



Петрова Е.Б.^{1,2} ✉, Огурцова С.Э.³, Русак Т.В.², Козич В.Д.², Колядко М.Г.², Русских И.И.²,
Статкевич Т.В.¹, Кожемяко М.В.⁴, Скороход М.М.⁵, Митьковская Н.П.^{1,2}

¹ Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

² Республиканский научно-практический центр «Кардиология», Минск, Беларусь

³ Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

⁴ Минский городской клинический эндокринологический центр, Минск, Беларусь

⁵ Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии, Минск, Беларусь

Биологические маркеры раннего сосудистого старения, липидемия и особенности атеросклеротического поражения коронарных артерий у бессимптомных пациентов трудоспособного возраста с субклиническим гипотиреозом

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: Петрова Е.Б. – концепция и дизайн исследования, сбор материала, обработка, написание текста; Козич В.Д., Кожемяко М.В., Скороход М.М., Статкевич Т.В., Русак Т.В., Колядко М.Г., Русских И.И. – сбор и обработка материала; Огурцова С.Э. – сбор материала и подготовка текста; Митьковская Н.П. – концепция исследования, анализ полученных данных, редактирование.

Финансирование. Исследование проведено в рамках НИОК(Т)Р по заданию 02.32 «Разработать и внедрить метод прогнозирования развития атеросклероза у пациентов с гипо- и гипертиреозом» подпрограммы «Кардиология и кардиохирургия» государственной научно-технической программы «Научно-техническое обеспечение качества и доступности медицинских услуг», 2021–2025 годы. Финансовой поддержки со стороны компаний – производителей лекарственных препаратов и медицинского оборудования авторы не получали.

Благодарности: авторы выражают благодарность сотрудникам Республиканского научно-практического центра «Кардиология»; сотрудникам кафедры кардиологии и внутренних болезней Белорусского государственного медицинского университета; администрации и сотрудникам 4-й городской клинической больницы имени Н.Е. Савченко, Городской клинической больницы скорой медицинской помощи г. Минска, Минского городского клинического эндокринологического центра, Солигорской центральной районной больницы, поликлиники ОАО «Беларуськалий» за помощь в наборе пациентов.

Подана: 27.08.2024

Принята: 15.10.2024

Контакты: katrin.sk-81@tut.by

Резюме

Цель. Изучить биологические маркеры раннего сосудистого старения, параметры липидного спектра и оценить масштабы атеросклеротического поражения коронарных артерий у бессимптомных пациентов трудоспособного возраста с субклиническим гипотиреозом.

Материалы и методы. Проведено поперечное когортное исследование с анализом анамнестических, клинических и лабораторно-инструментальных данных 114 лиц трудоспособного возраста (32 мужчины и 82 женщины) с различным гормональным статусом щитовидной железы без клинических признаков и анамнеза ишемической

болезни сердца: 83 – с лабораторно подтвержденным субклиническим гипотиреозом (уровень тиреотропного гормона $>4,0$ мМЕ/л при нормальных характеристиках свободных фракций тиреоидных гормонов) и 31 пациента без дисфункции щитовидной железы. Сформированные группы были сопоставимы по возрасту, гендерному составу, наличию и степени тяжести артериальной гипертензии, отягощенному семейному анамнезу ранних кардиоваскулярных событий, курению. Анализ биологических маркеров раннего сосудистого старения включал определение длины теломер и концентрации теломеразы. Полученные данные интерпретировали как достоверные, а различия между показателями считали значимыми при величине безошибочного прогноза, равной или больше 95% ($p<0,05$).

Результаты. Установлена прямая, средней силы корреляционная взаимосвязь между лабораторно подтвержденным субклиническим гипотиреозом и атерогенным типом гиперлипидемии ($r=0,55$; $p<0,05$), ХС-ЛПВП менее $1,2$ ммоль/л ($r=0,31$; $p<0,05$), количественными значениями кальциевого индекса ($r=0,33$; $p<0,05$), наличием признаков атеросклеротического ($r=0,41$; $p<0,05$) и полисосудистого поражения коронарного бассейна ($r=0,38$; $p<0,05$) по данным КТ-коронарографии. Установлена обратная, средней силы корреляционная взаимосвязь между лабораторно подтвержденным субклиническим гипотиреозом и количественными значениями теломеразной концентрации ($r=-0,348$; $p<0,05$).

Закключение. У клинически здоровых пациентов трудоспособного возраста с впервые выявленным, медикаментозно не скорректированным субклиническим гипотиреозом выше удельный вес лиц с КТ-признаками многососудистого атеросклеротического поражения коронарных артерий, атерогенез протекает на фоне IIa типа вторичной гиперлипидемии в сочетании с недостаточностью антиатерогенных ХС-ЛПВП, более низкими значениями концентрации теломеразы ($7,9$ ($6,4-9,6$) против $9,6$ ($7,7-10,2$) нг/мл, $U=882,5$; $p<0,01$). Через год терапии статинами величина теломеразной концентрации у 20 из проанализированных в динамике пациентов достоверно превышала исходный уровень: $9,6$ ($9,1-10,8$) нг/мл против $8,1$ ($7,1-8,4$) нг/мл, при $p<0,001$ в сравнении с группой лиц без дисфункции щитовидной железы. Полученные результаты еще раз подчеркивают роль медикаментозной терапии и немедикаментозной профилактики клинических проявлений атеросклероза в косвенном ингибировании процессов сенесценции, свидетельствуют о необходимости дальнейшего изучения причинно-следственных связей и разработки унифицированных профилактических алгоритмов кардио- и цереброваскулярных катастроф у пациентов с сочетанной патологией.

Ключевые слова: щитовидная железа, гипотиреоз, гиперлипидемия, атеросклероз, коронарные артерии, кальциевый индекс, компьютерная томография сердца, теломеры, активность теломеразы



Petrova E.^{1,2} ✉, Ogurtsova S.³, Rusak T.², Kozich U.², Kaliadka M.², Russkikh I.², Statkevich T.¹, Kozhemyako M.⁴, Skorokhod M.⁵, Mitkovskaya N.^{1,2}

¹ Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

² Republican Scientific and Practical Centre "Cardiology", Minsk, Belarus

³ Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

⁴ Minsk City Clinical Endocrinology Center, Minsk, Belarus

⁵ Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantology and Hematology, Minsk, Belarus

Biological Markers of Early Vascular Aging, Lipidemia and Atherosclerosis of the Coronary Arteries in Asymptomatic Patients of Working Age with Subclinical Hypothyroidism

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: Petrova E. – study concept and design, material collecting, processing, text writing; Kozich U., Kozhemyako M., Skorokhod M., Statkevich T., Rusak T., Kaliadka M., Russkikh I. – material collecting and processing; Ogurtsova S. – material collecting, writing –original draft; Mitkovskaya N. – study concept, data analysis, editing.

Funding. The study was conducted within the Research and Development framework under the task 02.32 "To elaborate and implement a method for predicting atherosclerosis in patients with hypo- and hyperthyroidism" within the subprogram "Cardiology and cardiac surgery" of the state scientific and technical Program "Scientific and Technical Support for Quality and Availability of Healthcare Services", 2021–2025. The authors did not receive financial support from pharmaceuticals and medical equipment manufacturing companies.

Acknowledgements: the authors express their gratitude to the administration and staff of the Republican Scientific and Practical Center "Cardiology", the Department of Cardiology and Internal Diseases of the Belarusian State Medical University, the 4th City Clinical Hospital named after N.E. Savchenko, the Minsk City Clinical Hospital of Emergency Care, the Minsk City Clinical Endocrinology Center, the Salihorsk Central District Hospital, the Polyclinic of Belaruskali JSC to assist in material collection.

Submitted: 27.08.2024

Accepted: 15.10.2024

Contacts: katrin.sk-81@tut.by

Abstract

Purpose. To study biological markers of early vascular aging and lipidemia and to assess the severity of atherosclerotic lesions of the coronary arteries in asymptomatic patients of working age with subclinical hypothyroidism (SH).

Materials and methods. A cross-sectional cohort study was conducted with the analysis of anamnestic, clinical and laboratory and instrumental data of 114 subjects of working age (32 men and 82 women) with different hormonal status of the thyroid gland without clinical signs and history of coronary heart disease: 83 with laboratory-confirmed hypertension (TSH level >4.0 mMU/l with normal characteristics of free fractions of thyroid hormones) and 31 patients without thyroid dysfunction. The groups formed were comparable in age, gender composition, presence and severity of hypertension, aggravated family history of early cardiovascular events, and smoking. The analysis of biological markers of early vascular aging included the determination of telomere length and telomerase level. The obtained data processing was carried out using statistical packages Excel, Statistica (version 10.0, StatSoft, Inc., USA). The data obtained were interpreted as reliable, and the differences between the indicators were considered significant when the error-free prediction value was equal to or greater than 95% ($p < 0.05$).

Results. A direct, medium-strength correlation was established between laboratory-confirmed subclinical hypothyroidism and atherogenic type of hyperlipidemia ($r=0.55$; $p<0.05$), HDL cholesterol less than 1.2 mmol/l ($r=0.31$; $p<0.05$), quantitative values of the calcium index ($r=0.33$; $p<0.05$), the presence of signs atherosclerotic ($r=0.41$; $p<0.05$) and multivessel lesions of the coronary basin ($r=0.38$; $p<0.05$) according to CT coronary angiography. An inverse, medium-strength correlation, was established between laboratory-confirmed subclinical hypothyroidism and quantitative values of telomerase levels ($r=-0.348$; $p<0.05$).

Conclusion. In clinically healthy patients of working age with newly diagnosed and medically unadjusted subclinical hypothyroidism, the proportion of persons with CT signs of multivessel atherosclerotic lesions of the coronary arteries is higher, atherogenesis occurs associated with IIa secondary hyperlipidemia in combination with insufficiency of antiatherogenic HDL-C and lower telomerase concentrations (7.9 (6.4–9.6) vs. 9.6 (7.7–10.2) ng/ml, $U=882.5$; $p<0.01$). After one year of statin therapy, telomerase levels in 20 of the patients analyzed in progression were exceeded significantly the baseline ones: 9.6 (9.1–10.8) ng/ml vs. 8.1 (7.1–8.4) ng/ml, at $p<0.001$, compared to the group of subjects without thyroid dysfunction. The results obtained further emphasize the role of drug therapy and non-drug prevention of clinical manifestations of atherosclerosis in indirect inhibition of senescence processes, suggesting the need for more in-depth studies of cause-and-effect relations and elaboration of unified preventive algorithms for cardio- and cerebrovascular accidents in patients with comorbid pathologies.

Keywords: thyroid gland, hypothyroidism, hyperlipidemia, atherosclerosis, coronary arteries, calcium index, computed tomography of the heart, telomeres, telomerase activity

■ ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на достижения отечественного и зарубежного здравоохранения, ишемическая болезнь сердца (ИБС) вносит существенный вклад в структуру общей смертности во всем мире. По оценкам Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), от сердечно-сосудистых заболеваний ежегодно умирает около 18 млн человек, из них четыре из пяти смертей – как следствие ишемического повреждения сердца и головного мозга, треть из этих случаев смерти носит преждевременный характер и отмечается среди людей в возрасте до 70 лет [1].

Жизнеугрожающие осложнения со стороны сердечно-сосудистой системы, трактуемые как кардиоваскулярные риски, и их предупреждение находятся в фокусе приоритетных направлений системы охраны здоровья населения [2]. Нарушение липидного обмена является одним из важнейших факторов, ассоциированных с развитием наиболее распространенной во всем мире хронической неинфекционной патологии [1, 3, 4]. Изучению патогенеза дислипидемий и предикторов агрессивного течения и неблагоприятных клинических исходов атеросклероза у пациентов различных возрастных и этнических групп посвящено большое количество отечественных и зарубежных публикаций и научных гипотез [3–5]. В практической же деятельности врачи различных специальностей все чаще сталкиваются с гиперлипидемией в различных ее модификациях, омоложением атеросклероза, мультифокальным поражением артериального русла, нередко с сочетанием у одного пациента нескольких



заболеваний и синдромов, включающих в качестве одной из составляющих атеросклероз-ассоциированные болезни системы кровообращения (БСК).

Преждевременное биологическое старение (которое обычно отличается от показателей хронологического старения) вносит свой неутешительный вклад в атерогенез. Несколько клинических исследований продемонстрировали присутствие в стабильных атеросклеротических бляшках (АСБ) лишь небольшого количества старых клеток, в то время как в осложненных АСБ наблюдалось депонирование сенесцентного материала, способного к синтезу ассоциированного со старением секреторного фенотипа (senescence associated secretory phenotype, SASP) и активации механизмов хронического воспаления [3, 6]. Результаты ряда исследований подтвердили гипотезу о том, что «укорочение теломер может выступать триггерным биологическим механизмом, отражающим клеточное старение», а длина теломер отражает суммарную степень повреждения ДНК факторами, которые ответственны за развитие атеросклероза и его осложнений. Скорость укорочения теломер увеличивается еще до начала заболевания, что может иметь диагностическое и прогностическое значение [7, 8]. Методика определения длины теломерных повторов хромосом [9] адаптирована для отечественных амплификаторов, что позволяет недорого и в короткие сроки определить относительную длину теломерных повторов и следить за ее динамикой.

В качестве еще одного генетического биомаркера доклинических процессов сосудистого старения все чаще рассматривают активность теломеразы (AT), отражающую пролиферативный клеточный потенциал [10]. Представляющий собой совокупность теломеразной обратной транскриптазы (Telomerase reverse transcriptase, TERT) и теломеразной рибонуклеиновой кислоты (Telomerase RNA Component, TERC) фермент удлинняет или сохраняет длину теломерных участков хромосом, компенсируя таким образом концевую недорепликацию, замедляет процесс старения клетки, выполняет функции контроля клеточного размножения и функционирования митохондрий, защиты клеток от окислительного стресса и уменьшения апоптоза [10, 11]. Снижение теломеразной активности может быть одной из причин сравнительно быстрого развития прогностически неблагоприятных сосудистых изменений. Согласно данным ряда наблюдений, высокая теломеразная активность в отношении профилактики сердечно-сосудистых катастроф играет протективную роль, восстанавливая структурно-функциональное состояние эндотелия и, независимо от длины теломер, ингибируя патологическую гиперэкспрессию белков, связанных со старением гладкомышечных клеток [12].

Медикаментозная и немедикаментозная терапия клинических проявлений атеросклероза косвенно может влиять и на процессы клеточного старения [12–14]. Spyridopoulos I. et al. установили, что статины могут повысить миграционную способность эндотелиальных клеток-предшественниц посредством влияния через TRF2-белок, входящий в состав шелтерин-комплекс Т-петли теломер [15]. Ряд исследований по использованию методов генной инженерии для активации экспрессии гена каталитического компонента теломеразы продемонстрировали даже искусственное «бессмертие» преобразованной клеточной культуры, отменяя для нее предел Хейфлика [6]. Вместе с тем принудительную активацию теломеразы с целью достижения «вечной молодости» дискредитирует риск злокачественного перерождения клетки.

Таким образом, анализ ряда отечественных и зарубежных публикаций продемонстрировал возможную ассоциацию укорочения лейкоцитарных теломер

и изменение теломеразной активности с повышенным риском атеросклероз-ассоциированных БСК [7, 8, 16], но не ответил на вопрос о вкладе в формирование синдрома раннего сосудистого старения ряда коморбидных состояний, в том числе широко распространенной во всем мире патологии щитовидной железы. Пациент с коморбидностью требует индивидуального подхода, учета всех особенностей сочетанной патологии при выборе лечебно-диагностической и профилактической тактики кардио- и цереброваскулярных осложнений. Результаты многих исследований подтвердили негативное влияние манифестного гипотиреоза на развитие и прогрессирование атеротромботических событий [4, 17, 18]. Но роль субклинического гипотиреоза (СГ) в формировании гиперлипидемии и атерогенеза до конца не изучена. Нет единого представления и четкого диагностического регламента в отношении стратификации кардиоваскулярных рисков у бессимптомных пациентов с коморбидной патологией.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить биологические маркеры раннего сосудистого старения, параметры липидного спектра и оценить масштабы атеросклеротического поражения коронарных артерий у бессимптомных пациентов трудоспособного возраста с субклиническим гипотиреозом.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено поперечное когортное исследование с анализом данных 114 лиц трудоспособного возраста (32 мужчины и 82 женщины) с различным гормональным статусом щитовидной железы без клинических признаков и анамнеза ИБС.

Скрининг пациентов осуществлялся на этапе первичного выявления тиреоидной патологии врачами-эндокринологами или врачами общей практики, с последующим направлением их на консультацию в учреждение здравоохранения «Минский городской клинический эндокринологический центр», где проводились отбор, информирование пациентов, подписание формы информированного согласия.

Критерии не включения/исключения из исследования: клинические признаки хронической ИБС, перенесенный инфаркт миокарда или инсульт в анамнезе, тяжелая стадия артериальной гипертензии и/или невозможность медикаментозно скорректировать цифры артериального давления до целевых значений, ожирение 2–3-й степени, сахарный диабет, иммунодефицитные состояния, онкопатология, заболевания соединительной ткани, терминальная стадия хронических заболеваний печени и почек, употребление психоактивных веществ, недееспособность гражданина вследствие психического расстройства, отказ от участия в исследовании.

Согласно действующему клиническому протоколу «Диагностика и лечение пациентов с заболеваниями щитовидной железы (взрослое население)» (утвержден постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 21.06.2021 № 85), действующим клиническим рекомендациям Европейской тиреологической ассоциации по лечению субклинического гипотиреоза (2013) и Американской тиреологической ассоциации по лечению гипотиреоза (2014) проходило подтверждение и уточнение характера эндокринной патологии. На основании анализа лабораторных показателей уровня тиреотропного гормона (ТТГ) и свободных фракций тироксина и трийодтиронина было сформировано 2 группы, куда вошли 83 пациента с

субклиническим гипотиреозом (уровень ТТГ >4,0 мМЕ/л при нормальных характеристиках свободных фракций тиреоидных гормонов) и 31 пациент без дисфункции ЩЖ. Сформированные группы были сопоставимы по возрасту, гендерному составу, наличию и степени тяжести артериальной гипертензии, отягощенному семейному анамнезу ранних кардиоваскулярных событий, курению (табл. 1). На момент включения в исследование заместительной терапии левотироксином, лечения йодсодержащими или антитиреоидными препаратами, гиполипидемической терапии вышеозначенные лица не получали.

Для уточнения кардиоваскулярных рисков пациенты проходили дообследование в государственном учреждении «Республиканский научно-практический центр «Кардиология».

Компьютерная томография сердца по программе скрининга коронарного кальция проводилась на двухэнергетическом аппарате Siemens SOMATOM Force на протяжении от синусов Вальсальвы до нижней границы сердца, с количеством получаемых срезов 384 (2×192), толщина среза 3,0 мм, напряжение трубки 120 кВ, FoV 25 см, инкремент 1,5 мм, питч 3,2, время ротации 0,25 с. За очаги кальциноза принимали участки плотностью более 130 единиц Хаунсфилда, пороговое значение площади кальцинированного поражения – величину трех смежных пикселей (1,03 мм²). Степень кальциноза коронарных артерий характеризовалась величиной кальциевого индекса (КИ), который рассчитывали по стандартному методу Agatston (Total calcium score AJ-130). С целью контрастного усиления использован неионный низкоосмолярный йодсодержащий рентгеноконтрастный препарат йогексол. Гемодинамически значимым считали уменьшение просвета коронарных сосудов более чем на 50%. Более подробно описание методики и подготовка пациентов к исследованию изложены нами в предшествовавших публикациях [19, 20].

Таблица 1
Характеристики пациентов с субклиническим гипотиреозом, повышающие сердечно-сосудистые риски*
Table 1
Characteristics increasing cardiovascular risk in patients with subclinical hypothyroidism*

Признак	Субклинический гипотиреоз (n=83)	Нормальная функциональная активность щитовидной железы (n=31)
Мужчины, % (n)	30,1 (25)	22,6 (7)
Женщины, % (n)	69,9 (58)	75,0 (24)
Возраст, лет	53,9±5,11	52,5±4,89
Артериальная гипертензия	73,6 (60)	71,9 (23)
1-й степени, % (n)	34,9 (29)	34,4 (11)
2-й степени, % (n)	37,3 (31)	37,5(12)
3-й степени, % (n)	–	–
Ожирение I степени (ИМТ 30–34,9 кг/м ²)	41,0 (34)	40,6 (13)
Ожирение II степени (ИМТ 35–39,9 кг/м ²)	–	–
Ожирение III степени (ИМТ >40,0 кг/м ²)	–	–
Курение, % (n)	9,6 (8)	13,3 (4)
Наследственный анамнез ранней ИБС, % (n)	80,7 (67)	78,1 (25)

Примечания: * по основным характеристикам групп пациентов статистически значимых различий не выявлено; ИБС – ишемическая болезнь сердца; ИМТ – индекс массы тела.

Определение биохимических характеристик липидного спектра выполняли на автоматическом биохимическом анализаторе Architect c4000 (Abbott, США). Забор материала для исследования выполнялся из кубитальной вены утром, строго натощак. Липидемия диагностировалась с учетом характеристик липидограммы и включала определение уровня общего холестерина (ОХ), триглицеридов (ТГ), холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛПНП), холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛПВП), аполипопротеинов низкой и высокой плотности (АпоВ и АпоА1).

Анализ биологических маркеров раннего сосудистого старения проводился сотрудниками лаборатории фармакологических исследований ГНУ «Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси». Определение длины теломер выполняли при помощи информативного и, в сравнении с методом гибридизации *in situ*, экономически доступного и технически легко выполнимого метода количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени [21, 22]. Данный метод основан на амплификации в одной пробирке как фрагментов теломер, так и гена сравнения, например, альбумина. Выделение тотальной ДНК выполнялось из лейкоцитов, материалом для исследования служила венозная кровь в объеме 8–9 мл, взятая из локтевой вены пробанда. Забор венозной крови производили в пробирки с консервантом, содержащим раствор ЭДТА (pH=8,0). Выделение ДНК выполняли с помощью наборов «ДНК-ВК» (ИБОХ, Беларусь) согласно прилагаемому протоколу. Определение концентрации ДНК и чистоту препаратов ДНК устанавливали с использованием спектрофотометра Agilent 8453 и оценивали из соотношения поглощения 260 нм /280 нм. Качество выделенных образцов оценивали методом горизонтального гель-электрофореза в 2% агарозном геле с добавлением 1% этидиум бромид. Длина теломер рассчитывалась относительно однокопийного гена сравнения. Расчет производился по формуле T / S , где T – количество в нг теломер, а S – количество в нг альбумина. В обоих случаях T и S находились из калибровочных кривых.

В качестве стандартного образца была использована геномная ДНК клеточной линии HeLa (обладает максимальной длиной теломер, т. к. отсутствует эффект укорочения теломер). Клеточная линия HeLa была получена из раковой опухоли шейки матки в 1951 году. В клетках HeLa теломеразы имеет высокий уровень активности, в результате чего эти клетки способны к бесконечной пролиферации и не имеют предела Хейфлика. Клетки HeLa имеют одинаковую длину теломеров, соответствующую эмбриональным клеткам, поэтому ДНК, выделенную из этих клеток, и целесообразно использовать в качестве стандартного образца.

Концентрацию теломеразы определяли с помощью набора Human TE (Telomerase) ELISA Kit (Elabscience) в соответствии с инструкцией производителя. В работе задействована микроплата ELISA, изначально покрытая антителом, специфичным к теломеразе человека. Принцип работы набора – использование «сэндвич»-варианта иммуоферментного анализа [23]. Образцы сыворотки пациентов добавляли в лунки микроплаты ELISA, которые объединялись со специфическим антителом. Затем в каждую лунку микроплаты ELISA последовательно добавляли следующие реагенты: биотинилированное детектирующее антитело, специфичное к человеческой теломеразе, и авидин пероксидазу хрена (Avidin-HRP) с последующей инкубацией. Свободные компоненты смывались. В каждую лунку добавляли раствор субстрата. Лунки планшета, содержащие теломеразу, биотинилированное антитело и конъюгат

Avidin-HRP, окрашивались в синий цвет. Реакцию субстрат – фермент останавливали стоп-раствором с образованием желтой окраски. Оптическую плотность регистрировали на иммуноферментном анализаторе STAT FAX 3200 (Awareness, USA) при 450 нм. Концентрацию ТЕ рассчитывали по многоточечной калибровке, построенной от 10 до 0,16 нг/мл путем последовательных разведений стандартного раствора. Значения оптической плотности были пропорциональны концентрациям ТЕ человека.

Обработка полученных данных проводилась с использованием статистических пакетов Excel, Statistica (версия 10.0, StatSoft, Inc., USA). Статистическое описание количественных характеристик производилось в зависимости от вида их распределения. Для выборок с нормальным распределением применялся расчет среднего значения (M) и ошибки репрезентативности (m). В случае статистической обработки количественных признаков, имеющих распределение, отличное от нормального, а также качественных порядковых признаков указывали медиану (Me) и межквартильный размах (25-й–75-й процентиля). Сопоставление межгрупповых данных по количественному признаку проводилось при помощи критерия Стьюдента (t) с соблюдением условия нормального распределения признака в обеих группах или U-критерия Манна – Уитни при распределении признака в группах, отличном от нормального. С целью сравнения групп с различным тиреоидным статусом по качественным признакам использовали анализ частоты встречаемости признака согласно критерию соответствия (χ^2) либо точного критерия Фишера (F). Для определения обоюдного влияния двух признаков был выполнен корреляционный анализ с использованием метода Спирмена. Оценивались значимость, направление связи и сила корреляционных взаимодействий: при коэффициенте корреляции $r < 0,3$ – слабая, $0,3–0,69$ – умеренная, $0,7$ и более – сильная связь. Полученные данные интерпретировались как достоверные, а различия между показателями считались значимыми при величине безошибочного прогноза, равной или больше 95% ($p < 0,05$).

■ РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ показателей липидограммы продемонстрировал статистически значимо более высокие среднегрупповые значения ОХ ($5,8 \pm 0,12$ ммоль/л против $4,7 \pm 0,13$ ммоль/л; при $p < 0,05$), ХС-ЛПНП ($3,9 \pm 0,12$ ммоль/л против $2,8 \pm 0,15$ ммоль/л; при $p < 0,01$), уровня АпоВ ($1,2 \pm 0,03$ против $0,9 \pm 0,02$; при $p < 0,05$) и значения отношения АпоВ/АпоА1 ($0,8 \pm 0,05$ против $0,5 \pm 0,03$; при $p < 0,05$) (рис. 1). Вместе с тем среднегрупповые значения проатерогенных ХС-ЛПВП в группе пациентов с субклиническим гипотиреозом составили $1,0 \pm 0,09$ ммоль/л против $1,3 \pm 0,05$ ммоль/л в группе пациентов без дисфункции ЩЖ; $p < 0,05$.

Согласно классификации гиперлипидемий, предложенной D. Fredrickson в 1965 г. и рекомендованной ВОЗ на настоящее время [4], у бессимптомных пациентов с субклиническим гипотиреозом удельный вес лиц с прогностически неблагоприятным атерогенным типом гиперлипидемии был статистически значимо выше в сравнении с группой без дисфункции ЩЖ: 80,7% ($n=67$) против 48,4% ($n=15$) ($\chi^2=11,69$; $p < 0,001$). Ia тип гиперлипидемии диагностирован у 68,7% ($n=57$) против 35,5% ($n=11$) ($\chi^2=10,33$; $p < 0,001$), IIb тип гиперлипидемии – у 12,0% ($n=10$) пациентов с гипофункцией ЩЖ и 12,9% ($n=4$) ($p > 0,05$) пациентов без патологии ЩЖ соответственно (табл. 2).

По данным компьютерной томографии сердца с использованием программы скрининга коронарного кальция в группе пациентов с СГ среднегрупповое значение

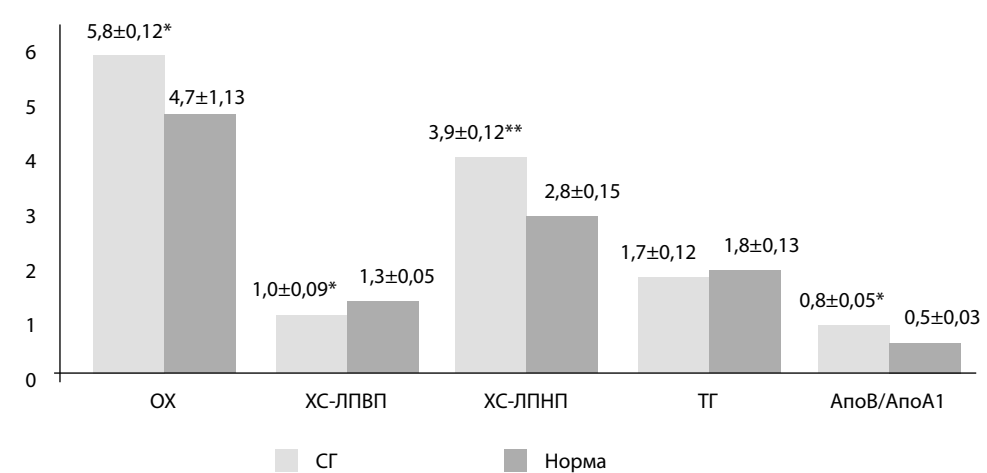


Рис. 1. Характеристики липидограммы включенных в исследование пациентов с субклиническим гипотиреозом и нормальной функцией щитовидной железы

Примечания: * достоверность различия показателей при сравнении с группой пациентов с нормальным гормональным статусом щитовидной железы при $p<0,05$; ** при $p<0,01$; ОХ – общий холестерин, ТГ – триглицериды, ХС-ЛПНП – холестерин липопротеинов низкой плотности, ХС-ЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности, АпоВ и АпоА1 – аполипопротеины низкой и высокой плотности.

Fig. 1. Characteristics of the lipid spectrum of the study patients with subclinical hypothyroidism and normal thyroid function

общего КИ, рассчитанного по методу Agatston, было статистически значимо выше, чем в группе лиц с нормальным гормональным статусом ЩЖ: 128,0 (0–141,0) против 0 (0–5,0), при $p<0,05$. Удельный вес лиц с признаками кальциноза коронарных артерий и умеренным значением КИ (11–100 единиц) в группе пациентов с СГ составил 43,4% ($n=36$) против 16,1% ($n=5$) ($\chi^2=7,27$ и $p<0,01$) и 25,3% ($n=21$) против 3,2% ($n=1$) ($F=0,062$ и $p<0,01$) в сравнении с результатом пациентов без нарушения эндокринной функции.

Таблица 2
Структура гиперлипидемии (ВОЗ, 1965) у пациентов с субклиническим гипотиреозом
Table 2
Structure of hyperlipidemia (WHO, 1965) in patients with subclinical hypothyroidism

Признак	Субклинический гипотиреоз (n=83)	Нормальная функция щитовидной железы (n=31)	χ^2/F	p
Нормальные показатели липидограммы	7,2 (6)	22,5 (7)	5,3	0,022
Неатерогенный тип гиперлипидемии	12,1 (10)	12,9 (9)	7,5	0,010
Ila тип гиперлипидемии	68,7 (57)	35,5 (11)	10,3	0,001
IIb тип гиперлипидемии	12,0 (10)	12,9 (4)	0,000	0,563

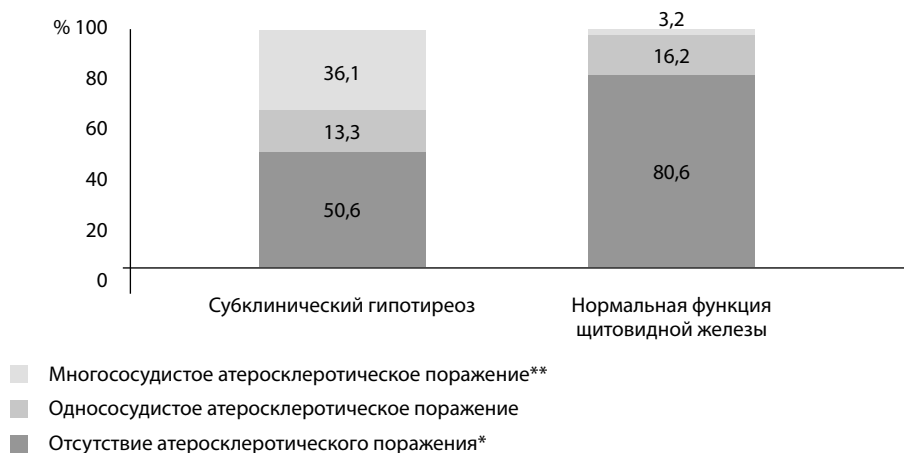


Рис. 2. Ангиографическая характеристика атеросклеротического поражения коронарных артерий у пациентов с субклиническим гипотиреозом

Примечания: * достоверность различия показателей при сравнении с группой без нарушения функции ЩЖ, при $p < 0,01$; ** при $p < 0,001$.

Fig. 2. Angiographic features of CAD in patients with subclinical hypothyroidism

Ангиографическая характеристика атеросклеротического поражения коронарных артерий у включенных в исследование пациентов с субклиническим гипотиреозом и эутиреозом отражена на рис. 2.

Наличие признаков атеросклеротического поражения коронарного бассейна по данным компьютерной томографии сердца с контрастированием коронарных артерий зафиксировано у 49,4% ($n=41$) обследованных пациентов с субклиническим гипотиреозом против 19,3% ($n=6$) в группе лиц с нормальным гормональным статусом ЩЖ ($\chi^2=8,41$; $p < 0,01$). Расхождение полученных данных СКК и КТ-КАГ может быть объяснено недостаточными разрешающими возможностями метода КТ, не всегда позволяющими оценить наличие микрообызвествлений, что затрудняет выявление формирующейся «молодой» бляшки [24, 25].

Негемодинамически значимый стенозирующий тип поражения коронарных артерий (АСБ $< 50\%$) верифицирован у 44,6% ($n=37$) обследованных пациентов с СГ против 18,5% ($n=5$) без дисфункции ЩЖ ($\chi^2=7,9$; $p < 0,01$), гемодинамически значимое стенозирующее поражение (АСБ $> 50\%$) по данным КТ-КАГ зафиксировано у 4,8% ($n=4$) бессимптомных пациентов с СГ. Многососудистое атеросклеротическое поражение (2 и более) коронарных артерий выявлено у 36,1% ($n=30$) пациентов с СГ против 3,1% ($n=1$) в группе лиц с нормальным гормональным статусом ЩЖ ($F=0,108$; $p < 0,001$).

Статистически значимого межгруппового различия по локализации АСБ получено не было. При сравнительной внутригрупповой топической диагностике атеросклеротического поражения у лиц с СГ зафиксированы АСБ: в бассейне ПМЖВ – у 41,0% ($n=34$) пациентов (с поражением 1-го сегмента – у 16, 2-го сегмента – у 6, 3-го сегмента – у одного, 1-го и 2-го сегментов – у 11 обследованных), ДВ – у 8,4%

($n=7$), в ПКА – у 30,1% ($n=25$) и ОВ – у 13,3% ($n=11$) пациентов, при этом у 19 пациентов с СГ наблюдались признаки сочетанного поражения нескольких коронарных бассейнов.

Определение длины теломер выполнили 114 включенным в исследование пациентам при помощи информативного, а в сравнении с методом гибридизации *in situ* и экономически доступного и технически легко выполнимого метода количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени. Статистически значимого среднегруппового различия у пациентов с различным гормональным статусом щитовидной железы получено не было: 100,0 (92,7–100,0) нг/мл и 100 (92,9–100,0) нг/мл у лиц с СГ и нормальной функцией щитовидной железы соответственно ($U=1178,0$; $p=0,492$).

Уровень концентрации теломеразы определяли всем включенным в исследование пациентам. В группе лиц с субклиническим гипотиреозом концентрация теломеразы была статистически значимо ниже в сравнении с группой пациентов без дисфункции щитовидной железы: 7,9 (6,4–9,6) против 9,6 (7,7–10,2) нг/мл ($U=882,5$; $p<0,01$) (рис. 3).

Анализ взаимосвязи между длиной теломер, характеристиками теломеразной концентрации и лабораторно подтвержденным субклиническим гипотиреозом, наличием и масштабами атеросклеротического поражения коронарных артерий у пациентов обследованных групп с различным гормональным статусом щитовидной железы представлен в табл. 3.

Установлена прямая, средней силы корреляционная взаимосвязь между лабораторно подтвержденным СГ и атерогенным типом гиперлипидемии ($r=0,55$; $p<0,05$), ХС-ЛПВП менее 1,2 ммоль/л ($r=0,31$; $p<0,05$), количественными значениями КИ ($r=0,33$; $p<0,05$), наличием признаков атеросклеротического ($r=0,41$; $p<0,05$) и

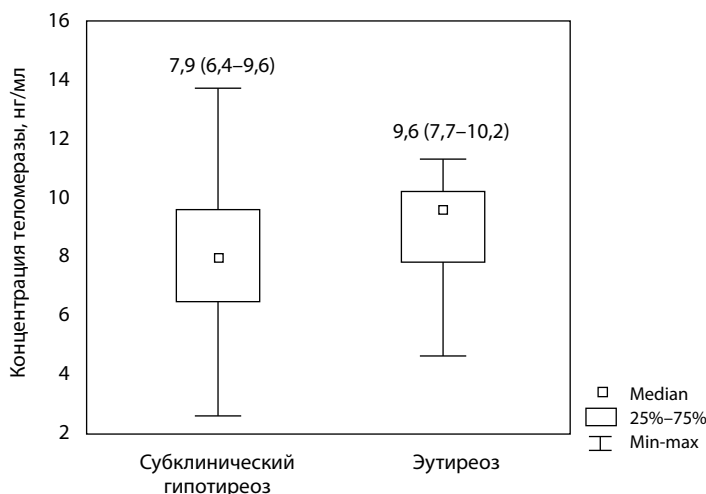


Рис. 3. Концентрация теломеразы в группах пациентов с субклиническим гипотиреозом и без дисфункции щитовидной железы, $p<0,01$

Fig. 2. Telomerase levels in groups of patients with subclinical hypothyroidism and without thyroid dysfunction, $p<0.01$

Таблица 3
Взаимосвязь между установленной длиной теломер, характеристиками теломеразной концентрации и лабораторно подтвержденным субклиническим гипотиреозом, наличием и масштабами атеросклеротического поражения коронарных артерий у пациентов обследованных групп с различным гормональным статусом щитовидной железы (значение коэффициента корреляции Спирмена, r), при $p < 0,05$

Table 3
Correlation between the established telomere length, characteristics of telomerase level and laboratory confirmed subclinical hypothyroidism, and presence and extent of atherosclerotic lesions of the coronary arteries in patients of the examined groups with different hormonal status of the thyroid gland (Spearman correlation coefficient value, r), at $p < 0.05$

Показатель	Лабораторно подтвержденный субклинический гипотиреоз	Длина теломер	Концентрация теломеразы, нг/мл	КИ, ед.	Атеросклероз коронарных артерий	Многососудистое поражение (2 коронарные артерии и более)
Лабораторно подтвержденный субклинический гипотиреоз	#	-0,08	-0,34	0,32	0,40	0,38
Длина теломер	-0,08	#	-0,07	0,16	0,07	0,10
Концентрация теломеразы, нг/мл	-0,35	-0,08	#	-0,31	-0,34	-0,28
Кальциевый индекс, ед.	0,35	0,16	-0,30	#	0,86	0,89
Атеросклероз коронарных артерий	0,41	0,07	-0,34	0,86	#	0,78
Многососудистое поражение (2 коронарные артерии и более)	0,38	0,10	-0,28	0,89	0,78	#

полисосудистого поражения коронарного бассейна ($r=0,38$; $p<0,05$) по данным КТ-КАГ. Установлена обратная, средней силы корреляционная взаимосвязь между лабораторно подтвержденным СГ и количественными значениями теломеразной концентрации ($r=-0,35$; $p<0,05$).

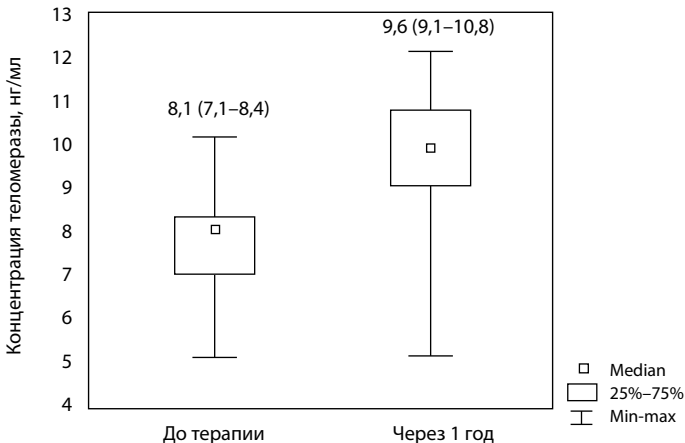


Рис. 4. Концентрация теломеразы в группах пациентов с субклиническим гипотиреозом до начала терапии и через 1 год после начала терапии статинами, $p < 0,001$
Fig. 4. Telomerase levels in groups of patients with subclinical hypothyroidism before the start of therapy and 1 year after the start of statin therapy, $p < 0.001$

Всем пациентам высокого и очень высокого риска, независимо от гормонального статуса, предложена терапия розувастатином с динамической коррекцией дозы под контролем липидограммы. Через год у 20 пациентов с субклиническим гипотиреозом повторно выполнено определение теломеразной концентрации (рис. 4).

Через 1 год терапии статинами величина теломеразной концентрации статистически значимо превышала исходный уровень: 9,6 (9,1–10,8) нг/мл против 8,1 (7,1–8,4) нг/мл на момент включения пациентов в исследование ($p < 0,001$). При персонифицированном анализе результатов каждого из пациентов положительная дельта достигнута у 16 пациентов, у одного пациента сохранился стартовый показатель, у трех из 20 пациентов, манкировавших регулярным приемом статинов и имевших отрицательный годовой результат по достижению целевых значений ЛПНП, наблюдался уровень концентрации теломеразы ниже, чем на момент включения в исследование.

■ ОБСУЖДЕНИЕ

Кардио- и цереброваскулярные события нередко определяют продолжительность и качество жизни пациентов терапевтического профиля, вносят свой вклад в формирование хронической сердечной и хронической недостаточности мозгового кровообращения. Изучению триггерных моментов каскада «раннего сосудистого старения», вклада коморбидной патологии в механизмы атерогенеза, особенностей течения и развития клинических исходов у представителей обоего пола, различных возрастных и этнических групп посвящено большое количество отечественных и зарубежных публикаций. Ведущие отечественные и зарубежные исследования убедительно продемонстрировали значимую связь между величиной ТТГ и рядом значений липидограммы (ОХ и ХС-ЛПНП) [4, 11, 18], развитием атеротромботических осложнений. Малоизученными, но не менее обсуждаемыми остаются вопросы вторичной дислипидемии при субклиническом гипотиреозе, в том числе: влияние уровня ТТГ на формирование атерогенной гиперлипидемии и имеющие не менее убедительную доказательную базу значения баланса апополипротеинов, антиатерогенные значения ХС-ЛПВП [5].

В предшествовавших публикациях нашим коллективом авторов уже отражена взаимосвязь биологических маркеров «раннего сосудистого старения» с наличием атеросклеротического поражения прецеребральных артерий у пациентов с различным гормональным статусом щитовидной железы [23]. Обращает на себя внимание тот факт, что удельный вес лиц с самой низкой активностью теломеразы, что соответствовало I квартилю распределения (QI) величины теломеразной концентрации, был значимо выше в группе пациентов с СГ: 40,2% против 2,3% при $p < 0,001$. Самая высокая теломеразная активность (QIV) наблюдалась в группе пациентов без дисфункции ЩЖ.

Полученные в настоящем исследовании данные свидетельствуют в пользу формирования у считающих себя «абсолютно здоровыми» пациентов трудоспособного возраста с впервые выявленным, медикаментозно не скорректированным субклиническим гипотиреозом вторичного прогностически неблагоприятного варианта дислипидемии: выше удельный вес лиц с атерогенным типом гиперлипидемии (80,7% ($n=67$) против 48,4% ($n=15$), $\chi^2=11,7$; $p < 0,001$) в сочетании с недостаточностью липопротеидов высокой плотности ($1,0 \pm 0,09$ ммоль/л против $1,3 \pm 0,05$ ммоль/л, $p < 0,05$). Вышеизложенные результаты КТ-сердца, установленная взаимосвязь



между лабораторно подтвержденным СГ и количественными значениями КИ ($r=0,33$; $p<0,05$), наличием признаков атеросклеротического ($r=0,41$; $p<0,05$) и полисосудистого поражения коронарного бассейна ($r=0,38$; $p<0,05$), обратная, средней силы корреляционная взаимосвязь между лабораторно подтвержденным СГ и количественными значениями теломеразной концентрации ($r=-0,348$; $p<0,05$) подтверждают более агрессивное течение процессов «раннего сосудистого старения» против результата лиц без дисфункции щитовидной железы.

Одной из причин разной скорости сосудистого старения является изначально неоднородная генетическая защищенность от воздействия эндо- и экзогенных факторов, в том числе наследственных и приобретенных эндокринопатий. Теломераза является маркером пролиферативной активности клеток на молекулярном уровне, и снижение ее активности может быть одной из причин сравнительно быстрого атеросклероз-ассоциированного сосудистого ремоделирования.

В нашей работе в группе лиц с субклиническим гипотиреозом концентрация теломеразы была статистически значимо ниже в сравнении с группой пациентов без дисфункции щитовидной железы: 7,9 (6,4–9,6) против 9,6 (7,7–10,2) нг/мл ($U=882,5$; $p<0,01$). Вместе с тем через год терапии статинами величина теломеразной концентрации у проанализированных пациентов достоверно превышала исходный уровень: 9,6 (9,1–10,8) нг/мл против 8,1 (7,1–8,4) нг/мл, при $p<0,001$. Полученные результаты еще раз акцентируют внимание на роли медикаментозной и немедикаментозной терапии клинических проявлений атеросклероза в косвенном ингибировании процессов сенесценции [15] и убедительно свидетельствуют о необходимости более углубленного изучения причинно-следственных связей и разработки унифицированных профилактических алгоритмов кардио- и цереброваскулярных катастроф у данной категории лиц. Еще раз подчеркивают нежелательные перспективы выжидательной стратегии в отношении гиполипидемической терапии у бессимптомных пациентов с коморбидной патологией и низким, согласно оценочным шкалам, риском сердечно-сосудистых событий.

К сожалению, вопрос о взаимосвязи атеросклероза и биологии теломер у коморбидных пациентов с тиреоидной патологией в настоящее время до конца не изучен. Крайне мало публикаций о прямом или опосредованном влиянии активности теломеразы на атерогенез. Что заставляет авторов с осторожностью интерпретировать полученные данные. Для уточнения роли биологии теломер в развитии атеросклероз-ассоциированных изменений сосудов необходимо целеустремленно продолжить научный поиск в данном направлении.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Среди клинически здоровых пациентов трудоспособного возраста с впервые выявленным, медикаментозно не скорректированным субклиническим гипотиреозом выше удельный вес лиц с КТ-признаками многососудистого атеросклеротического поражения коронарных артерий, атерогенез протекает на фоне IIa типа вторичной гиперлипидемии в сочетании с недостаточностью антиатерогенных ХС-ЛПВП, более низкими значениями концентрации теломеразы в сравнении с группой лиц без дисфункции щитовидной железы. Этиопатогенетические механизмы «раннего сосудистого старения», критерии стратификации групп риска развития атеросклероз-ассоциированных БСК, выбор диагностических алгоритмов с целью визуализации

доклинических стадий атерогенеза, своевременная антиатерогенная тактика у бессимптомных пациентов с коморбидной патологией щитовидной железы требуют дальнейшего изучения. Верификация атеросклеротического поражения коронарного бассейна, независимо от клинической составляющей, является фактором высокого кардиоваскулярного риска, требующего незамедлительной коррекции гиперлипидемии и назначения статинов.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *Cardiovascular diseases: Overview WHO* [electronic resource]. Available at: https://www.who.int/ru/health-topics/cardiovascular-diseases#tab=tab_1
2. Tsapaeva N., Petrova E., Pleshko A. An elderly patient with acute coronary syndrome: management during COVID-19 pandemic. *Emergency cardiology and cardiovascular risks*. 2021;5(2):1395–1405. doi: 10.51922/2616-633X.2021.5.2.1395. (in Russian)
3. Sergienko I., Anshelev A., Kukharchuk V. *Dyslipidemia, atherosclerosis and coronary heart disease: genetics, pathogenesis, phenotypes, diagnostics, therapy, comorbidity*. Moscow: Patiss. 2020. 295 p. (in Russian)
4. Visseren F.L.J., Mach F., Smulders Y.M. et al. 2021 ESC Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: Developed by the Task Force for cardiovascular disease prevention in clinical practice with representatives of the European Society of Cardiology and 12 medical societies With the special contribution of the European Association of Preventive Cardiology (EAPC). *Eur Heart J*. 2021;42(Issue 34):3227–3337. doi: 10.1093/eurheartj/ehab484
5. Vekic J., Zeljkovic A., Cicero A.F.G. et al. Atherosclerosis Development and Progression: The Role of Atherogenic Small, Dense LDL. *Medicina (Kaunas)*. 2022;58(2):299. doi: 10.3390/medicina58020299
6. Borodkina A., Deryabin P., Giukova A., Nikolsky N. "Social life" of senescent cells: what is sasp and why study it? *Acta Naturae*. 2018;10;1(36):4–15. doi: 10.32607/20758251-2018-10-1-4-14
7. Kumar A., Thirumurugan K. Understanding cellular senescence: pathways involved, therapeutics and longevity aiding. *Cell Cycle*. 2023;22(20):2324–2345. doi: 10.1080/15384101.2023.2287929
8. Drapkina O., Shepel R. Telomeres and telomerase complex. The main clinical manifestation of genetic malfunctioning. *Cardiovascular therapy and prevention*. 2015;14(1):70–77. (in Russian)
9. Wong L.S.M., Huzen J., de Boer R.A. et al. Telomere length of circulating leukocyte subpopulations and buccal cells in patients with ischemic heart failure and their offspring. *PLoS One*. 2011;6(8):e23118. doi: 10.1371/journal.pone.0023118
10. Smith E.M., Pendlebury D.F., Nandakumar J. Structural biology of telomeres and telomerase. *Cell Mol. Life Sci*. 2020;77(1):61–79. doi: 10.1007/s00018-019-03369-x
11. Engin A.B., Engin A. The Connection Between Cell Fate and Telomere. *Adv Exp Med Biol*. 2021;1275:71–100. doi: 10.1007/978-3-030-49844-3_3
12. Touboul P.J., Hennerici M.G., Meairs S. et al. Mannheim carotid intima-media thickness and plaque consensus (2004-2006-2011). An update on behalf of the advisory board of the 3rd, 4th and 5th watching the risk symposia, at the 13th, 15th and 20th European Stroke Conferences, Mannheim, Germany, 2004, Brussels, Belgium, 2006, and Hamburg, Germany, 2011. *Cerebrovasc Dis*. 2012;34(4):290–296. doi: 10.1159/000343145
13. Bode-Boger S.M., Martens-Lobenhoffer J., Täger M. et al. Aspirin reduces endothelial cell senescence. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005;334(4):1226–1232. doi: 10.1016/j.bbrc.2005.07.014
14. Donnini S., Terzuoli E., Ziche M., Morbidelli L. Sulphydryl angiotensin converting enzyme inhibitor promotes endothelial cell survival through nitric-oxide synthase, fibroblast growth factor-2, and telomerase rostalk. *J Pharmacol Exp Ther*. 2010;332(3):776–784. doi: 10.1124/jpet.109.159178
15. Spyridopoulos I., Haendeler J., Urbich C. et al. Statins enhance migratory capacity by upregulation of the telomere repeat-binding factor TRF2 in endothelial progenitor cells. *Circulation*. 2004;110(19):3136–3142. doi: 10.1161/01.CIR.0000142866.50300.EB
16. Ostanina Ju., Yakhontov D. Telomere length in patients of different age with coronary heart disease. *Bul. Contemporary Clin. Med*. 2018;11(1):44–49. doi: 10.20969/VSKM.2018.11(1).44-49. (in Russian)
17. Lu W., Zhang Y., Liu D., Songyang Z., Wan M. Telomeres-structure, function, and regulation. *Exp Cell Res*. 2013;319:133–141. doi: 10.1016/j.yexcr.2012.09.005
18. Barbarash N., Semjonov V., Samorodskaya I. et al. Comorbidity in coronary heart disease patients undergoing bypass grafting: an experience of two surgery centers. *Russian journal of cardiology*. 2017;22(3):6–13. (in Russian)
19. Petrova E., Shishko O., Rusak T. et al. Dyslipidemia and coronary atherosclerosis in asymptomatic patients with subclinical hypothyroidism. *Cardiology in Belarus*. 2023;15(4):472–484. doi: 10.34883/PI.2023.15.4.004. (in Russian)
20. Petrova E., Shishko O., Antyukh K., Mitkovskaya N. Cardiovascular risks and unresolved issues of hypolipidemic strategy in asymptomatic patients with subclinical hypothyroidism. *Recipe*. 2023;26(5):541–550. doi: 10.34883/PI.2023.26.5.003. (in Russian)
21. Cawthon R.M. Telomere length measurement by a novel monochrome multiplex quantitative PCR method. *Nucleic Acids Res*. 2009;37(3):e21. doi: 10.1093/nar/gkn1027
22. Aviv A., Hunt S.C., Jue L. et al. Impartial comparative analysis of measurement of leukocyte telomere length/DNA content by Southern blots and qPCR. *Nucleic Acids Res*. 2011;39(20):e134. doi: 10.1093/nar/gkr634
23. Petrova E., Shishko O., Ogurtsova S. et al. Telomerase activity, hyperlipidemia and features of atherosclerotic lesions of the brachiocephal arteries in asymptomatic patients of working age with subclinical hypothyroidism. *Doctor.Ru*. 2024;23(4):45–43. (in Russian)
24. Urabe Y., Yamamoto H., Kitagawa T., et al. Identifying small coronary calcification in noncontrast 0.5-mm slice reconstruction to diagnose coronary artery disease in patients with a conventional zero coronary artery calcium score. *J Atheroscler Thromb*. 2016;23:1324–1333. doi: 10.5551/jat.35808
25. Nikolaev A., Shapiev A., Korkunova O. et al. Ability of evaluation coronary calcium index based on ultra-low-dose computed tomography used in moscow lung cancer screening project. *Rational pharmacotherapy in cardiology*. 2021;17(3):414–422. doi: 10.20996/1819-6446-2021-06-18. (in Russian)