

Рівні аполіпопротеїнів A1/B, окислених ліпопротеїнів низької щільності та субстрату рецептора інсуліну-1 у плазмі крові хворих на COVID-19 і коморбідні захворювання, як можливі маркери важкості хвороби

В.В. Пушкар'юв,
Л.К. Соколова,
О.В. Фурманова,
О.А. Вишневська,
С.А. Червякова,
Ю.Б. Бельчина,
О.І. Ковзун,
В.М. Пушкар'юв

ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України»

Резюме. Встановлено, що підвищений рівень холестерину ліпопротеїнів високої щільності та аполіпопротеїну A1 (apolipoprotein A1, ApoA1) у плазмі асоційований зі зниженим ризиком розвитку серцево-судинних захворювань (ССЗ). Підвищений рівень холестерину ліпопротеїнів низької щільності, аполіпопротеїну B (apolipoprotein B, ApoB) і, особливо, окислених ліпопротеїнів низької щільності (oxidized low-density lipoprotein, oxLDL) у плазмі крові асоціюється з підвищеним ризиком розвитку ССЗ. Інфекція COVID-19 (COroNaVirus Disease 2019) пов'язана з дисліпідемією та серцево-судинними ускладненнями. **Мета** — визначення вмісту ApoA1, ApoB, oxLDL і субстрату інсулінового рецептора-1 (insulin receptor substrate-1, IRS-1) у плазмі крові хворих на COVID-19, цукровий діабет (ЦД) та ССЗ (n=81). **Матеріал і методи.** ApoA1, ApoB та oxLDL визначали за допомогою наборів для імуноферментного аналізу («Elabscience», США). Вимірювання проводили при довжині хвилі 450 нм. **Результати.** Показано, що кількість ApoA1 у крові хворих на ЦД і, особливо, з COVID-19 була значно нижчою, ніж у крові здорових людей. Рівень ApoA1 у крові не демонструє подальшого зниження в пацієнтів як із COVID-19, так і з ЦД або ССЗ порівняно з пацієнтами з COVID-19 без супутніх захворювань. Встановлено, що рівень ApoB та oxLDL у крові хворих на ЦД і, особливо, з COVID-19 суттєво вищий, ніж у крові здорових людей. Рівень ApoB та oxLDL у крові вищий у пацієнтів із COVID-19, і із ЦД або ССЗ порівняно з пацієнтами з

COVID-19 без супутніх захворювань. Відношення концентрації АроВ до АроА1 при інфекції COVID-19 зростало на порядок порівняно з хворими на ЦД, що свідчить про високий ризик серцево-судинних ускладнень. IRS є ключовим білком-адаптером, що опосередковує дію інсуліну та інсуліноподібних факторів росту в клітинах. Рівень IRS-1 у плазмі крові пацієнтів із COVID-19 був набагато (від 3,5 до більш ніж у 6 разів) вищим, ніж у крові здорових людей. Кількість IRS-1 у пацієнтів із COVID-19 і ЦД та ЦД+ССЗ вища, ніж у пацієнтів із COVID-19 без супутніх захворювань. У хворого на COVID-19, який помер від серцево-судинних ускладнень, рівень IRS-1 був у 15 разів вищий контрольного. **Висновок.** Рівні АроА1, АроВ, охLDL та IRS-1 можуть бути перспективними маркерами важкого перебігу захворювання на COVID-19.

Ключові слова: COVID-19, цукровий діабет, серцево-судинні захворювання, аполіпопротеїн А1, аполіпопротеїн В, окислені ліпопротеїни низької щільності, субстрат інсулінового рецептора-1, маркери.

Гідрофобні ліпіди не розчиняються в плазмі крові й для доставки до тканин вони упаковуються в ліпопротеїни з ефірами холестерину і тригліцеридами в серцевині та фосфоліпідами, вільним холестерином і аполіпопротеїнами на поверхні. Встановлено, що підвищений рівень холестерину ліпопротеїнів високої щільності та АроА1 у плазмі асоційований зі зниженим ризиком розвитку ССЗ. Окрім потенційної кардіопротекторної функції, ліпопротеїни високої щільності та АроА1, основні аполіпопротеїни HDL, також характеризуються протидіабетичними властивостями. Підвищення рівня ліпопротеїнів високої щільності та АроА1 у плазмі покращує глікемічний контроль у пацієнтів із ЦД 2-го типу за рахунок посилення функції β -клітин підшлункової залози та підвищення чутливості до інсуліну [1]. АроА1 також стимулює поглинання глюкози в скелетних та серцевих м'язах в умовах *in vivo* [2].

Гідрофобне ядро ліпопротеїнів низької щільності (low-density lipoprotein, LDL) складається з приблизно 170 тригліцеридів, 1500 складних ефірів холестерину, гідрофільної оболонки, що містить 700 молекул фосфоліпідів, близько 500 молекул нестерифікованого холестерину та однієї великої копії АроВ з молекулярною масою 500 кДа [3]. АроВ є основним аполіпопротеїном і носієм для наступних ліпідів: хіломікронів, LDL, ліпопротеїдів дуже низької щільності, ліпопротеїнів середньої щільності та ліпопротеїнів (а). АроВ не міститься в ліпопротеїнах високої щільності, останні відновлюються до ліпопротеїдів з АроА. Печінковий АроВ має молекулярну масу 540000 Да. У циркуляції є дві

форми АроВ — АроВ48 (із тонкої кишки) та АроВ100 (із печінки) [4].

В умовах окисного стресу модифікація LDL відбувається в процесі перекисного окислення ліпідів, в основному за участю молекул фосфоліпідів. При патологічних станах ліпопротеїни плазми, що містять АроВ, проникають через пошкоджений ендотелій у субендотеліальну інтиму судин, окислюючись ROS (reactive oxygen species). Таким чином, LDL модифікуються до охLDL [3, 5, 6].

Встановлено, що підвищений рівень холестерину ліпопротеїнів низької щільності, АроВ і, особливо, охLDL у плазмі крові асоціюється з підвищеним ризиком розвитку ССЗ. Співвідношення АроВ/АроА1 асоційоване з ЦД 2-го типу і пропонується як перспективний біомаркер для прогнозування ССЗ [7]. Мета-аналіз також показує, що підвищений рівень АроВ та знижений рівень АроА1, а також зростання співвідношення АроВ/АроА1 є факторами ризику першого ішемічного інсульту [8].

Інфекція COVID-19 пов'язана з дисліпідемією та серцево-судинними ускладненнями [9-14].

IRS є ключовим білком-адаптером, що опосередковує дію інсуліну та інсуліноподібних факторів росту (insulin-like growth factor, IGF) у клітинах [6, 15]. Домени РТВ (домени, що зв'язують фосфотирозин) і РН (домен гомології плекстрину) беруть участь у взаємодії рецептора з IRS. Фосфорильовані IRS є платформою для поширення сигналів інсуліну в клітині, спільною для інших рецепторних тирозинкіназ, таких як IGF-1R, сигнальна мережа якого майже не відрізняється

Оригінальні дослідження

від інсуліну [16]. IRS-1 є членом сімейства субстратів рецепторів інсуліну, який також пов'язаний з ініціацією та прогресуванням пухлини [17-19]. Надмірна експресія IRS-1 сприяє росту клітин, пригнічує спричинену окисним стресом автофагію і зменшує опосередковану таким стресом залежну від автофагії смерть клітин [20, 21].

Мета роботи — визначити вміст ApoA1, ApoB, oxLDL та IRS-1 у плазмі крові хворих на COVID-19, ЦД і ССЗ.

Матеріал і методи

Дослідження проводилось у відділі діабетології Інституту. Протокол дослідження було затверджено Комітетом з етики Інституту. Усі пацієнти підписали інформовану згоду на проведення подальшого діагностичного та наукового дослідження.

Кров отримували за допомогою стандартної венепункції та зберігали в пробірках з ЕДТА. Після забору крові плазму відокремлювали центрифугуванням протягом 10 хв. Зразки зберігали при -80°C до використання. Кількість ApoA1, ApoB, oxLDL та IRS-1 визначали за допомогою наборів для імуноферментного аналізу (ELISA) («Elabscience», США). Вимірювання проводили при довжині оптичної хвилі 450 нм на імуноферментному планшетному аналізаторі Stat Fax 3200 («Awareness Technology», США).

Глікований гемоглобін визначали за допомогою набору One HbA1c FS («DiaSys Diagnostic Systems GmbH», Німеччина). Вимірювання проводили при довжині оптичної хвилі 660 нм.

Статистичний аналіз та подання даних проводили за допомогою програмного забезпечення Origin 7.0. Результати дослідження представлені як $M \pm m$. Для порівняння груп даних було використано t-тест Стюдента. Значення $p < 0,05$ вважали значущими.

Результати та обговорення

Використовували плазму крові 60 хворих на ЦД (25 чоловіків і 35 жінок) та 21 хворого на ЦД, ССЗ і COVID-19 (10 чоловіків і 11 жінок). Контролем слугувала кров здорових людей ($n=7$) без супутніх захворювань, репре-

зентативних за віком. Четверо пацієнтів мали ССЗ в анамнезі. Рівень Hb1Ac у хворих на ЦД становив $9,62 \pm 0,27\%$; ІМТ — $30,69 \pm 1,06$ кг/м². Вміст глюкози натще в крові хворих на COVID-19 та ЦД становив $9,6 \pm 0,92$ ммоль/л, на момент виписки — $6,72 \pm 0,62$ ммоль/л. Усереднена сатурація O₂ становила $87,3 \pm 0,7\%$, що свідчить про важкий перебіг захворювання.

Середній рівень ApoA1 у крові здорових людей знаходиться на верхній межі норми (**таблиця**). У хворих на ЦД цей показник значно нижчий, ближче до нижньої межі норми. У хворих на ЦД, які вже перехворіли COVID-19, вміст ApoA1 у крові нижче норми. У хворих на ЦД та COVID-19 вміст ApoA1 у крові становить приблизно 0,26 г/л, що більше ніж у 4 рази нижче за нижню межу норми. Цікаво, що не існує відмінностей між пацієнтами з COVID-19 та ЦД, COVID-19 та ССЗ і пацієнтами з COVID-19 без супутніх захворювань (**таблиця**) [22]. У крові деяких пацієнтів із COVID-19 рівень ApoA1 знизився майже до нульових значень — 0,09 г/л.

Той факт, що рівень ApoA1 у крові не знижується в пацієнтів із COVID-19 та ЦД і ССЗ порівняно з пацієнтами без супутніх захворювань, свідчить про те, що COVID-19 формує

Таблиця. Рівень ApoA1 у плазмі крові у хворих на ЦД, ССЗ і COVID-19

Table. Plasma apolipoprotein A1 (ApoA1) levels in patients with diabetes mellitus (DM), cardiovascular diseases (CVD) and COVID-19

№	Групи Groups	Рівень ApoA1 (г/л) ApoA1 level, g/L
1	Контроль Control	$1,885 \pm 0,067$ (7)
2	Хворі на ЦД Patients with DM	$1,211 \pm 0,041$ (60)*
3	Хворі на ЦД після перенесеного COVID-19 Patients with DM after COVID-19	$0,976 \pm 0,020$ (8)* #
4	Хворі на ЦД і COVID-19 Patients with DM and COVID-19	$0,257 \pm 0,022$ (16)* ##
5	Хворі на COVID-19 Patients with COVID-19	$0,258 \pm 0,044$ (5)* ##
6	Хворі на COVID-19, ЦД і ССЗ Patients with COVID-19, DM and cardiovascular diseases	$0,294 \pm 0,006$ (5)* ##

Примітка: * — вірогідна різниця порівняно з групою 1 ($p < 0,0001$);

— вірогідна різниця порівняно з групою 2 ($p < 0,05$); ## — вірогідна різниця порівняно з групами 2 і 3 ($p < 0,001$).

Note: * — significant difference compared with the group 1 ($p < 0.0001$);

— significant difference compared with the group 2 ($p < 0.05$);

— significant difference compared with the groups 2 and 3 ($p < 0.001$).

комплекс значно потужніших факторів, які впливають на вміст АроА1, і таке зниження досягає нижньої межі.

Зниження рівня АроА1 у крові хворих на ЦД та збільшення ризику ССЗ були відзначені в багатьох дослідженнях [23-26]. COVID-19 суттєво впливав на ліпідні профілі зі зниженням рівнів загального холестерину, холестерину ліпопротеїнів високої щільності, холестерину ліпопротеїнів низької щільності та підвищеною концентрацією тригліцеридів порівняно з контрольними суб'єктами. Кількість АроА1 у плазмі пацієнтів зменшувалась на 55% порівняно з контролем [10]. У пацієнтів із COVID-19 спостерігалася гіполіпідемія, яка позитивно корелювала з тяжкістю захворювання [27]. АроА1 характеризуються протизапальними властивостями, які можуть сприяти регуляції імунної відповіді і зниження кількості цього ліпопротеїну впливає на тяжкість COVID-19. Більше того, порушення регуляції АроА1 може сприяти можливим побічними ефектам COVID-19 на нервову систему [9, 28].

Причиною зниження рівня АроА1 у плазмі може бути гальмування його синтезу в печінці та/або заміщення амілоїдом А в ліпопротеїнах високої щільності крові [10]. Крім того, хімаза, що продукується тучними клітинами, може відігравати важливу роль у деградації АроА1 [29].

Середній рівень АроВ у крові здорових людей становив $1,05 \pm 0,062$ г/л, що було в межах норми ($0,55$ - $1,3$ г/л для чоловіків та $0,6$ - $1,4$ г/л для жінок) (рис. 1). У хворих на ЦД цей показник вищий ($1,15 \pm 0,036$ г/л) і ближче до верхньої межі норми. У пацієнтів із COVID-19 вміст АроВ у крові значно вищий, ніж контрольні та нормальні значення (рис. 1, стовпчики 3-6). Слід зазначити різницю між пацієнтами з COVID-19 без супутніх захворювань та пацієнтами з COVID-19 і ЦД та особливо ССЗ (рис. 1, стовпчик 5 проти стовпчиків 4 і 6).

Подібна картина спостерігалась і для оxLDL (рис. 2). У хворих на ЦД рівень оxLDL вище контрольних значень. У пацієнтів із COVID-19 вміст оxLDL у крові набагато вищий, ніж контрольний рівень та вміст у хворих на ЦД (рис. 2, стовпчики 3-6). Існує також суттєва різниця між пацієнтами з COVID-19 без супутніх захворювань та пацієнтами з COVID-19, ЦД і ССЗ (рис. 2, стовпчик 5 проти стовпчиків 4 і 6). Таким чином, кількість АроВ та похідних LDL — оxLDL,

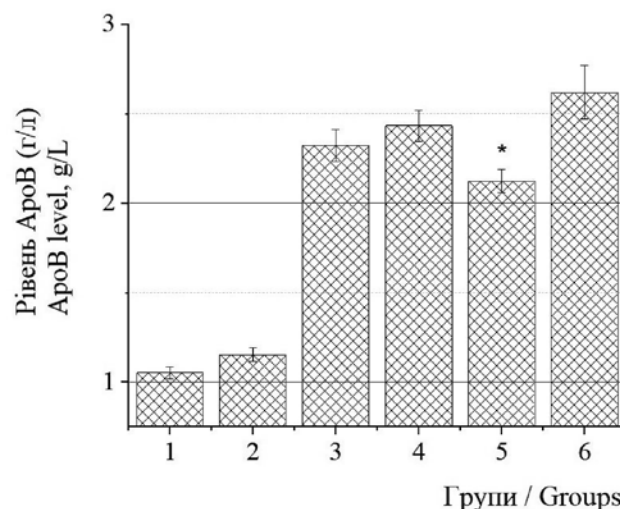


Рис. 1. Рівень АроВ у плазмі хворих на ЦД, ССЗ і COVID-19.

Примітка: 1 — контроль ($n=7$); 2 — хворі на ЦД 2-го типу ($n=60$); 3 — всі пацієнти з COVID-19 ($n=21$); 4 — пацієнти з COVID-19 та ЦД ($n=16$); 5 — пацієнти з COVID-19 без супутніх захворювань ($n=5$); 6 — пацієнти з COVID-19 та ССЗ ($n=4$); * — вірогідна різниця порівняно з групами 4 і 6 ($p<0,05$); вірогідна різниця між контролем та групами 2 ($p<0,05$) і 3-6 ($p<0,0001$).

Fig. 1. Plasma apolipoprotein B (ApoB) level of patients with DM, cardiovascular disease (CVD) and COVID-19.

Note: 1 — control ($n=7$); 2 — patients with DM ($n=60$); 3 — all patients with COVID-19 ($n=21$); 4 — patients with COVID-19 and DM ($n=16$); 5 — patients with COVID-19 without concomitant diseases ($n=5$); 6 — patients with COVID-19 and CVD ($n=4$); * — significant differences comparing with groups 4 and 6 ($p<0,05$); significant differences between control and groups 2 ($p<0,05$) and 3-6 ($p<0,0001$).

змінюється в крові хворих на ЦД та хворих на COVID-19 майже синхронно [14].

Доведено, що високий вміст LDL спричиняє накопичення холестерину на стінках судин, значно збільшує ризик атеросклерозу та ССЗ [5, 30, 31]. Через те, що АроВ є основним білком LDL, які є головним транспортером холестерину до клітин, визначення його концентрації свідчить про ступінь ризику розвитку ішемічної хвороби серця. Концентрація АроВ у крові зараз вважається більш надійним показником ризику розвитку атеросклерозу, ніж загальний холестерин або LDL-холестерин. Поряд із визначенням концентрації АроВ слід визначати і вміст АроА1. Якщо відношення концентрації АроВ до АроА1 >1 , то ризик розвитку ішемічної хвороби серця дуже високий. Пропонувалося встановити межу норми для АроВ $>1,2$ г/л. Для груп ризику рекомендується підтримувати вміст АроВ $<0,9$ г/л незалежно від статі. Що стосується граничних значень співвідношення АроВ/АроА1, то його можна використовувати для визначення рівня ризику для чоловіків ($<0,9$) і жінок ($<0,8$) [26, 30].

Оригінальні дослідження

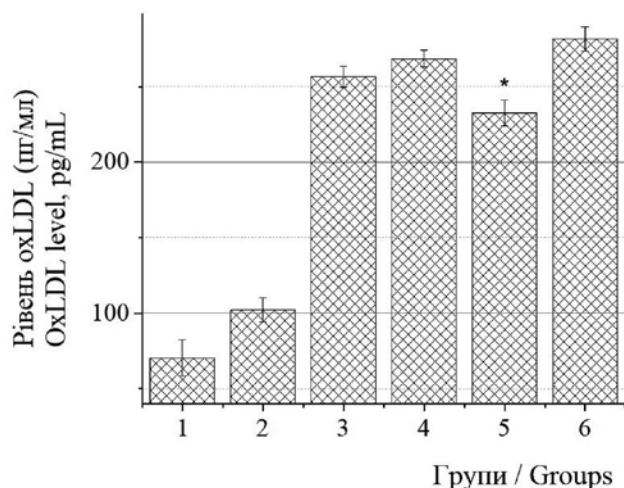


Рис. 2. Рівень oxLDL у плазмі крові у хворих на ЦД, ССЗ і COVID-19.

Примітка: 1 — контроль (n=7); 2 — хворі на ЦД (n=60); 3 — середні дані для всіх пацієнтів із COVID-19 (n=21); 4 — пацієнти з COVID-19 та діабетом (n=16); 5 — пацієнти з COVID-19 без супутніх захворювань (n=5); 6 — пацієнти з COVID-19 та ССЗ (n=4); * — вірогідна різниця порівняно з групами 4 і 6 (p<0,05); вірогідна різниця між контролем та групами 2 (p<0,05) і 3-6 (p<0,0001).

Fig. 2. Plasma oxidized low-density lipoprotein (oxLDL) levels in patients with DM, CVD and COVID-19.

Note: 1 — control (n=7); 2 — patients with type 2 DM (n=60); 3 — all patients with COVID-19 (n=21); 4 — patients with COVID-19 and DM (n=16); 5 — patients with COVID-19 without comorbidities (n=5); 6 — patients with COVID-19 and CVD (n=4); * — significant differences comparing with groups 4 and 6 (p<0.05); significant differences between control and groups 2 (p<0.05) and 3-6 (p<0.0001).

За нашими даними в контрольній групі співвідношення АроВ/АроА1 було в межах норми (0,558), при ЦД — дещо вище від граничних значень (0,952), а при інфекції COVID-19 у хворих на ЦД (9,041) та ССЗ (9,993) зростало на порядок порівняно з хворими на ЦД, що свідчить про надзвичайно високий ризик серцево-судинних ускладнень.

Атеросклероз характеризується як хронічна запальна реакція на відкладення холестерину в артеріях. LDL, особливо окислена форма — oxLDL, відіграють вирішальну роль у виникненні та розвитку атеросклерозу, індукуючи дисфункцію клітин ендотелію, залучаючи моноцити/макрофаги та сприяючи хронічному запаленню. Макрофаги поглинають oxLDL з утворенням пінистих клітин, які в кінцевому підсумку вивільняють прозапальні цитокіни та посилюють місцеве запалення [12, 20].

Ми показали, що рівні АроВ і oxLDL підвищуються з високою вірогідністю ($p=5,85 \times 10^{-8}$ та $p=2,46 \times 10^{-11}$ відповідно), що свідчить про зростання ризику ССЗ.

Дисліпідемія, пов'язана з тяжким гострим респіраторним синдромом (severe acute respiratory syndrome, SARS), підтверджувалась неодноразово. Однак деякі автори виявили, що рівні загального холестерину, холестерину ліпопротеїнів низької та високої щільності в сироватці крові були значно нижчими в пацієнтів із COVID-19 порівняно з нормальними суб'єктами [12, 27]. Було зроблено висновок, що в пацієнтів із COVID-19 гіполіпідемія розвивається, коли симптоми виражені слабо, і погіршується з тяжкістю захворювання [27]. Але автори використовують поняття «гіполіпідемії» для позначення пацієнтів із рівнем загального холестерину <174 мг/дл. Це визначення гіполіпідемії є неправильним по суті за відсутності генетичного діагнозу [32]. Відсоток пацієнтів із високим серцево-судинним ризиком може пояснити отримані результати щодо рівня LDL. Низький рівень холестерину LDL у цій групі, ймовірно, був обумовлений більш інтенсивним зниженням рівня ліпідів у результаті терапії. Крім того, у нашій роботі вивчався вміст АроВ, а не холестерину ліпопротеїнів низької щільності, а вони можуть мати різну динаміку. У наших хворих на COVID-19 був значно знижений тільки рівень АроА1.

Середній рівень IRS-1 у крові здорових людей становить <0,1 нг/мл (рис. 3). У хворих на ЦД цей показник вищий — $0,12 \pm 0,007$ нг/мл. Кількість IRS-1 у крові здорових людей із COVID-19 істотно вища — $0,33 \pm 0,059$ нг/мл. У хворих на ЦД та COVID-19 вміст IRS-1 у крові становить >0,4 нг/мл, що більш ніж у 4 рази перевищує нормальні значення. У крові хворих на ЦД із COVID-19 і ССЗ рівень IRS-1 додатково підвищився до $0,57 \pm 0,033$ нг/мл. Таким чином, рівень IRS-1 зростає зі збільшенням кількості супутніх захворювань на COVID-19 [33]. Варто відмітити, що у хворого на COVID-19, який помер від серцево-судинних ускладнень, рівень IRS-1 був 1,385 нг/мл.

Як видно з наших даних та результатів, отриманих іншими авторами, рівень IRS у крові здорових людей досить низький. Однак при серйозних захворюваннях, таких як рак, він збільшується більш ніж вдвічі. Було виявлено дуже значне підвищення рівня IRS-1 у сироватці при карциномі носоглотки порівняно з таким у здорових людей. Вважають, що рівень IRS-1 у крові може бути потенційним біомаркером при діагностиці раку [21]. У крові хворих на COVID-19

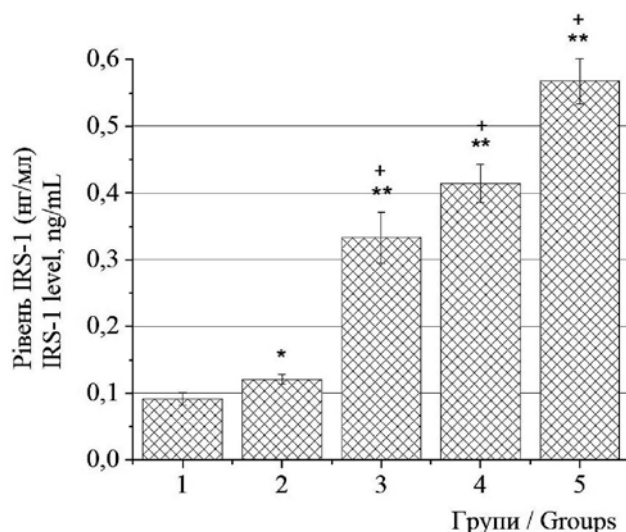


Рис. 3. Рівні IRS-1 у плазмі пацієнтів із ЦД, ССЗ та COVID-19.

Примітка: 1 — контроль (n=7); 2 — хворі на ЦД (n=60); 3 — хворі на COVID-19 без супутніх захворювань (n=5); 4 — хворі на ЦД та COVID-19 (n=16); 5 — хворі на ЦД з COVID-19 та ССЗ (n=4); вірогідна різниця порівняно з контролем (* — $p < 0.05$; ** — $p < 0.0001$); + — вірогідна різниця порівняно з попередньою групою ($p < 0.05-0.001$).

Fig. 3. Plasma insulin receptor substrate-1 (IRS-1) levels of patients with DM, CVD and COVID-19.

Note: 1 — control (n=7); 2 — patients with DM (n=60); 3 — patients with COVID-19 (n=5); 4 — patients with DM and COVID-19 (n=16); 5 — patients with DM, COVID-19 and CVD (n=5); significant differences compared to control (* — $p < 0.05$, ** — $p < 0.0001$); + — significant differences compared to previous group ($p < 0.05-0.001$).

та супутні захворювання кількість IRS-1 зростає більше ніж у 6 разів. Поки неясно, що є причиною цього явища і який механізм його появи в плазмі крові. Швидше за все, його джерелом є клітини крові або пухлинні клітини у випадку раку. Фізіологічна роль IRS не обмежується метаболізмом глюкози і ростом. Відомо, що, крім участі в опосередкуванні дії факторів росту, IRS бере участь і в інших сигнальних механізмах, які ще недостатньо вивчені. IRS-1 підтримує здоров'я судин, а IRS-1 і IRS-2 регулюють обмін кісток і диференціювання адипоцитів [34-36].

Висновки

Рівень АроА1 у крові хворих на ЦД і особливо COVID-19 був значно нижчим, ніж у крові здорових людей.

Рівень АроВ та оxLDL у крові хворих на ЦД і особливо COVID-19 був значно вищим, ніж у крові здорових людей.

Спостерігались відмінності між пацієнтами з COVID-19 без супутніх захворювань та COVID-19 із ЦД або ССЗ.

Рівень IRS-1 у плазмі крові хворих на COVID-19 був значно вищим, ніж у крові здорових людей. Рівень IRS-1 у хворих на COVID-19 із ЦД та ЦД+ССЗ значно вищий, ніж у пацієнтів із COVID-19 без супутніх захворювань.

Рівні АроА1, АроВ, оxLDL та IRS-1 можуть бути перспективними маркерами важкого перебігу захворювання на COVID-19.

Список використаної літератури

1. Rye KA, Barter PJ, Cochran BJ. Apolipoprotein A-I interactions with insulin secretion and production. *Curr Opin Lipidol*. 2016 Feb;27(1):8-13. doi: 10.1097/MOL.0000000000000253.
2. Fritzen AM, Domingo-Espin J, Lundsgaard AM, Kleinert M, Israelsen I, Carl CS, et al. ApoA-1 improves glucose tolerance by increasing glucose uptake into heart and skeletal muscle independently of AMPK α . *Mol Metab*. 2020 May;35:100949. doi: 10.1016/j.molmet.2020.01.013.
3. Khatana C, Saini NK, Chakrabarti S, Saini V, Sharma A, Saini RV, et al. Mechanistic insights into the oxidized low-density lipoprotein-induced atherosclerosis. *Oxid Med Cell Longev*. 2020 Sep 15;2020:5245308. doi: 10.1155/2020/5245308.
4. Devaraj S, Seman JR, Jialal I. *Biochemistry, Apolipoprotein B*. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538139/> [Accessed 25th Jan 2022].
5. Соколова ЛК, Пушкарєв ВМ, Пушкарєв ВВ, Ковзун ЕІ, Тронько НД. Сахарний діабет і атеросклероз. Роль процесів запалення в патогенезі (обзор літератури). Міжнародний ендокринологічний журнал. 2017;13(7):486-98 (Sokolova LK, Pushkarev VM, Pushkarev VV, Kovzun OI, Tronko ND. Diabetes mellitus and atherosclerosis. The role of inflammatory processes in pathogenesis (literature review). *International Journal of Endocrinology (Ukraine)*. 2017;13(7):486-98. Russian). doi: 10.22141/2224-0721.13.7.2017.115747.
6. Тронько НД, Пушкарєв В., Соколова ЛК, Пушкарєв ВВ, Ковзун ЕІ. Молекулярні механізми патогенезу сахарного діабета і його ускладнень. К.: Видавничий дім «Медкніга»; 2018. 264 с. (Tronko ND, Pushkarev VM, Sokolova LK, Pushkarev VV, Kovzun OI. Molecular mechanisms of pathogenesis of diabetes and its complications. Kyiv: Publishing house «Medkniga»; 2018. 264 p. Russian).
7. Mao Y, Xu Y, Lu L. The nonlinear association between apolipoprotein B to apolipoprotein A1 ratio and type 2 diabetes. *Medicine (Baltimore)*. 2017 Jan;96(1):e5834. doi: 10.1097/MD.0000000000005834.
8. Dong H, Chen W, Wang X, Pi F, Wu Y, Pang S, et al. Apolipoprotein A1, B levels, and their ratio and the risk of a first stroke: a meta-analysis and case-control study. *Metab Brain Dis*. 2015 Dec;30(6):1319-30. doi: 10.1007/s11011-015-9732-7.
9. Zamanian Azodi M, Arjmand B, Zali A, Razzaghi M. Introducing APOA1 as a key protein in COVID-19 infection: a bioinformatics approach. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench*. 2020 Fall;13(4):367-373.
10. Begue F, Tanaka S, Mouktadi Z, Rondeau P, Veeren B, Diotel N, et al. Altered high-density lipoprotein composition and functions during severe COVID-19. *Sci Rep*. 2021 Jan 27;11(1):2291. doi: 10.1038/s41598-021-81638-1.
11. Feingold KR. The bidirectional link between HDL and COVID-19 infections. *J Lipid Res*. 2021;62:100067. doi: 10.1016/j.jlr.2021.100067.
12. Kočar E, Režen T, Rozman D. Cholesterol, lipoproteins, and COVID-19: Basic concepts and clinical applications. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*. 2021 Feb;1866(2):158849. doi: 10.1016/j.bbalip.2020.158849.
13. Соколова ЛК, Бельчіна ЮБ, Черв'якова СА, Пушкарєв ВВ, Фурманова ОВ, Ковзун ОІ, та ін. Рівень аполіпопротеїну А1 у хворих на цукровий діабет і коморбідні захворювання на тлі COVID-19. Ендокринологія. 2021;26(3):263-70 (Sokolova LK, Belchina YuB, Chervyakova SA, Pushkarev VV, Furmanova OV, Kovzun OI, et al. The level of apolipoprotein A1 in patients with diabetes mellitus and comorbid diseases on the background of COVID-19. *Endokrynologia*.

Оригінальні дослідження

- 2021;26(3):263-70. Ukrainian). doi: 10.31793/1680-1466.2021.26-3.263.
14. Pushkarev VV, Sokolova LK, Chervyakova SA, Belchina YB, Kovzun OI, Pushkarev VM. Plasma apolipoproteins A1/B and oxLDL levels in patients with COVID-19 as possible markers of the disease. *Cytol Genet.* 2021;55(6):519-23. doi: 10.3103/S0095452721060116.
 15. Тронько НД, Ковзун ЕІ, Пушкарєв ВВ, Соколова ЛК, Пушкарєв ВМ. Рецепція і внутриклеточные механизмы действия инсулина (часть 1). *Ендокринологія.* 2018;23(3):269-80 (Tronko ND, Kovzun EI, Pushkarev VV, Sokolova LK, Pushkarev VM. Reception and intracellular mechanisms of insulin action (part 1). *Endokrynologia.* 2018;23(3):269-80. Russian).
 16. Semple RK. EJE PRIZE 2015: How does insulin resistance arise, and how does it cause disease? Human genetic lessons. *Eur J Endocrinol.* 2016 May;174(5):R209-23. doi: 10.1530/EJE-15-1131.
 17. Esposito DL, Aru F, Lattanzio R, Morgano A, Abbondanza M, Malekzadeh R, et al. The insulin receptor substrate 1 (IRS1) in intestinal epithelial differentiation and in colorectal cancer. *PLoS One.* 2012;7(4):e36190. doi: 10.1371/journal.pone.0036190.
 18. Porter HA, Perry A, Kingsley C, Tran NL, Keegan AD. IRS1 is highly expressed in localized breast tumors and regulates the sensitivity of breast cancer cells to chemotherapy, while IRS2 is highly expressed in invasive breast tumors. *Cancer Lett.* 2013 Sep 28;338(2):239-248. doi: 10.1016/j.canlet.2013.03.030.
 19. Luo J, Wen Q, Li J, Xu L, Chu S, Wang W, et al. Increased expression of IRS-1 is associated with lymph node metastasis in nasopharyngeal carcinoma. *Int J Clin Exp Pathol.* 2014 Aug 15;7(9):6117-24.
 20. Sun X, Chen Y, Tan J, Qi X. Serum *IRS-1* acts as a novel biomarker for diagnosis in patients with nasopharyngeal carcinoma. *Int J Clin Exp Pathol.* 2018 Jul 1;11(7):3685-3690.
 21. Chan SH, Kikkawa U, Matsuzaki H, Chen JH, Chang WC. Insulin receptor substrate-1 prevents autophagy-dependent cell death caused by oxidative stress in mouse NIH/3T3 cells. *J Biomed Sci.* 2012 Jul 12;19(1):64. doi: 10.1186/1423-0127-19-64.
 22. Tronko MD, Chervyakova SA, Pushkarev VV, Belchina YV, Kovzun OI, Pushkarev VM, et al. Apolipoprotein A1 level in plasma of patients with diabetes and diabetic patients with COVID-19 as a possible marker of disease. *Rep Nac Acad Sci Ukr.* 2021;4:110-3. doi: 10.15407/dopovidi2021.04.110.
 23. Cochran BJ, Ong KL, Manandhar B, Rye KA. High density lipoproteins and diabetes. *Cells.* 2021;10(4):850. doi: 10.3390/cells10040850.
 24. Gao L, Zhang Y, Wang X, Dong H. Association of apolipoproteins A1 and B with type 2 diabetes and fasting blood glucose: a cross-sectional study. *BMC Endocr Disord.* 2021 Apr 1;21(1):59. doi: 10.1186/s12902-021-00726-5.
 25. Retnakaran R, Ye C, Connelly PW, Hanley AJ, Sermer M, Zinman B. Serum apoA1 (apolipoprotein A-1), insulin resistance, and the risk of gestational diabetes mellitus in human pregnancy-brief report. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2019 Oct;39(10):2192-2197. doi: 10.1161/ATVBAHA.119.313195.
 26. Соколова ЛК. Фактори ризику і клініко-діагностичні аспекти серцево-судинної патології у хворих на цукровий діабет 1 та 2 типу: Автореф. дис. д-ра мед. наук. ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України». Київ, 2014. 42 с. (Sokolova LK. Risk factors and clinical and diagnostic aspects of cardiovascular pathology in patients with type 1 and 2 diabetes mellitus. (Extended abstract of Doctor thesis). SI «V.P. Komisarenko State Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv, Ukraine. 2014. 42 p. (Ukrainian).
 27. Wei X, Zeng W, Su J, Wan H, Yu X, Cao X, et al. Hypolipidemia is associated with the severity of COVID-19. *J Clin Lipidol.* 2020 May-Jun;14(3):297-304. doi: 10.1016/j.jacl.2020.04.008.
 28. Yang Y, Zhu Z, Fan L, Ye S, Lou K, Hua X, et al. Low serum level of apolipoprotein A1 is an indicator of severity in patients with coronavirus disease 2019. 2020. doi: 10.21203/rs.3.rs-31251/v1.
 29. Inoue Y, Okamoto T, Honda T, Nukui Y, Akashi T, Takemura T, et al. Disruption in the balance between apolipoprotein A-I and mast cell chymase in chronic hypersensitivity pneumonitis. *Immun Inflamm Dis.* 2020 Dec;8(4):659-671. doi: 10.1002/iid3.355.
 30. Sniderman AD, Thanassoulis G, Glavinovic T, Navar AM, Pencina M, Catapano A, et al. Apolipoprotein B Particles and Cardiovascular Disease: A Narrative Review. *JAMA Cardiol.* 2019 Dec 1;4(12):1287-95. doi: 10.1001/jamacardio.2019.3780.
 31. Yan Y, Song D, Wu J, Wang J. Long Non-Coding RNAs Link Oxidized Low-Density Lipoprotein With the Inflammatory Response of Macrophages in Atherogenesis. *Front Immunol.* 2020 Jan 30;11:24. doi: 10.3389/fimmu.2020.00024.
 32. Fogacci F, Borghi C, Cicero AFG. Misinterpreting data in lipidology in the era of COVID-19. *J Clin Lipidol.* 2020 Jul-Aug;14(4):543-4. doi: 10.1016/j.jacl.2020.07.004.
 33. Tronko MD, Pushkarev VV, Sokolova LK, Chervyakova SA, Belchina YuB, Kovzun OI, et al. Effects of COVID-19, diabetes mellitus, and cardiovascular diseases on insulin receptor substrate-1 amount in the blood plasma of patients. *Dopov. Nac. Akad. Nauk Ukr.* 2021;5:114-7. doi: 10.15407/dopovidi2021.05.114.
 34. Hakuno F, Fukushima T, Yoneyama Y, Kamei H, Ozoe A, Yoshihara H, et al. The novel functions of high-molecular-mass complexes containing insulin receptor substrates in mediation and modulation of insulin-like activities: emerging concept of diverse functions by IRS-associated proteins. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2015 May 26;6:73. doi: 10.3389/fendo.2015.00073.
 35. Reuveni H, Flashner-Abramson E, Steiner L, Makedonski K, Song R, Shir A, et al. Therapeutic destruction of insulin receptor substrates for cancer treatment. *Cancer Res.* 2013 Jul 15;73(14):4383-94. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-3385.
 36. Mardilovich K, Pankratz SL, Shaw LM. Expression and function of the insulin receptor substrate proteins in cancer. *Cell Commun Signal.* 2009 Jun 17;7:14. doi: 10.1186/1478-811X-7-14.

Список скорочень

ССЗ — серцево-судинні захворювання

ЦД — цукровий діабет

АпоА1 — аполіпопротеїн А1 АпоВ — аполіпопротеїн В

COVID-19 — COroNaVirus Disease 2019

IRS-1 — субстрат інсулінового рецептора-1

LDL — ліпопротеїни низької щільності

oxLDL — окислені ліпопротеїни низької щільності

Levels of apolipoproteins A1 / B, oxidized low-density lipoproteins and insulin-1 receptor substrate in the blood plasma of patients with COVID-19 and comorbid diseases as possible severe disease markers

V.V. Pushkarev, L.K. Sokolova, O.V. Furmanova, O.A. Vishnevskaya, S.A. Chervyakova, Y.B. Belchina, O.I. Kovzun, V.M. Pushkarev

State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine»

Abstract. Elevated plasma levels of high-density lipoprotein cholesterol and apolipoprotein A1 (ApoA1) have been found to be associated with a reduced risk of developing cardiovascular disease (CVD). Elevated plasma levels of low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), apolipoprotein B (ApoB) and especially oxidized low-density lipoprotein (oxLDL) are associated with an increased risk of CVD. COVID-19 infection is associated with dyslipidemia and cardiovascular complications. **The aim** of the work was to determine the content of ApoA1, ApoB, oxLDL and insulin receptor substrate-1 (IRS-1) in the blood plasma of patients (n=81) with COVID-19, diabetes mellitus (DM) and CVD. **Material and methods.** ApoA1, ApoB, and oxLDL were determined using ELISA kits (Elabscience, USA). The measurement was carried out at a wavelength of 450 nm. **Results.** It was shown that the amount of ApoA1 in the blood of diabetic patients and especially those with

COVID-19 was significantly lower than in the blood of healthy people. Blood levels of ApoA1 do not show further decline in either COVID-19 patients or those with DM or CVD compared with patients with COVID-19 and without comorbidities. It has been established that the level of ApoB and oxLDL in the blood of patients with DM and especially those with COVID-19 is significantly higher than in the blood of healthy people. Blood levels of ApoB and oxLDL are higher in patients with COVID-19 and diabetes or CVD compared with patients with COVID-19 without comorbidities. The ratio of ApoB/ApoA1 concentrations during COVID-19 infection increased by an order of magnitude compared with diabetic patients, indicating a high risk of cardiovascular complications. The IRS is a key adapter protein that mediates the action of insulin and insulin-like growth factors in cells. Plasma levels of IRS-1 in patients with COVID-19 were much (from 3.5 to more than 6 times) higher than in healthy controls. The number of IRS-1 in patients with COVID-19 and DM, and DM + CVD is higher than in patients with COVID-19 without comorbidities. In a patient with COVID-19 who died from cardiovascular complications, the level of IRS-1 was 15 times higher than the control. **Conclusion.** Thus, levels of ApoA1, ApoB, oxLDL, and IRS-1 may be promising markers for the severe course of COVID-19 disease.

Keywords: COVID-19, diabetes mellitus, cardiovascular diseases, apolipoprotein A1, apolipoprotein B, oxidized low-density lipoprotein, insulin receptor-1 substrate.

Для цитування: Пушкар'єв ВВ, Соколова ЛК, Фурманова ОВ, Вишневецька ОА, Червякова СА, Бельчина ЮБ, Ковзун ОІ, Пушкар'єв ВМ. Рівні аполіпопротеїнів А1/В, окислених ліпопротеїнів низької щільності та субстрату рецептора інсуліну-1 у плазмі крові хворих на COVID-19 і коморбідні захворювання, як можливі маркери важкості хвороби. *Ендокринологія*. 2022;27(2):106-113. DOI: 10.31793/1680-1466.2022.27-2.106.

Адреса для листування: Пушкар'єв Володимир Михайлович, pushkarev.vm@gmail.com, ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», вул. Вишгородська, 69, Київ 04114, Україна.

Відомості про авторів: Пушкар'єв Віктор Володимирович, канд. біол. наук, старш. наук. співроб. відділу фундаментальних і прикладних проблем ендокринології, ORCID: 0000-0001-5940-5510; Соколова Любов Костянтинівна, д-р мед. наук, старш. наук. співроб., завідувачка відділу діабетології, ORCID: 0000-0003-0011-0106; Фурманова Ольга Валентинівна, наук. співроб. відділу профілактичної діабетології, головний лікар клініки, ORCID: 0000-0002-9414-7761; Вишневецька Ольга Анатоліївна; канд. мед. наук, старш. наук. співроб. відділу дитячої ендокринної патології, заступник головного лікаря клініки, ORCID: 0000-0002-8668-8381; Червякова Світлана Анатоліївна, молод. наук. співроб. відділу діабетології, ORCID: 0000-0002-6917-5736; Бельчина Юлія Богуславівна, канд. мед. наук, старш. наук. співроб. відділу діабетології, ORCID: 0000-0002-4289-8977; Ковзун Олена Ігорівна, д-р біол. наук, проф., чл.-кор. НАМН України, заступник директора Інституту з наукових питань, ORCID: 0000-0001-8164-7671; Пушкар'єв Володимир Михайлович, д-р біол. наук, старш. наук. співроб., головний науковий співробітник відділу фундаментальних і прикладних проблем ендокринології, ORCID: 0000-0003-0347-7771.

Особистий внесок: Пушкар'єв В.В. — проведення лабораторних досліджень, оформлення статті та переклад; Соколова Л.К. і

Пушкар'єв В.М. — аналіз даних, аналіз літературних джерел і написання тексту; Фурманова О.В., Вишневецька О.А., Червякова С.А. і Бельчина Ю.Б. — підбір та клінічне обстеження пацієнтів та осіб контрольної групи, збір і підготовка біоматеріалів; Ковзун О.І. — написання і редагування тексту.

Фінансування: стаття підготовлена в рамках бюджетного фінансування НАМН України за планом науково-дослідних робіт ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України».

Декларація з етики: автори задекларували відсутність конфлікту інтересів і фінансових зобов'язань.

Стаття: надійшла до редакції 11.02.2022 р.; перероблена 16.05.2022 р.; прийнята до друку 21.06.2022 р.; надрукована 30.06.2022 р.

For citation: Pushkarev VV, Sokolova LK, Furmanova OV, Vishnevskaya OA, Chervyakova SA, Belchina YB, Kovzun OI, Pushkarev VM. Levels of apolipoproteins A1/B, oxidized low-density lipoproteins and insulin-1 receptor substrate in the blood plasma of patients with COVID-19 and comorbid diseases as possible severe disease markers. *Endokrynologia*. 2022;27(2):106-113. DOI: 10.31793/1680-1466.2022.27-2.106.

Correspondence address: Pushkarev Volodymyr Mykhaylovych, pushkarev.vm@gmail.com, State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine», 69, Vyshgorodska Str., Kyiv 04114, Ukraine.

Information about the authors: Pushkarev Viktor Volodymyrovych, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher of the Department of Fundamental and Applied Problems of Endocrinology, ORCID: 0000-0001-5940-5510; Sokolova Lyubov Kostyantynivna, Dr. Sci. (Medicine), Senior Research Fellow, Head of the Diabetology Department, ORCID: 0000-0003-0011-0106; Furmanova Olga Valentynivna, Researcher of the Department of Preventive Diabetology, Chief Physician of the Clinic, ORCID: 0000-0002-9414-7761; Vishnevskaya Olga Anatoliyivna, Cand. Sci. (Medicine), Senior Researcher of the Pediatric Endocrine Pathology Department, Deputy Chief Physician of the Clinic, ORCID: 0000-0002-8668-8381; Chervyakova Svitlana Anatoliyivna, Junior Researcher of the Diabetology Department, ORCID: 0000-0002-6917-5736; Belchina Yulia Boguslavivna, Cand. Sci. (Medicine), Senior Researcher of the Diabetology Department, ORCID: 0000-0002-4289-8977; Kovzun Olena Ihorivna, Dr. Sci. (Biology), Prof., Corresponding Member of NAMS of Ukraine, Deputy Director of the Institute for Scientific Affairs, ORCID: 0000-0001-8164-7671; Pushkarev Volodymyr Mykhaylovych, Dr. Sci. (Biology), Senior Research Fellow, Chief Researcher of the Department of Fundamental and Applied Problems of Endocrinology, ORCID: 0000-0003-0347-7771.

Personal contribution: Pushkarev V.V. — conducting laboratory research, article design and translation; Sokolova L.K. and Pushkarev V.M. — data analysis, analysis of literature sources and text writing; Furmanova O.V., Vishnevskaya O.A., Chervyakova S.A. and Belchina Yu.B. — selection and clinical examination of patients and persons of the control group, collection and preparation of biomaterials; Kovzun O.I. — text writing and editing.

Funding: the article was prepared within the budget funding of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine according to the plan of research work of the State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine».

Declaration of ethics: the authors declared the absence of a conflict of interest and financial obligations.

Article: received February 11, 2022; revised May 16, 2022; accepted June 21, 2022; published June 30, 2022.