако развитие рестеноза зоны реконструкции, в основе которого лежит формирование гиперплазии неоинтимы (ГН), нивелирует успех операции и встречается в 30–40% наблюдений [1].

Развития рестеноза в послеоперационном периоде ведет к возникновению тромбоза зоны реконструкции и возврату ишемии конечности, что увеличивает риск ее потери до 20–25% при росте летальности до 30%. Несмотря на проведенные многочисленные исследования, посвященные изучению патогенеза данного осложнения, оно остается до конца не изученным [2–4].

Так, в сосудистой стенке существует тонкий баланс между пролиферацией клеток и их апоптозом. Сдвиги в этом соотношении способствуют распространению гладкомышечных клеток (ГМК) из меди и интимы и синтезу внеклеточного матрикса, что является основным признаком ГН [2, 3]. Значительно меньше работ посвящено изучению роли гибели клеток в развитии рестеноза. В экспериментальных исследованиях было показано, что система апоптоза запускается в первые часы после операционной травмы, коррелируя с образованием ГН в послеоперационном периоде [4].

Каскад апоптоза запускается двумя основными способами: через внутренний — семейство белков *Bcl2* и через внешний рецепторный путь — *Fas-Fas ligand (FasL)* [5].

*Fas* является членом семейства рецепторов фактора некроза опухолей, который экспрессируется во всех типах клеток, в то время как *FasL* обнаруживается преимущественно в активированных Т-лимфоцитах, естественных киллерах, макрофагах, эндотелиальных клетках (ЭК) и ГМК. При связывании *FasL* с *Fas* происходит активация растворимого *Fas (sFas)*, который является естественным ингибитором апоптоза, путем блокирования данного взаимодействия [6]. На животных моделях было показано, что векторная доставка *FasL* в зону поврежденной артерии приводит к уменьшению образования ГН [7].

Белки семейства *Bcl2* являются ключевыми регуляторами запрограммированной клеточной гибели, критически важной для развития организма и поддержания тканевого гомеостаза [8]. Одним из основных представителей данного семейства является проапоптотический белок *Bax*. Повышенное количество данного белка наблюдается в атеросклеротических бляшках (преимущественно в ГМК и макрофагах). Антиапоптотический белок *Bcl-XL* обильно экспрессируется в нормальных ГМК меди, но подавляется после оперативного вмешательства [9].

Тромбоцитарный фактор роста *BB (PDGF BB)* является одним из главных митогенов и хемоаттрактантов клеток сосудистой стенки, который секретируется тромбоцитами, ЭК, ГМК, макрофагами. Через несколько секунд после оперативной травмы тромбоциты начинают адгезироваться к поврежденной артериальной стенке и дегранулироваться с высвобождением *PDGF BB*, который, связываясь со своими рецепторами, запускает пролиферацию и миграцию ГМК с последую-

щим формированием ГН [10]. *C. Rutherford et al.* показали, что применение антител против *PDGF BB* и фактора роста фибробластов приводит к уменьшению толщины ГН на 83,8% после оперативных вмешательств [11].

Тем не менее взаимосвязь между клеточной смертью, пролиферацией и их ролью в образовании ГН после артериальных реконструкций остается до конца неясной. Определение биомаркеров, которые могут потенциально помочь в идентификации пациентов с высоким риском развития рестеноза, позволит найти новые пути в предотвращении данного осложнения.

Исходя из вышеизложенного, была сформулирована **цель исследования**: оценка уровня динамики и взаимосвязи маркеров апоптоза и пролиферации клеток в различные сроки после эндovasкулярного вмешательства и их роль в развитии рестеноза зоны реконструкции.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В проспективное открытое нерандомизированное исследование были включены 30 пациентов с ОААНК, которые проходили лечение в отделении сосудистой хирургии в 2019–2021 гг. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом Рязанского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова. Все пациенты были с III стадией заболевания по классификации А.В. Покровского-Фонтейна. Средний возраст составил  $64,3 \pm 3,4$  года, количество мужчин — 24 (80%) (табл. 1). Для сравнения исследуемых показателей в качестве контрольной группы дополнительно были включены 20 здоровых добровольцев: средний возраст составил  $62,3 \pm 2,5$  года, количество мужчин — 15 (75%), ( $p=0,243$ ). Критерии исключения: декомпенсированная соматическая патология, сахарный диабет, активный рак или период ремиссии менее 5 лет.

Всем пациентам было выполнено эндovasкулярное вмешательство на артериях бедренно-подколенного сегмента (табл. 2). Чрескожную транслюминальную баллонную ангиопластику (ЧТБА) опытные специалисты выполняли стандартными методами. Решение об имплантации стента было оставлено на усмотрение оперирующего хирурга. Антиагрегантную и антикоагулянтную терапию в периоперационном периоде назначали в соответствии с «Национальными рекомендациями по диагностике и лечению заболеванию артерий нижних конечностей» [12].

После получения информированного согласия были взяты образцы крови в исходных условиях (непосредственно перед вмешательством), в первые часы, на 1-е, 7-е, 14-е, 21-е, 30-е сутки после операции. Определение

Таблица 1

## Клиническая характеристика пациентов

Table 1

## Clinical characteristics of patients

	Пациенты с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей, n (%)
Гипертоническая болезнь	14 (46,6%)
Ишемическая болезнь сердца	12 (40%)
Семейный анамнез	14 (46,6%)
Курение	16 (53,3%)
Индекс массы тела	$27,3 \pm 3,3$

количества белков *Bax*, *PDGF BB*, *sFas* в сыворотке крови производили с помощью иммуноферментного анализа коммерческими наборами. Количество протеина *Bcl2 Associated X Protein (BAX)* — с помощью набора “Cloud-Clone Corporation” (Китай), *sFas* — с помощью набора “Invitrogen Thermo Fisher” (США), количество *PDGF BB* — с помощью набора “Invitrogen Thermo Fisher” (США) в соответствии с инструкциями производителя.

Последующие наблюдения пациентов были проведены через 3, 6 и 12 месяцев или раньше в случае развития рестеноза зоны вмешательства ( $n=10$ ) при наличии объективных признаков ишемии.

Статистический анализ данных проводили с использованием пакета статистических программ *STATISTICA 10.0*. В связи с нормальным распределением данных (использовали критерий Шапиро–Уилка,  $p>0,05$ ) для дальнейшего анализа применяли параметрические тесты. Для оценки статистической значимости различий внутри групп применяли дисперсионный анализ повторных измерений (*ANOVA*), попарные сравнения выполняли с помощью критерия Ньюмена–Кейсла. Межгрупповые различия (между пациентами контрольной и опытной групп, пациентами с рестенозом и без данного осложнения) оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента.

Для оценки взаимосвязи изучаемых показателей вычисляли коэффициент корреляции Пирсона. Принятый уровень статистической значимости —  $p<0,05$ . Числовые данные представлены как среднее арифметическое и стандартное отклонение.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе исследования было показано, что из исходных показателей было повышено только количество белка *Bax* ( $p=0,041$ ), а значения *PDGF BB* ( $p=0,613$ ), *sFas* ( $p=0,479$ ) были сопоставимы с их значениями у здоровых добровольцев (табл. 3).

После эндоваскулярного вмешательства показатели апоптоза начали повышаться сразу после операции. Так, самое высокое значение проапоптотического белка *Bax* ( $p=0,00003$ ) было получено в первый час после операции. До конца первых суток количество белка *Bax* сохранялось повышенным ( $p=0,196$ ) в сравнении с первым часом с последующим снижением к 7-м суткам по сравнению с 1-ми сутками ( $p=0,0008$ ). Уровень ингибитора рецепторного пути апоптоза — *sFas* значительно не отличался в указанные промежутки времени: к первому часу ( $p=0,128$ ), к 1-м ( $p=0,640$ ) и 7-м ( $p=0,719$ ) суткам.

Начиная с 14-х суток, наблюдался запуск второй волны апоптоза: произошло снижение *sFas* ( $p=0,233$ ) на фоне увеличения количество белка *Bax* ( $p=0,198$ ) по сравнению с количеством на 7-е сутки. На 21-е сутки значительно снизился *sFas* ( $p=0,002$ ) при дальнейшем повышении уровня белка *Bax* ( $p=0,128$ ) по сравнению с уровнем на 14-е сутки. К концу первого месяца количество белка *Bax* снизилось ( $p=0,02$ ) при повышении значений *sFas* ( $p=0,0001$ ) (рис. 1, 2) по сравнению с их количеством на 21-е сутки.

В первые часы после операции уровень белка *PDGF BB* ( $p=0,609$ ) не изменился, с последующим повышением к концу 1-х суток ( $p=0,03$ ) в сравнении с первым часом и максимальным уровнем на 7-е сутки ( $p=0,0002$ ) по сравнению с 1-ми сутками. До 14-х суток значение данного белка не изменилось ( $p=0,541$ ) со статистически значимым снижением его значения к 21-м суткам ( $p=0,002$ ). К концу 1-го месяца уровень *PDGF BB*

Таблица 2

### Ангиографическая характеристика пациентов

Table 2

#### Angiographic characteristics of patients

Тип поражения А/В/С/Д (по классификации TASC II)	10/10/10/—
Ангиопластика бедренно-подколенного сегмента	16 (53,4%)
Ангиопластика с последующим стентированием бедренно-подколенного сегмента	14 (46,6%)

Таблица 3

### Исходные показатели *Bax*, *PDGF BB*, *sFas* у пациентов с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей в сравнении со здоровыми добровольцами

Table 3

#### Baseline *Bax*, *PDGF BB*, *sFas* in patients with lower limbs obliterating atherosclerosis in comparison with healthy volunteers

Показатели, М±σ	<i>Bax</i> , нг/мл	<i>sFas</i> , нг/мл	<i>PDGF BB</i> , нг/мл
Здоровые добровольцы	14,9±1,5	1,1±0,34	8,5±6,1
Пациенты с ОААНК	20,4±4,9	0,96±0,4	10,2±4,8
<i>p</i>	0,041*	0,479	0,613

Примечания: \* — статистически значимое отличие. ОААНК — облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей

Note: \* — statistically significant difference. ОААНК — lower limbs obliterating atherosclerosis

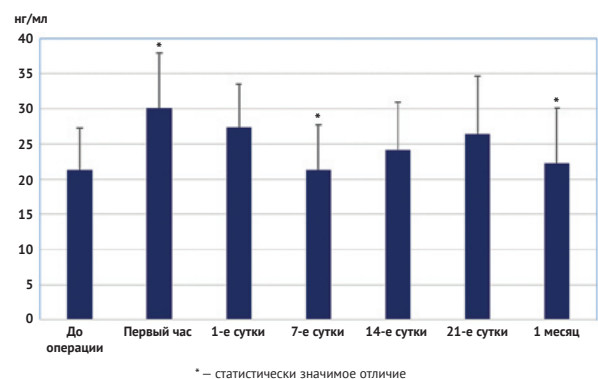


Рис. 1. Динамика изменения проапоптотического белка *Bax* в различные сроки послеоперационного периода  
Fig. 1. The dynamics of changes in the proapoptotic protein *Bax*, different periods of the postoperative period

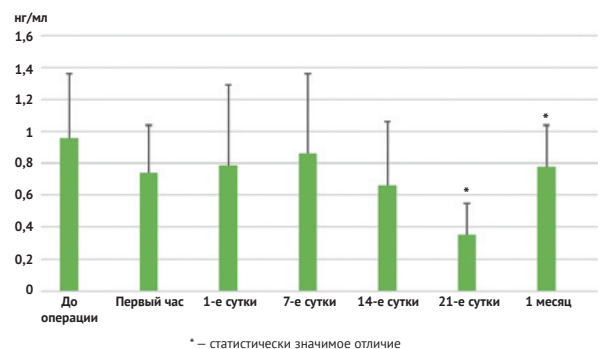


Рис. 2. Динамика изменения ингибитора рецепторного пути апоптоза *sFas* в различные сроки послеоперационного периода  
Fig. 2. The dynamics of changes in *sFas* inhibitor of the receptor pathway of apoptosis in different terms of the postoperative period

статистически значимо не изменился по сравнению с исходными значениями ( $p=0,199$ ) (рис. 3).

При проведении статистической обработки результатов исследования были получены корреляционные связи между маркерами *Bax* и *PDGF BB* на 1-е сутки ( $r=+0,639$ ,  $p=0,0002$ ), *PDGF BB* и *Bax* на 7-е сутки ( $r=-0,501$ ,  $p=0,006$ ), *PDGF BB* и *sFas* ( $r=-0,423$ ,  $p=0,022$ ) на 14-е сутки, *PDGF BB* и *sFas* ( $r=-0,488$ ,  $p=0,007$ ) на 21-е сутки после операции.

У 10 пациентов (33%) через 9–12 месяцев развился рестеноз зоны вмешательства с возвратом ишемии конечности, подтвержденный данными аортоартериографии. По исходному типу поражения ( $p=0,308$ ) по классификации *TASC II* и типу проводимого эндоваскулярного вмешательства ( $p=0,871$ ) данные пациенты были сопоставимы с пациентами без рестеноза. Они были повторно оперированы (5 пациентам было выполнено бедренно-подколенное шунтирование, 5 пациентам — повторное эндоваскулярное вмешательство) с компенсацией кровообращения в нижних конечностях.

У пациентов с рестенозом зоны реконструкции исходным значениям показателей *PDGF BB* ( $p=0,944$ ), *sFas* ( $p=0,227$ ), *Bax* ( $p=0,413$ ) не отличались статистически значимо от их значений у пациентов без рестеноза. Однако в первый час ( $p=0,004$ ) у пациентов с рестенозом был статистически значимо повышен уровень маркера *Bax*, при повышении значений *PDGF BB* на 7-е сутки ( $p=0,011$ ), а *sFas* на 21-е сутки ( $p=0,0001$ ), *PDGF BB* на 1 месяц ( $p=0,004$ ) по сравнению со значениями у пациентов без данного осложнения (рис. 4).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Апоптоз представляет собой активный запрограммированный процесс, который приводит к фагоцитозу гнущихся клеток без развития воспалительной реакции, направленный на поддержку клеточной структуры ткани [13].

Наше исследование показало, что эндоваскулярное вмешательство ведет к запуску системы апоптоза клеток артериальной стенки путем активации семейства белков *Bcl2* и рецепторного пути апоптоза (*sFas*), которое протекает в виде двух волн.

Первая волна — это быстрый всплеск апоптоза с максимальным повышением значений белка *Bax* к первому часу. Наши данные согласуются с результатами экспериментальных исследований на модели животных, на которых ЧТБА приводила к индукции апоптоза ГМК меди и с максимальной экспрессией маркеров через 30 минут [2]. Последствия раннего апоптоза провоцируют сильный пролиферативный ответ на преодоление клеточного дефицита. Это обусловлено тем, что гнущиеся клетки высвобождают цитокины, которые усиливают пролиферацию и миграцию ГМК из меди в интиму в ответ на травму [14].

В ходе нашего исследования вслед за пиком апоптоза последовал пролиферативный ответ с максимальными значениями *PDGF BB* к концу первой недели и сохранением повышенных значений до 14 суток. Известно, что накопление ГМК в ГН поврежденных артерий крысы достигает максимального уровня через 2 недели при продолжающейся клеточной пролиферации до 12 недель. При этом общее количество клеток в стенке артерии к 12-й неделе не увеличивается. Механизм данного явления до конца не был определен [15]. Мы предполагаем, что активация второй

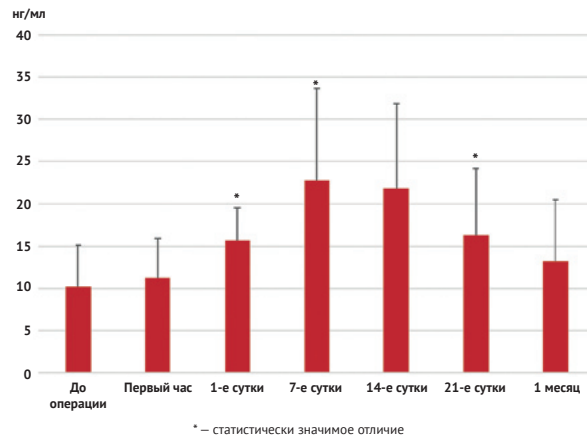


Рис. 3. Динамика тромбоцитарного фактора роста *BB* в различные сроки в послеоперационном периоде  
Fig. 3. The dynamics of platelet growth factor *BB* at different times in the postoperative period

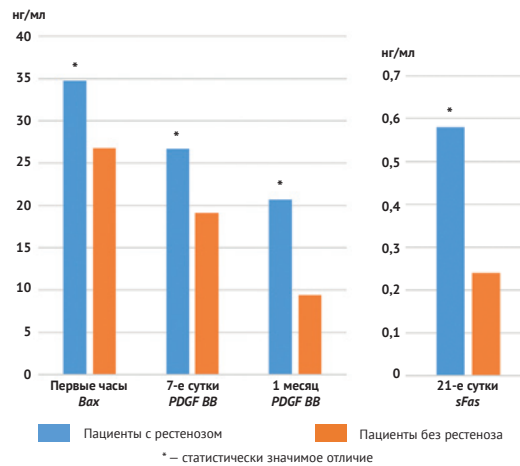


Рис. 4. Сравнение показателей *Bax*, *PDGF BB*, *sFas* у пациентов с рестенозом и без рестеноза зоны реконструкции  
Fig. 4. The comparison of *Bax*, *PDGF BB*, *sFas* indices in patients with and without restenosis of the reconstruction area

волны апоптоза и ограничивает данный процесс. Она возникает намного позже после травмы и с меньшей частотой. В нашем исследовании с 14-х суток наблюдалось снижение уровня ингибитора рецепторного пути апоптоза *sFas*, максимально на 21-е сутки, что привело к значимому уменьшению количества *PDGF BB*. Это было подтверждено проведенным корреляционным анализом. К концу 1-го месяца исследуемые показатели имели тенденцию к возвращению к исходному уровню. Окончание второй волны может быть обусловлено эндотелизацией зоны вмешательства. Так, *M.L. Bochaton-Piallat et al.* доказали, что на 45-е сутки происходит реэндотелизация зоны вмешательства и дальнейшая гибель клеток прекращается [16].

Активация преимущественно рецепторного пути во вторую волну связана с тем, что ГМК формирующейся ГН чувствительны к рецепторному пути апоптоза. В отличие от ГМК ЭК обычно устойчивы к *Fas*-опосредованному апоптозу за счет синтеза белка *FLIP* (белок, который ингибирует каспазу 8). В этом и заключается уникальность этой системы, которая, индуцируя апо-



птоз в ГМК формирующейся НИ, не препятствует процессу реэпителизации зоны реконструкции. Кроме того, *Fas-FasL* подавляет воспалительную реакцию, путем гибели *T*-клеток и макрофагов, стимуляция продукции противовоспалительного интерлейкина-10, а также препятствует экстравазации лейкоцитов в сосудистую стенку. Учитывая все возможности данной системы, активация ее во вторую волну способствует ограничению роста ГН [17–19].

В настоящем исследовании удалось показать роль маркеров апоптоза в развитии рестеноза зоны реконструкции после эндоваскулярных вмешательств.

Пациенты, у которых развился рестеноз, имели статистически значимое повышение количество белка *Vax* в первые часы после операции, что привело к выраженному увеличению *PDGF BB* на 7-е сутки. В свою очередь, повышенное количество *sFas*, с одной стороны, не смогло компенсировать усиленный пролиферативный ответ на 7-е сутки, а с другой стороны, усилить воспалительную реакцию за счет блокирования действия *FasL*. В последующем это привело к увеличению количества *PDGF BB* к концу 1-го месяца с последующим развитием рестеноза через 9–12 месяцев. Более выраженная гибель клеток в первую волну апоптоза ведет к усиленному пролиферативному ответу. А без достаточной апоптотической гибели клеток во вто-

*PDGF BB* на 1 месяц может приводить к развитию рестеноза зоны вмешательства.

#### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Gökgöl C, Diehm N, Räber L, Büchler P. Prediction of restenosis based on hemodynamical markers in revascularized femoro-popliteal arteries during leg flexion. *Biomech Model Mechanobiol*. 2019;18(6):1885–1893. PMID: 31197509 <https://doi.org/10.1007/s10237-019-01183-9>
- Fang J, Pan Z, Guo X. Research advance of ANRIL on atherosclerosis by regulating cell proliferation and apoptosis. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2020;25;49(1):113–117. PMID: 32621415
- Rymer JA, Jones WS. Femoropopliteal In-Stent Restenosis. *Circ Cardiovasc Interv*. 2018;11(12):e007559. PMID: 30562092 <https://doi.org/10.1161/CIRCINTERVENTIONS.118.007559>
- Zhu ZR, He Q, Wu WB, Chang G, Yao C, Zhao Y, et al. 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. PMID: 29760303 <https://doi.org/10.5551/jat.44024>
- 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 хирургии*. 2020;28(4):418–427. <https://doi.org/10.18484/2305-0047.2020.4.418>
- Калинин Р.Е., Сучков И.А., Климентова Э.А., Егоров А.А. Маркеры апоптоза и пролиферации клеток при воспалительно-фибропролиферативных заболеваниях сосудистой стенки (обзор). *Современные технологии в медицине*. 2020;12(4):119–128. <https://doi.org/10.17691/stm2020.12.4.13>
- Jiang C, Yang YF, Cheng SH. Fas ligand gene therapy for vascular intimal hyperplasia. *Curr Gene Ther*. 2004;4(1):33–39. PMID: 15032612 <https://doi.org/10.2174/1566523044578022>
- Su G, Sun G, Liu H, Shu L, Liang Z. Downregulation of miR-34a promotes endothelial cell growth and suppresses apoptosis in atherosclerosis by regulating Bcl-2. *Heart Vessels*. 2018;33(10):1185–1194. PMID: 29704100 <https://doi.org/10.1007/s00380-018-1169-7>
- Walsh K, Smith RC, Kim HS. Vascular cell apoptosis in remodeling, restenosis, and plaque rupture. *Circ Res*. 2000;87(3):184–188. PMID: 10926867 <https://doi.org/10.1161/01.res.87.3.184>
- Lu QB, Wan MY, Wang PY, Zhang CX, Xu DY, Liao X, et al. Chicoric acid prevents PDGF-BB-induced VSMC dedifferentiation, proliferation and

#### REFERENCES

- Gökgöl C, Diehm N, Räber L, Büchler P. Prediction of restenosis based on hemodynamical markers in revascularized femoro-popliteal arteries during leg flexion. *Biomech Model Mechanobiol*. 2019;18(6):1885–1893. PMID: 31197509 <https://doi.org/10.1007/s10237-019-01183-9>
- Fang J, Pan Z, Guo X. Research advance of ANRIL on atherosclerosis by regulating cell proliferation and apoptosis. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2020;25;49(1):113–117. PMID: 32621415

рую волну продолжающаяся пролиферация привела к развитию ГН.

К ограничению нашей работы относится то, что пока исследована динамика только по одному из предшественников каждого пути апоптоза, но мы продолжаем изучать большее количество показателей, которые выполняют противоположные функции. Еще одним ограничением является малый размер выборки и относительно небольшое количество пациентов с рестенозом. Поэтому наши выводы следует рассматривать как генерирующие гипотезы, которые должны быть подтверждены более крупными исследованиями.

#### ВЫВОДЫ

1. Эндоваскулярное вмешательство вызывает две волны апоптоза в послеоперационном периоде. Первая волна связана с повышением уровня в крови белка *Vax* в первые часы с последующим увеличением *PDGF BB* на 7-е сутки. Вторая волна апоптоза обусловлена снижением уровня ингибитора апоптоза — *sFas* на 21-е сутки на фоне сдвига *PDGF BB* к исходному уровню.

2. Повышение уровня в крови белка *Vax* в первые часы после операции на фоне роста *PDGF BB* на 7-е сутки при повышенном значении *sFas* на 21-е сутки,

migration by suppressing ROS/NFκB/mTOR/P70S6K signaling cascade. *Redox Biol*. 2018;14:656–668. PMID: 29175753 <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.11.012>

- Rutherford C, Martin W, Salame M, Carrier M, Anggård E, Ferns G. Substantial inhibition of neointimal response to balloon injury in the rat carotid artery using a combination of antibodies to platelet-derived growth factor-BB and basic fibroblast growth factor. *Atherosclerosis*. 1997;130(1-2):45–51. PMID: 9126647 [https://doi.org/10.1016/s0021-9150\(96\)06042-x](https://doi.org/10.1016/s0021-9150(96)06042-x)
- Бокерия Л.А., Покровский А.В. (председатели экспертной группы). *Национальные рекомендации по диагностике и лечению заболеваний артерий нижних конечностей*. Москва; 2019. URL: [http://www.angiolsurgery.org/library/recommendations/2019/recommendations\\_LLA\\_2019.pdf](http://www.angiolsurgery.org/library/recommendations/2019/recommendations_LLA_2019.pdf) [Дата обращения 23 ноября 2021 г.]
- Калинин Р.Е., Сучков И.А., Климентова Э.А., Егоров А.А., Поваров В.О. Апоптоз в сосудистой патологии: настоящее и будущее. *Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова*. 2020;28(1):79–87. <https://doi.org/10.23888/PAVLOVJ202028179-87>
- Walsh K, Smith RC, Kim HS. Vascular cell apoptosis in remodeling, restenosis, and plaque rupture. *Circ Res*. 2000;87(3):184–8. PMID: 10926867 <https://doi.org/10.1161/01.res.87.3.184>
- Clowes AW, Reidy MA, Clowes MM. Kinetics of cellular proliferation after arterial injury. I. Smooth muscle growth in the absence of endothelium. *Lab Invest*. 1983;49(3):327–33. PMID: 6887785
- Bochaton-Piallat M, Gabbiani F, Redard M, Desmouliere A, Gabbiani G. Apoptosis participates in cellularly regulation during rat aortic intimal thickening. *Am J Pathol*. 1995;146(5):1059–1064. PMID: 7747800
- Katsaros KM, Wiesbauer F, Speidl WS, Kastl SP, Huber K, Zorn G, et al. High soluble Fas and soluble Fas Ligand serum levels before stent implantation are protective against restenosis. *Thromb Haemost*. 2011;105(5):883–891. PMID: 21359408 <https://doi.org/10.1160/TH10-09-0566>
- Стрельникова Е.А., Трушкина П.Ю., Сувор И.Ю., Короткова Н.В., Мжванадзе Н.Д., Деев Р.В. Эндотелий in vivo и in vitro. Часть 1: Гистогенез, структура, цитофизиология и ключевые маркеры. *Наука молодых (Eruditio Juvenium)*. 2019;7(3):450–465. <https://doi.org/10.23888/HMJ201973450-465>

- Rymer JA, Jones WS. Femoropopliteal In-Stent Restenosis. *Circ Cardiovasc Interv*. 2018;11(12):e007559. PMID: 30562092 <https://doi.org/10.1161/CIRCINTERVENTIONS.118.007559>
- Zhu ZR, He Q, Wu WB, Chang G, Yao C, Zhao Y, et al. 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. PMID: 29760303 <https://doi.org/10.5551/jat.44024>

5. Kalinin RE, Suchkov IA, Klimentova EA, Egorov AA. 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.) <https://doi.org/10.18484/2305-0047.2020.4.418>
6. Klimentova EA, Suchkov IA, Egorov AA, Kalinin RE. Apoptosis and Cell Proliferation Markers in Inflammatory-Fibroproliferative Diseases of the Vessel Wall (Review). *Sovremennye tehnologii v medicine*. 2020;12(4):119–128. <https://doi.org/10.17691/stm2020.12.4.13>
7. Jiang C, Yang YF, Cheng SH. Fas ligand gene therapy for vascular intimal hyperplasia. *Curr Gene Ther*. 2004;4(1):33–39. PMID: 15032612 <https://doi.org/10.2174/1566523044578022/>
8. Su G, Sun G, Liu H, Shu L, Liang Z. Downregulation of miR-34a promotes endothelial cell growth and suppresses apoptosis in atherosclerosis by regulating Bcl-2. *Heart Vessels*. 2018;33(10):1185–1194. PMID: 29704100. <https://doi.org/10.1007/s00380-018-1169-7>
9. Walsh K, Smith RC, Kim HS. Vascular cell apoptosis in remodeling, restenosis, and plaque rupture. *Circ Res*. 2000;87(3):184–188. PMID: 10926867. <https://doi.org/10.1161/01.res.87.3.184>
10. Lu QB, Wan MY, Wang PY, Zhang CX, Xu DY, Liao X, et al. Chicoric acid prevents PDGF-BB-induced VSMC dedifferentiation, proliferation and migration by suppressing ROS/NFκB/mTOR/P70S6K signaling cascade. *Redox Biol*. 2018;14:656–668. PMID: 29175753 <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.11.012>
11. Rutherford C, Martin W, Salame M, Carrier M, Anggård E, Ferns G. Substantial inhibition of neointimal response to balloon injury in the rat carotid artery using a combination of antibodies to platelet-derived growth factor-BB and basic fibroblast growth factor. *Atherosclerosis*. 1997;130(1-2):45–51. PMID: 9126647 [https://doi.org/10.1016/s0021-9150\(96\)06042-x](https://doi.org/10.1016/s0021-9150(96)06042-x)
12. Bokeriya LA, Pokrovskiy AV. *Natsional'nye rekomendatsii po diagnostike i lecheniyu zabolevaniyu arteriy nizhnikh konechnostey*. Moscow; 2019. (in Russ.) Available at: [http://www.angiolsurgery.org/library/recommendations/2019/recommendations\\_LLA\\_2019.pdf](http://www.angiolsurgery.org/library/recommendations/2019/recommendations_LLA_2019.pdf) [Accessed Nov 23, 2021]
13. Kalinin RE, Suchkov IA, Klimentova EA, Egorov AA, Povarov VO. Apoptosis in vascular pathology: present and future. *I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald*. 2020;28(1):79–87. (in Russ.) <https://doi.org/10.23888/PAVLOVJ202028179-87>
14. Walsh K, Smith RC, Kim HS. Vascular cell apoptosis in remodeling, restenosis, and plaque rupture. *Circ Res*. 2000;87(3):184–188. PMID: 10926867 <https://doi.org/10.1161/01.res.87.3.184>
15. Clowes AW, Reidy MA, Clowes MM. Kinetics of cellular proliferation after arterial injury. I. Smooth muscle growth in the absence of endothelium. *Lab Invest*. 1983;49(3):327–333. PMID: 6887785
16. Bochaton-Piallat M, Gabbiani F, Redard M, Desmouliere A, Gabbiani G. Apoptosis participates in cellularity regulation during rat aortic intimal thickening. *Am J Pathol*. 1995; 146(5):1059–1064. PMID: 7747800
17. Katsaros KM, Wiesbauer F, Speidl WS, Kastl SP, Huber K, Zorn G, et al. High soluble Fas and soluble Fas Ligand serum levels before stent implantation are protective against restenosis. *Thromb Haemost*. 2011;105(5):883–891. PMID: 21359408 <https://doi.org/10.1160/TH10-09-0566>
18. Strelnikova EA, Trushkina PYu, Surov IYu, Korotkova NV, Mzhvanadze ND, Deev RV. Endothelium in Vivo And in Vitro. Part 1: Histogenesis, Structure, Cytophysiology and Key Markers. *Eruditio Juvenium*. 2019;7(3):450–465. (in Russ.) <https://doi.org/10.23888/HMJ201973450-465>
19. Guégan JP, Legembre P. Nonapoptotic functions of Fas/CD95 in the immune response. *FEBS J*. 2018;285(5):809–827. PMID: 29032605 <https://doi.org/10.1111/febs.1429>

## ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

### Калинин Роман Евгеньевич

доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой сердечно-сосудистой, рентгенэндоваскулярной, оперативной хирургии и топографической анатомии ФГБОУ ВО «РязГМУ им. акад. И.П. Павлова» МЗ РФ;

<https://orcid.org/0000-0002-0817-9573>, [kalinin-re@yandex.ru](mailto:kalinin-re@yandex.ru);

40%: концепция исследования, редактирование

### Сучков Игорь Александрович

доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры сердечно-сосудистой, рентгенэндоваскулярной, оперативной хирургии и топографической анатомии ФГБОУ ВО «РязГМУ им. акад. И.П. Павлова» МЗ РФ;

<https://orcid.org/0000-0002-1292-5452>, [suchkov\\_med@mail.ru](mailto:suchkov_med@mail.ru);

25%: концепция исследования, редактирование

### Климентова Эмма Анатольевна

кандидат медицинских наук, соискатель кафедры сердечно-сосудистой, рентгенэндоваскулярной, оперативной хирургии и топографической анатомии ФГБОУ ВО «РязГМУ им. акад. И.П. Павлова» МЗ РФ;

<https://orcid.org/0000-0003-4855-9068>, [klimentowa.emma@yandex.ru](mailto:klimentowa.emma@yandex.ru);

20%: сбор материала, написание текста

### Щулкин Алексей Владимирович

доктор медицинских наук, профессор кафедры фармакологии с курсом фармации факультета дополнительного профессионального образования ФГБОУ ВО «РязГМУ им. акад. И.П. Павлова» МЗ РФ;

<https://orcid.org/0000-0003-1688-0017>, [alekseyshulkin@rambler.ru](mailto:alekseyshulkin@rambler.ru);

15%: сбор материала, написание текста

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

## Markers of the Development of the Reconstruction Area Restenosis After Endovascular Interventions in Lower Limbs Arteries

R.E. Kalinin, I.A. Suchkov✉, E.A. Klimentova, A.V. Shchulkin

Department of Cardiovascular, X-ray Endovascular, Operative Surgery and Topographic Anatomy I.P. Pavlov Ryazan State Medical University of Ministry of Health of the Russian Federation 9 Vysokovolt'naya St., Ryazan, 390026, Russian Federation

✉ **Contacts:** Igor A. Suchkov, Doctor of Medical Sciences, Professor, Professor of the Department of Cardiovascular, X-ray Endovascular, Operative Surgery and Topographic Anatomy of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education I.P. Pavlov Ryazan State Medical University of Ministry of Health of the Russian Federation. Email: [suchkov\\_med@mail.ru](mailto:suchkov_med@mail.ru)

**INTRODUCTION** Restenosis of the reconstruction zone is one of the main postoperative complications of vascular reconstructions, which develops in 18–40% of cases and leads to an increase in the risk of limb loss to 20–25%. The search for new markers for predicting the development of this complication is an urgent problem today.

**AIM OF STUDY** To assess the dynamics of markers of apoptosis and cell proliferation at different times after endovascular intervention and their role in the development of restenosis of the reconstruction zone in patients with peripheral arterial disease (PAD).

**MATERIAL AND METHODS** The clinical study included 30 patients with PAD stage III disease. After further examination, the patients underwent endovascular intervention on the arteries of the femoral-popliteal segment. If restenosis developed, the patients were re-operated. In patients before surgery, within the first hour, and then on days 1, 7, 14, 21, 30 after the operation, venous blood was taken to determine the markers Bax, sFas, PDGF BB using enzyme immunoassay.

**RESULTS** After endovascular intervention, the first wave of apoptosis was triggered with an increase in the amount of proapoptotic protein Bax ( $p=0,00003$ ) from 1 to 24 hours, followed by a decrease by day 7 ( $p=0,0008$ ) compared to the amount on day 1. The PDGF BB level increased from day 1 after surgery ( $p=0,03$ ) with maximum values on day 7 ( $p=0,0002$ ) compared to the level on day 1. Then the second wave was triggered with a peak decrease in the level of the apoptosis inhibitor sFas on day 21 ( $p=0,002$ ). After 9-12 months, restenosis of the intervention zone with a return of limb ischemia developed in 10 patients. During the first hour ( $p=0,004$ ) in patients with restenosis, the level of Bax protein was significantly increased, with an increase in the level of PDGF BB by day 7 ( $p=0,011$ ), and sFas by day 21 ( $p=0,0001$ ), PDGF BB by the end of 1 month ( $p=0,004$ ) compared to values in patients without this complication.

**CONCLUSION** 1. Endovascular intervention causes two waves of apoptosis in the postoperative period. The first wave is associated with an increase in Bax protein in the first hours, followed by an increase in PDGF BB on day 7. The second wave of apoptosis is due to a decrease in the inhibitor of apoptosis – sFas for 21 days against the background of the shift of the PDGF BB to the initial level. 2. An increase in Bax protein within the first hours after surgery in the course of PDGF BB growth on day 7 with an increased amount of sFas on day 21 leads and PDGF BB by the end of 1 month leads to the development of restenosis of the intervention area.

**Keywords:** restenosis, Bax, PDGF BB, sFas, atherosclerosis

**For citation** Kalinin RE, Suchkov IA, Klimentova EA, Shchulkin AV. Markers of the Development of the Reconstruction Area Restenosis After Endovascular Interventions in Lower Limbs Arteries. *Russian Sklifosovsky Journal of Emergency Medical Care*. 2021;10(4):669–675. <https://doi.org/10.23934/2223-9022-2021-10-4-669-675> (in Russ.)

**Conflict of interest** Authors declare lack of the conflicts of interests

**Acknowledgments, sponsorship** The study has no sponsorship

#### Affiliations

Roman E. Kalinin	Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Cardiovascular, X-ray Endovascular, Operative Surgery and Topographic Anatomy of I.P. Pavlov Ryazan State Medical University; <a href="https://orcid.org/0000-0002-0817-9573">https://orcid.org/0000-0002-0817-9573</a> , kalinin-re@yandex.ru; 40%, research concept, editing
Igor A. Suchkov	Doctor of Medical Sciences, Professor, Professor of the Department of Cardiovascular, X-ray Endovascular, Operative Surgery and Topographic Anatomy of I.P. Pavlov Ryazan State Medical University; <a href="https://orcid.org/0000-0002-1292-5452">https://orcid.org/0000-0002-1292-5452</a> , suchkov_med@mail.ru; 25%, research concept, editing
Emma A. Klimentova	Candidate of Medical Sciences, Applicant of the Department of Cardiovascular, X-ray Endovascular, Operative Surgery and Topographic Anatomy of I.P. Pavlov Ryazan State Medical University; <a href="https://orcid.org/0000-0003-4855-9068">https://orcid.org/0000-0003-4855-9068</a> , klimentova.emma@yandex.ru; 20%, collecting material, writing text
Aleksey V. Shchulkin	Doctor of Medical Sciences, Professor of the Department of Pharmacology with a course in Pharmacy at the Faculty of Additional Professional Education of I.P. Pavlov Ryazan State Medical University; <a href="https://orcid.org/0000-0003-1688-0017">https://orcid.org/0000-0003-1688-0017</a> , alekseyshulkin@rambler.ru; 15%, collecting material, writing text

Received on 12.03.2021

Review completed on 21.04.2021

Accepted on 28.09.2021

Поступила в редакцию 12.03.2021

Рецензирование завершено 21.04.2021

Принята к печати 28.09.2021