

## РЕГУЛЯЦІЯ ПРОТИЗАПАЛЬНИМИ ЦИТОКІНАМИ МЕТАБОЛІЗМУ L-АРГІНІНУ У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 1-ГО ТИПУ

**РЕЗЮМЕ.** У роботі розглянуто особливості впливу протизапальних цитокінів на ферментативні шляхи метаболізму L-аргініну у хворих на цукровий діабет 1-го типу. Встановлено, що зниження рівня протизапальних IL-4 та IL-10 асоціюється з пригніченням аргіназного та активацією NO-синтазного шляху перетворення аргініну.

**Мета** – дослідити вплив протизапальних цитокінів на метаболізм L-аргініну за умов цукрового діабету I типу.

**Матеріал і методи.** Обстежено 28 хворих на ЦД 1-го типу. Контрольну групу становили 15 практично здорових осіб аналогічного вікового діапазону.

Забір крові здійснювали вранці натще з ліктьової вени в об'ємі 5 мл під час госпіталізації пацієнтів. Концентрацію глюкози в крові визначали глюкозооксидазним методом; за нормальні значення приймали показники в межах 3,5–6,0 ммоль/л. У сироватці крові хворих визначали активність ендотеліальної NO-синтази (eNOS), активність аргінази, концентрацію аргініну, рівень протизапальних цитокінів IL-4 та IL-10 імуноферментним методом.

**Результати.** У хворих на цукровий діабет 1-го типу виявлено зниження рівнів протизапальних цитокінів IL-4 на 43 % та IL-10 на 20 %, що свідчить про активацію імунопатологічних процесів. Активність аргінази у сироватці крові знижувалася на 28 %, тоді як активність eNOS підвищувалася на 33,4 %, при одночасному зменшенні вмісту L-аргініну в 1,3 раза. Це вказує на переважання NO-синтазного шляху перетворення аргініну, що тимчасово компенсує судинну дисфункцію. Баланс між активністю та ендотеліальної NO-синтази та аргінази є важливим для підтримання судинного гомеостазу при ЦД 1-го типу.

**Висновки.** Зниження рівня протизапальних цитокінів IL-4 та IL-10 при діабеті 1-го типу сприяє зростанню рівня оксиду азоту внаслідок активації NO-синтазного шляху перетворення аргініну, що дозволяє частково послабити запальне uszkodження ендотелію навіть за умов хронічної гіперглікемії.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** цукровий діабет 1-го типу; L-аргінін; аргіназа; ендотеліальна NO-синтаза; протизапальні цитокіни.

**Вступ.** Цукровий діабет 1-го типу (ЦД1) є хронічним аутоімунним захворюванням, що характеризується стійкою гіперглікемією та системними метаболічними порушеннями. Одним із ключових механізмів розвитку ускладнень при ЦД1 є діабетична ангіопатія, яка визначає високий ризик розвитку ендотеліальної дисфункції [1, 2].

Порушення функціональної активності ендотелію в умовах гіперглікемії зумовлене, перш за все, зниженням синтезу і біодоступності оксиду азоту (NO), який виступає універсальною сигнальною молекулою, що регулює судинний тонус, тромборезистентність, проліферацію клітин та захист від окисного стресу [3,4].

Оксид азоту синтезується із L-аргініну за участю NO-синтазного (NOS) шляху. L-аргінін є спільним субстратом для NOS та аргіназ, які конкурують за нього. Посилення активності аргіназ зменшує доступність L-аргініну для eNOS. Цей процес посилюється при хронічному запаленні, що є типовим для ЦД1 [5].

Запальний компонент при ЦД1 супроводжується дисбалансом прозапальних і протизапальних цитокінів. Прозапальні цитокіни (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ ) індуюють експресію iNOS, стимулюють ар-

гіназну активність і пригнічують eNOS, тоді як протизапальні цитокіни (IL-10, TGF- $\beta$ ) можуть чинити протекторний ефект, зменшуючи вираженість запалення та впливаючи на активність ферментів різних метаболічних шляхів [6]. Однак регуляторний вплив протизапальних цитокінів (IL-4, IL-10) на активність ферментів аргіназного та NO-синтазного шляхів у хворих на ЦД1 вивчений недостатньо. З'ясування ролі протизапальних цитокінів у регуляції метаболізму L-аргініну та активності відповідних ферментів є важливим для розуміння механізмів розвитку ендотеліальної дисфункції при діабеті та може визначити нові терапевтичні підходи для покращення процесу лікування хворих на цукровий діабет 1-го типу.

**Мета дослідження** – встановити особливості впливу протизапальних цитокінів на активність ферментів аргіназного та NO-синтазного шляхів метаболізму L-аргініну у хворих на цукровий діабет 1-го типу.

**Матеріал і методи дослідження.** У дослідженні використовували венозну кров 28 чоловіків віком 30–40 років, хворих на цукровий діабет 1-го типу. Контрольну групу становили 15 практично здорових осіб аналогічного вікового діапазону.

Забір крові здійснювали вранці натще з ліктьової вени в об'ємі 5 мл під час госпіталізації пацієнтів. Концентрацію глюкози в крові визначали глюкозооксидазним методом; за нормальні значення приймали показники в межах 3,5–6,0 ммоль/л. У сироватці крові визначали активність NO-синтази (NOS) за методом Сумбаєва В. В. та Ясинської І. М. [7], активність аргінази – за методом Geyer J. W. і Dabich D. [8], концентрацію L-аргініну – за методом Алейникова Т. Л. [9]. Рівень цитокінів у сироватці визначали імуноферментним методом із використанням аналізатора «Stat Fax 303» (Awareness Technology, США) та тест-систем виробництва «БЕКТОР-БЕСТ Україна».

Результати досліджень аналізували методом варіаційної статистики за допомогою програми STATISTICA 8.0 (Statsoft, USA). Результати у таблицях представляли у вигляді  $M \pm m$ . Для порівняння середніх абсолютних величин у різних групах застосовували t-критерій Стьюдента.

**Результати й обговорення.** Одним із ключових механізмів у патогенезі ЦД1 є порушення балансу цитокінів в напрямку неконтрольованого викиду прозапальних цитокінів, що призводить до формування хронічного запального процесу,

що було показано нами у попередніх дослідженнях [6, 10].

Протизапальні цитокіни відіграють захисну роль, сприяючи збереженню функцій  $\beta$ -клітин. Серед них особливе значення мають IL-10, IL-4. Ці протизапальні інтерлейкіни продукуються макрофагами Т-хелперами 2-го типу та відіграють роль інгібіторів клітинної і стимуляторів гуморальної імунної відповіді. Обидва медіатори мають виражену імуномодулювальну дію, спрямовану на зниження активності прозапальних сигнальних шляхів [11].

Відомо, що протизапальна дія IL-4 реалізується шляхом пригнічення функції макрофагів і зниженням секреції ними IL-1 $\beta$ , що призводить до зменшення симптомів запалення [12]. У свою чергу, IL-10 пригнічує синтез прозапальних цитокінів (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-12) макрофагами та дендритними клітинами, знижує експресію молекул МНС II і костимуляторних молекул (CD80/CD86), обмежуючи активацію Т-клітин [13].

Установлено, що у хворих на ЦД 1-го типу перебіг захворювання супроводжувався зниженням вмісту обох протизапальних цитокінів: рівень IL-4 знижувався на 43 %, а рівень IL-10 – на 20 % відносно контролю (табл. 1).

Таблиця 1. Рівень протизапальних інтерлейкінів у сироватці крові хворих ЦД 1-го типу

Досліджувані показники	Контроль	Дослід
IL-4, пг/мл	2,27 $\pm$ 0,14	1,29 $\pm$ 0,32*
IL-10, пг/мл	6,98 $\pm$ 0,47	5,60 $\pm$ 0,24*

Примітка. \*  $p < 0,05$

Значне зниження протизапальних цитокінів, особливо IL-4, яке ми спостерігали у своїх дослідженнях, може свідчити про те, що довготривала хронічна гіперглікемія супроводжується активацією Th 2 типу, яка пов'язана з синтезом антитіл і формуванням проявів імунопатології. Більше того, низький рівень IL-10, на думку деяких дослідників, може виступати чинником прогресування діабету [14]. Окрім класичних антизапаль-

них властивостей, IL-4 і IL-10 здатні впливати на різні шляхи обміну L-аргініну в макрофагах, клітинах ендотелію [15, 16].

Відомо, що обмін L-аргініну здійснюється в основному двома шляхами: окисним (NO-синтазним) з утворенням оксиду азоту і неокисним (аргіназним) з утворенням сечовини і орнітину. Баланс між активністю аргінази та eNOS є критичним для підтримання судинного гомеостазу при ЦД1 (табл. 2).

Таблиця 2. Зміни показників в системі L-аргінін – eNOS – аргіназа у крові хворих ЦД 1-го типу

Досліджувані показники	Контроль	Дослід
eNOS, нмоль NADPH/хв на 1 мг білка	7,28 $\pm$ 0,42	9,71 $\pm$ 0,61*
Аргіназа, мкмоль/хв·мл	0,25 $\pm$ 0,06	0,18 $\pm$ 0,03
L-Аргінін, мкмоль/л	53,78 $\pm$ 0,73	45,27 $\pm$ 1,45*

Примітка. \*  $p < 0,05$

Результати досліджень показали тенденцію до зниження активності аргінази у сироватці крові хворих на діабет 1-го типу на 28 % відносно контролю. Однак з літературних джерел відомо, що за умов діабету активність аргінази у судинній стінці значно зростає, зокрема шляхом індукції IL-4 і IL-10 експресії аргінази (ARG1) [17, 18].

Можна припустити, що зниження активності аргінази відбувається внаслідок показаного нами вище зменшення вмісту IL-4 та IL-10. В той же час активність eNOS достовірно підвищувалась на 33,4 %, порівняно з показниками у практично здорових людей. Також у сироватці крові хворих на діабет 1-го типу виявлено зменшення кількості L-ар-

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**

гініну в 1,3 раза ( $p < 0,05$ ), що вказувало на переважання окисного NO-синтазного шляху перетворення аргініну на тлі зниження рівня протизапальних інтерлейкінів та пригнічення активності аргінази.

У контексті діабету та ендотеліальної дисфункції зниження рівня IL-4, IL-10 має подвійний характер: з одного боку відбувається послаблення протизапального ефекту, а з іншого – на тлі пригнічення аргіназного шляху активується NO-синтазний шлях перетворення аргініну, що покращує біодоступність NO, позитивно впливаючи на тонус судин, відповідно, має тимчасово компенсаторний характер. Таким чином, баланс між активністю аргінази та eNOS є критичним для підтримання судинного гомеостазу при ЦД1.

**Висновки.** Зниження рівнів IL-4 та IL-10 у хворих на діабет 1-го типу сприяє переключенню шляхів перетворення аргініну з неокисного аргіназного на окисний NO-синтазний, тим самим тимчасово покращує біодоступність оксиду азоту,

частково зменшуючи вираженість запального ушкодження ендотелію навіть за умов хронічної гіперглікемії.

**Перспективи подальших досліджень.**

Отримані результати показали, що цитокинова регуляція обміну L-аргініну відіграє суттєву роль у патогенезі судинних ускладнень діабету. Враховуючи актуальність судинних ускладнень при ЦД1, вивчення ролі IL-4 та IL-10 у цьому контексті має важливе патогенетичне та клінічне значення.

**Джерела фінансування.** Власні кошти авторів.

**Внесок авторів:**

Л. П. Білецька – концепція та дизайн дослідження, отримання та обробка результатів, підготовка рукопису до друку;

О. П. Хаврона – ідея дослідження, аналіз та інтерпретація даних, узагальнення висновків.

**Конфлікт інтересів.** Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

REFERENCES

1. Lespagnol E, Dauchet L, Pawlak-Chaouch M, Bal-estra C, Berthoin S, Feelisch M, Roustit M, Boissière J, Fontaine P, Heyman E. Early Endothelial Dysfunction in Type 1 Diabetes Is Accompanied by an Impairment of Vascular Smooth Muscle Function: A Meta-Analysis. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020;11:203. DOI: 10.3389/fendo.2020.00203. PMID: 32362871; PMCID: PMC7180178.
2. Dubsy M, Veleba J, Sojakova D, Marhefkova N, Fejfarova V, Jude EB. Endothelial Dysfunction in Diabetes Mellitus: New Insights. *Int. J. Mol. Sci.* 2023; 24, 10705. DOI: 10.3390/ijms241310705.
3. Xia Y, Chen W, Fu C, et al. Regulation of arginase activity and nitric oxide synthase by cytokines in diabetic vascular disease. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2021; 58:71-82.
4. Nelin LD, Amin RH, Rannels DE. Arginase and endothelial nitric oxide synthase regulate nitric oxide production in bovine pulmonary artery endothelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2005;288(6): L1065-1072.
5. Wu D, Ren H, Li Y, et al. The interplay between arginase and nitric oxide synthase in endothelial dysfunction associated with diabetes mellitus. *Oxid Med Cell Longev.* 2019; 2019:1724740.
6. Khavrona OP, Biletska LP, Klyushta MYu. Vplyv prozapalnykh tsytokiniv na funktsionuvannya systemy L-Arhinin-NO u khvorykh na tsukrovyy diabet I typu [The influence of proinflammatory cytokines on the functioning of the L-Arginine-NO system in patients with type I diabetes]. *Art of Medicine.* 2025;2(34):86-90. Ukrainian. DOI: 10.21802/artm.2025.2.34.86
7. Sumbaev VV, Yasinskaya IM. Vliyanie DDT na aktivnost sintazy oksida azota v pecheni, legkikh i golovnom mozge kryss [The effect of DDT on the activity of nitric oxide synthase in the liver, lungs, and brain of rats]. *Sovremennye problemy toksikologii.* 2000;3:3. Ukrainian.
8. Geyer J. W., Dabich D. Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates. *Anal Biochem.* 1971. Vol. 39. P. 412–417.
9. Aleynikova TL, Rubtseva GV, Pavlova NA. Rukovodstvo k prakticheskim zanyatiyam po biohimii [Guide to Practical Classes in Biochemistry]. *Meditsina.* 2000: 128. Ukrainian.
10. Kaminitz A, Ash S, Askenasy N. Neutralization Versus Reinforcement of Proinflammatory Cytokines to Arrest Autoimmunity in Type 1 Diabetes. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2017;52(3):460-472. DOI: 10.1007/s12016-016-8587-y.
11. Jhuma KA, Giasuddin AS, Hossain MS. Status of Serum Pro inflammatory Cytokines (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ ) and Anti-inflammatory Cytokines (IL-4, IL-10, IL-13) in Newly Diagnosed Bangladeshi Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Mymensingh Med J.* 2023;32(4):1149-1155. PMID: 37777914.
12. Martinez FO, Gordon S, Locati M, Mantovani A. Transcriptional profiling of the human monocyte-to-macrophage differentiation and polarization: new molecules and patterns of gene expression. *J Immunol.* 2017;198(7):2932-2940.
13. Kim HJ, Lee S, Park JH, et al. The role of IL-10 in the regulation of endothelial function in diabetes: therapeutic implications. *Int J Mol Sci.* 2023;24(4):2456.
14. Collier JJ, Sparer TE, Karlstad MD, Burke SJ. Pancreatic islet inflammation: an emerging role for chemokines. *J Mol Endocrinol.* 2017;59(1):R33-R46. DOI: 10.1530/JME-17-0042.
15. Rath M, Müller I, Kropf P, et al. Metabolism via arginase or nitric oxide synthase: two competing arginine pathways in macrophages. *Front Immunol.* 2014; 5:532.
16. Modolell M, Corraliza IM, Link F, et al. Reciprocal regulation of the nitric oxide synthase/arginase balance in

mouse macrophages by TH1 and TH2 cytokines. Eur J Immunol. 1995;25(4):1101-1104.

17. Bogdan C. Nitric oxide synthase in innate and adaptive immunity: an update. Trends Immunol. 2015; 36(3):161-178.

18. Romero MJ, Platt DH, Tawfik HE, et al. Diabetes-induced coronary vascular dysfunction involves increased arginase activity. Circulation. 2011;124(13): 1406-1415.

**L. P. Biletska, O. P. Khavrona**

*State non-profit enterprise "Danylo Halytsky Lviv National Medical University", Lviv, Ukraine*

## **REGULATION OF L-ARGININE METABOLISM BY ANTI-INFLAMMATORY CYTOKINES IN PATIENTS WITH TYPE 1 DIABETES**

**SUMMARY.** The study examines the specific effects of anti-inflammatory cytokines on the enzymatic pathways of L-arginine metabolism in patients with type 1 diabetes. It was found that decreased levels of the anti-inflammatory cytokines IL-4 and IL-10 are associated with suppression of the arginase pathway and activation of the NO-synthase pathway of arginine conversion.

**The aim** – to investigate the influence of anti-inflammatory cytokines on L-arginine metabolism under conditions of type 1 diabetes.

**Material and Methods.** 28 patients with type 1 diabetes were examined. The control group consisted of 15 practically healthy individuals of a similar age range.

Blood sampling was performed in the morning on an empty stomach from the cubital vein in a volume of 5 ml during the hospitalization of patients. The concentration of glucose in the blood was determined by the glucose oxidase method; normal values were considered to be within the range of 3.5–6.0 mmol/l. In the blood serum of patients, the activity of endothelial NO synthase (eNOS), arginase activity, arginine concentration, and the level of anti-inflammatory cytokines IL-4 and IL-10 were determined by the enzyme-linked immunosorbent assay.

**Results.** In patients with type 1 diabetes, decreased levels of the anti-inflammatory cytokines IL-4 (by 43 %) and IL-10 (by 20 %) were observed, indicating activation of immunopathological processes. Arginase activity in blood serum decreased by 28 %, while eNOS activity increased by 33.4 %, accompanied by a 1.3-fold reduction in L-arginine levels. This indicates a predominance of the NO-synthase pathway of arginine conversion, which temporarily compensates for vascular dysfunction. The balance between arginase and eNOS activity is essential for support of vascular homeostasis in type 1 diabetes.

**Conclusions.** The decrease in IL-4 and IL-10 levels in type 1 diabetes promotes an increase in nitric oxide production due to activation of the NO-synthase pathway of arginine conversion, which allows partial alleviation of inflammatory endothelial damage even under conditions of chronic hyperglycemia.

**KEY WORDS:** type 1 diabetes mellitus; L-Arginine; arginase; endothelial NO synthase; anti-inflammatory cytokines.

Отримано 25.11.2025

Електронна адреса для листування: lilua70@gmail.com