

DOI: 10.21802/artm.2025.2.34.86

УДК 616.379-008.64-07:616.155.3-097.37-085.225.27:577.112.385

ВПЛИВ ПРОЗАПАЛЬНИХ ЦИТОКІНІВ НА ФУНКЦІОНУВАННЯ СИСТЕМИ L-АРГІНІН-NO У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ І ТИПУ

О.П. Хаврона¹, Л.П. Білецька¹, М.Ю. Ключта²¹Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра біологічної хімії, м. Львів, Україна²Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра ортопедичної стоматології, м. Львів, Україна

ORCID ID: 0009-0002-0747-6354, Scopus ID: 38761538800, e-mail: o.khavrona@gmail.com

ORCID ID: 0000-0001-5073-924X, Scopus ID: 56413048800, e-mail: lilua70@gmail.com

ORCID ID: 0009-0006-6960-3901, e-mail: marta.kliushta@gmail.com

Резюме. У хворих на цукровий діабет (ЦД) І типу зростає функціональна активність імунних клітин, які беруть участь у запальному процесі. Ці клітини виробляють прозапальні цитокіни, що можуть пошкоджувати ендотелій судин. Система L-Аргінін-NO відіграє ключову роль у регуляції судинного тонуусу та метаболічних процесів, включаючи інсулінову чутливість, тому метою нашої роботи було дослідити зв'язок між прозапальними цитокінами та функціонуванням системи L-Аргінін-NO у хворих ЦД І типу.

До дослідної групи увійшли 28 хворих на ЦД І типу. Рівень глікемії коливався в межах 8,4–10,3 ммоль/л. Контрольну групу склали 15 здорових осіб. У сироватці крові пацієнтів визначали концентрацію L-Аргініну, вміст стабільного метаболіту NO, активність iNOS. Рівень прозапальних цитокінів визначали імуноферментним методом (ІФА). Отримані результати обробляли статистично за допомогою програми STATISTICA 8.0.

Результати досліджень виявили у крові хворих на ЦД І типу достовірне підвищення активності iNOS на 635 %, зниження рівня L-Аргініну на 21 % та збільшення вмісту NO на 81 % відносно контролю.

Це супроводжувалось збільшенням рівня цитокінів першої лінії реагування ІЛ-1β і ФНП-α порівняно з контрольною групою на 219 % і 249 % відповідно. Цитокіни першої лінії запускали цитокіновий каскад, що призводило до зростання ІЛ-2 на 129 %, ІЛ-6 на 30 %, достовірного підвищення рівня ІЛ-8 не спостерігалось, хоча була тенденція до його зростання.

Показано, що порушення балансу між прозапальними цитокінами та функціонуванням системи L-Аргінін-NO є важливим фактором, що сприяє розвитку хронічного запального процесу та оксидативного стресу у хворих на ЦД І типу. Отримані результати вказують на необхідність розробки нових терапевтичних підходів, спрямованих на корекцію порушень цитокінового профілю та відновлення функції системи L-аргінін-NO, що може допомогти знизити рівень запалення та покращити стан пацієнтів.

Ключові слова: цукровий діабет І типу, L-Аргінін, нітроген оксид, індукцйбельна NO-синтаза, прозапальні цитокіни.

Вступ. Основною ланкою патогенезу ЦД І типу вважається деструкція β-клітин, яка виникає через вплив зовнішніх діабетогенних факторів (віруси, інфекції), які при схильності до діабету активують імунокомпетентні клітини, збільшують синтез цитокінів, простагландинів, циклооксигенази та нітрогену оксиду [1]. ЦД І типу належить до класичних органоспецифічних аутоімунних захворювань, що перебігає з участю про- та протизапальних цитокінів, у тому числі інтерлейкінів 6, 8, 10 [2]. Для цього типу діабету характерний переважно розвиток клітинних імунних реакцій, ефектори яких, Т-лімфоцити, виконують руйнівну дію щодо β-клітин. Паралельно у цьому процесі важливу, якщо не вирішальну, роль відіграють прозапальні цитокіни активованих макрофагів і Т-лімфоцитів, а саме: ІЛ-1β, ФНП-α та ІНФ-γ. Інформація щодо участі різних видів цитокінів у розумінні патогенезу ЦД І типу у людини дотепер до кінця не з'ясована, проте літературні джерела свідчать про велике значення цитокінів, особливо у початкових механізмах розвитку ЦД І типу. На сьогоднішній день встановлено, що на ранніх етапах розвитку ЦД І типу відбувається міграція антиген залежних лейкоцитів із

крові в острівки Лангерганса, які згодом здатні місцево секретувати цілий спектр прозапальних цитокінів, що викликають апоптоз та некроз β-клітин [3]. Цитокіни відіграють роль також у більш віддалених термінах лікування ЦД І типу. Доведено їх участь у виникненні таких ускладнень як мікро- та макроангіопатії [2, 4].

Вплив прозапальних цитокінів на шляхи обміну L-Аргініну також активно вивчається і представляє великий інтерес. Згідно багаточисленних експериментальних досліджень саме ІЛ-1β розглядається як ключовий медіатор, який викликає гальмування секреції інсуліну і стимуляцію експресії гена, що кодує індукцйбельну синтазу – iNOS, яка приводить до утворення нітрогену оксиду (NO) і смерті β-клітин шляхом апоптозу [5, 6]. Існують дослідження, які підтверджують, що саме NO є одним з медіаторів, який сприяє розвитку ЦД І типу [1, 7]. Деякі інші інтерлейкіни також можуть проявляти вплив на ферменти, які залучені у шляхи обміну L-Аргініну. Зокрема, відомо, що ІЛ-8 спричиняє зростання активності аргінази і, таким чином, знижує продукцію NO [7, 8]. Прозапальні цитокіни при цукровому діабеті беруть участь як у

формуванні запальної відповіді, так і регуляції гомеостазу глюкози [9].

Однак інформація про роль прозапальних цитокінів і їх вплив на функціонування системи L-Arg-NO при ЦД I типу у людини досить обмежена і потребує подальших досліджень.

Метою статті є дослідження взаємозв'язку прозапальних цитокінів із функціонуванням системи L-Arg-NO у хворих на ЦД I типу.

Об'єкт і методи дослідження. Для дослідження використовували кров 28 чоловіків, хворих на ЦД I типу віком 30–40 років. Рівень глікемії коливався в межах 8,4–10,3 ммоль/л. Важкі супутні захворювання у пацієнтів були виключені. Групу контролю склали 15 практично здорових чоловіків цього ж віку. Забір крові у пацієнтів проводили натще вранці з ліктьової вени у кількості 5 мл при поступленні пацієнтів у стаціонар. Вміст глюкози в крові визначали глюкозооксидазним методом. Нормальними значеннями вважали 3,3–5,5 ммоль/л.

У сироватці крові пацієнтів визначали: активність iNOS за методом Сумбаєва В. В., Ясинської І. М.

[10], концентрацію L-Аргініну за методом Гайда Г. З., Стасюк Н. Є. [11], вміст нітрит-аніону за методом Green LC., David AV. [12]. Визначення рівня цитокінів у сироватці крові проводили імуноферментним методом на імуноферментному аналізаторі «Stat Fax 303» за допомогою набору фірми «БЕКТОР-БЕСТ Україна».

Результати досліджень аналізували методом варіаційної статистики за допомогою програми STATISTICA 8.0 (Statsoft, USA). Значення представлені у вигляді середньоарифметичних чисел (M), стандартних похибок середнього (m), n – об'єм вибірки. Результати у таблицях представляли у вигляді $M \pm m$. Для порівняння середніх абсолютних величин у різних групах застосовували t-критерій Стьюдента. Різницю вважали вірогідною за $p \leq 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення. При дослідженні функціонування системи L-Аргінін-NO за умов ЦД I типу отримано результати, які представлені у таблиці 1.

Таблиця 1

Зміни показників у системі L-Аргінін-NO у крові хворих на ЦД I типу

Досліджувані показники	Контроль	Дослід
L-Аргінін, мкмоль/л	55,08±0,65	43,29±1,45*
NO, мкмоль/л	5,84±0,36	10,59±0,78*
iNOS, NADPH+H ⁺ /хв•г гемоглобіну	0,14±0,06	1,03±0,05*

Примітка: * $p < 0,05$

У сироватці крові хворих на ЦД I типу виявлено зниження рівня L-Аргініну на 21 % ($p < 0,05$) та підвищення вмісту NO на 81 % ($p < 0,05$), що може вказувати на зменшення пулу L-Аргініну внаслідок перетворення його по NO-синтазному шляху, оскільки він служить субстратом для синтезу NO. Слід відзначити, що L-Аргінін є субстратом не тільки для NO-синтази, але й для аргінази. За умов норми співвідношення між NO-синтазою та аргіназою забезпечує в клітинах відповідний пул L-Аргініну, який при ЦД зменшується, внаслідок зростання активності NO-синтази (в основному за рахунок iNOS) та зниження активності аргінази.

Отримане нами значне підвищення вмісту NO призводить до того, що NO втрачає свої захисні функції і виявляє вазопресивну та цитотоксичну дію. Досягаючи високих значень, NO-радикал взаємодіє з цистеїном і глутатионом з утворенням динітрозильних комплексів, що активують перекисне окиснення ліпідів, окиснення сульфгідрильних груп білків і мононітрозильних комплексів, що нейтралізують ці деструктивні процеси [13]. Крім того, NO може реагувати на молекули, що мають непарні електрони, утворюючи різновиди вільних радикалів, які здатні порушувати структуру і метаболізм ліпідів та білків у клітині. Так, NO, реагуючи з супероксидом O₂⁻, утворює пероксинітрит (ONOO⁻) – потужний оксидант із токсичними ефектами на різні молекули людського організму, включаючи ДНК [14]. Відповідно до змін у системі L-Arg-NO зростає активність NOS на 635 % за рахунок індукційної форми, яка здатна продукувати у великих кількостях NO. Підвищення активності iNOS може бути результатом експресії гена цього

ферменту, що підтверджується збільшенням внутрішньоклітинного рівня мРНК даного ензиму за умов гіперглікемії [9].

Таким чином, виявлена нами гіперпродукція NO може сприяти утворенню пероксинітриту та інших активних кисневих метаболітів, ініціації процесів перекисного окиснення ліпідів та призводить до токсичних ефектів і розвитку окиснювального стресу при ЦД I типу [15]. Крім того, на сьогодні NO вважається медіатором, який сприяє розвитку ЦД I типу, що може пояснювати його зростання за умов цієї патології [1, 7].

Хронічне запалення призводить до виникнення численних захворювань, зокрема і появи цукрового діабету. Розвиток аутоімунних процесів при ЦД I типу супроводжується запаленням острівців підшлункової залози інсулітом [16, 17], тому при проведенні дослідження враховували, що більшість реакцій при запаленні здійснюється через цитокінову систему, а оскільки цитокіни є основними медіаторами імунної відповіді, то їх співвідношення і динаміка змін дають можливість окреслити імунний статус і визначити перебіг та прогноз захворювання. Сучасні дані вказують на те, що IL-2, IL-4, IL-10 й ІНФ- γ визначають тип імунної відповіді при запаленні [18, 19].

Отримані дані вказують на неконтрольований викид прозапальних цитокінів, що сприяє формуванню хронічного запального процесу за умов розвитку ЦД I типу. Продукція цитокінів зростає при запаленні, але в той же час їх надмірна кількість може свідчити про порушення функціонування систем захисту [19].

Таблиця 2

Вміст прозапальних інтерлейкінів у сироватці крові хворих на ЦД I типу

Досліджувані показники	Контроль	Дослід
ФНП- α , пг/мл	2,35 \pm 0,24	8,21 \pm 0,42*
ІЛ-1 β , пг/мл	3,66 \pm 0,62	11,71 \pm 0,69*
ІЛ-2, пг/мл	4,28 \pm 0,31	9,82 \pm 0,48*
ІЛ-6, пг/мл	7,84 \pm 0,46	10,45 \pm 0,72*
ІЛ-8, пг/мл	6,92 \pm 0,78	7,21 \pm 0,60

Примітка: * $p < 0,05$

Вміст цитокінів першої лінії реагування ІЛ-1 β і ФНП- α порівняно з контрольною групою зростає на 219 % та 249 % відповідно.

Отримане нами значне підвищення ІЛ-1 β може свідчити про активацію макрофагів, а також про можливе пригнічення функцій β -клітин або загибель їх внаслідок апоптозу. Відомо також, що цей інтерлейкін викликає пригнічення секреції інсуліну та активацію іNOS, що проявляється збільшенням кількості NO та інших вільних токсичних радикалів [20, 21], що узгоджується також з нашими дослідженнями (табл. 1). Існує пряма залежність між вмістом ІЛ-1 β у сироватці крові та інтенсивністю запальних процесів. Саме тому величина його показника може слугувати прогностичним критерієм запального процесу [5, 19]. Інтерлейкін-1 β є медіатором неспецифічної дії, який залучається до захисної реакції організму одним з перших та ініціює синтез інших прозапальних цитокінів, зокрема ФНП- α та ІЛ-6 [22].

Системне зростання прозапальної активності у хворих на цукровий діабет пов'язане із зростанням концентрації ФНП- α в сироватці крові, який вважається одним з первинних медіаторів у патогенезі різних патологічних процесів. Біологічні ефекти ФНП- α можуть бути як захисними, так і такими, що надають шкоди, залежно від взаємодії з іншими цитокінами та клітинного оточення [18]. Це узгоджується з нашими дослідженнями, які показують підвищення вмісту ФНП- α на 249 %, що є характерним для гострої фази запалення, коли на ранній стадії проходить деструкція β -клітин і відображає пік аутоімунного процесу, який відбувається у підшлунковій залозі [23, 24].

Значне зростання цитокінів першої лінії реагування – ІЛ-1 β і ФНП- α запускає цитокіновий каскад і сприяє викиду інших прозапальних цитокінів, що ми і спостерігали у нашому дослідженні. Встановлено зростання вмісту ІЛ-2 на 129 %, ІЛ-6 на 30 %, вміст ІЛ-8 достовірно не підвищувався, спостерігалася лише тенденція до його зростання.

ІЛ-1 є центральним медіатором імунної відповіді, який здатний активувати Т- та В-лімфоцити, сприяє міграції лімфоцитів у вогнище запалення та синтезу імунорегуляторного ІЛ-2, який, у свою чергу, стимулює проліферацію Т-лімфоцитів, ріст та диференціацію В-клітин, перетворюючи їх в антитілоутворювальні клітини, викликаючи потужну стимуляцію імунітету. Значне зростання вмісту прозапального ІЛ-2, може свідчити про інтенсивність запальних та імунних процесів, які супроводжують розвиток цукрового діабету і може вважатися адекватною відповіддю організму [1, 3, 19].

ІЛ-6 – мультифункціональний цитокін, який опосередковує запальну відповідь. Вміст цього

цитокіну корелює з функціональним станом хворого. Також відомо, що ІЛ-6 відіграє основну роль в апоптозі, особливо при сумісній дії з іншими цитокінами [22, 25]. Зростання вмісту ІЛ-6, яке ми спостерігали у хворих на ЦД I типу може бути наслідком дефіциту інсуліну, гіперглікемії, а також збільшенням процесів пероксидації ліпідів та білків, які здатні індукувати синтез цитокінів сімейства ІЛ-6, і на пряму залежить від збільшення вмісту ФНП- α і ІЛ-1 β [22], що корелює з отриманими нами результатами. Літературні джерела підтверджують, що за декілька років до проявів цукрового діабету зафіксовано підвищений рівень циркулюючого ІЛ-6. Це дає можливість припустити, що підвищення концентрації ІЛ-6 може бути раннім маркером розвитку цукрового діабету [25]. Крім того, відомо, що ІЛ-6 може проявляти протизапальну дію шляхом блокування утворення ІЛ-1 β і ФНП- α [19], проте збільшення його вмісту, показане у наших дослідженнях, виявилось недостатнім для впливу на ці цитокіни в патогенезі розвитку ЦД I типу [8].

Згідно літературних даних впливає, що ІЛ-8 різноспрямовано впливає на активацію та функціонування різних Т-клітинних популяцій – на периферії може пригнічувати розвиток надлишкових Т-клітинних реакцій, а також може сприяти розвитку адаптивних Т-клітинних процесів, які формують імунну пам'ять. ІЛ-8 у наших дослідженнях достовірно не підвищувався, спостерігалася лише тенденція до його зростання (табл. 2). Проте, враховуючи результати інших науковців, цей інтерлейкін є інгібітором синтезу NO, а у нашому дослідженні ми спостерігали зростання вмісту цього газового медіатора (табл. 1), тому такі результати представляються цілком логічними. Відомо також, що підвищення вмісту ІЛ-8 у крові часто передують розвитку атеросклерозу та серцево-судинним захворюванням [4, 18], тому можемо допустити, що цей інтерлейкін відіграє більшу роль у патогенезі ЦД II типу або ж розвитку ускладнень ЦД I типу [23, 26].

Отже, отримані результати розширюють уявлення про патогенез ЦД I типу і дозволяють припустити, що подальше вивчення вмісту цитокінів та їх вплив на метаболічні процеси в організмі людини дасть можливість знайти нові методи профілактики й лікування ЦД I типу та запобігти розвитку його ускладнень.

Перспективи подальших досліджень. Результати роботи показують важливість подальших досліджень патогенезу ЦД I типу, зокрема впливу інших прозапальних та протизапальних цитокінів, а також їх рецепторів на метаболічні процеси в організмі людини за умов цієї патології.

Висновки.

1. Прозапальні цитокіни відіграють важливу роль у патогенезі ЦД I типу в людини. Значне зростання їх вмісту свідчить про те, що імунна система залишається у довготривалому запальному стані.
2. Збільшення вмісту найважливіших цитокінів першої лінії реагування сприяє викиданню вторинних цитокінів та активації біорегуляторних ферментних систем, у тому числі й системи L-Аргінін-NO.
3. Підтверджено прямий зв'язок між зростанням продукції ІЛ-1 β і ФІН- α та збільшенням концентрації нітрогену оксиду, що призводить до апоптозу β -клітин.
4. Показано, що збільшення ІЛ-6 є недостатнім для пригнічення синтезу ІЛ-1 β та ФІН- α , їх впливу на розвиток даної патології.
5. Встановлено, що за умов ЦД I типу ІЛ-8 не здатний проявляти інгібуєчу дію на продукцію NO.

Конфлікт інтересів: відсутній.

References.

1. Rodriguez-Calvo T, Richardson SJ, Pugliese A. Pancreas Pathology During the Natural History of Type 1 Diabetes. *Curr Diab Rep.* 2018; 18(11):124. DOI: 10.1007/s11892-018-1084-3
2. Shchurko M, Lapovets N, Lapovets L, Akimova V, Bashta H, Lebed G, Martianova O, Stepas Yu, Pysarenko Ye, Wojkiv N. Cytokine profile and C-reactive protein level in patients with ischemic heart disease on the background of metabolic syndrome. *Rom J Diabetes Nutr Metab Dis.* 2021; 28(2):121-125. (SJR 0,15). DOI: 10.46389/rjd-2021-1019
3. 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
4. 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
5. Jhuma KA, Giasuddin AS, Hossain MS. Status of Serum Pro inflammatory Cytokines (IL-1, IL-6, TNF- α) 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
6. Cieślak M, Wojtczak A, Cieślak M. Role of pro-inflammatory cytokines of pancreatic islets and prospects of elaboration of new methods for the diabetes treatment. *Acta Biochim Pol.* 2015; 62(1):15-21. DOI: 10.18388/abp.2014_853
7. Boarescu PM, Boarescu I, Pop RM, Roșian ȘH, Boșan IC, Rus V, Mada RO, Popa ID, Neagu N, Bulboacă AE, Buzoianu AD, Bolboacă SD. Evaluation of Oxidative Stress Biomarkers, Pro-Inflammatory Cytokines, and Histological Changes in Experimental Hypertension, Dyslipidemia, and Type 1 Diabetes Mellitus. *Int J Mol Sci.* 2022; 23(3):1438.
8. Lynnyk OM, Osadcha OI, Kozynets HP, Yanchiy IR, Shmatova OO, Boiarska GM. Features of the immune response formation to thermal trauma. *Fiziologichniy Zhurnal.* 2021; 67(6):32-39. DOI: 10.15407/fz67.06.032
9. Ratter JM, Rooijackers HM, Tack CJ, Hijmans AG, Netea MG, de Galan BE, Stienstra R. Proinflammatory Effects of Hypoglycemia in Humans With or Without Diabetes. *Diabetes.* 2017; 66(4):1052-1061. DOI: 10.2337/db16-1091
10. Sumbayev VV, Yasinska IM. Aktivnist sustazy oksudy azoty za vplyvy DDT ta genisteiny. *Visnik Odeskogo derzhavnogo universytetu.* 2000;5(1):41-45.
11. Gayda GZ, Stasyuk NE, Gonchar MV. Metodu analyzy L-Argininy. *Biotechnologia acta.* 2014;7(1):31-39. DOI: 10.15407/biotech7.01.031
12. Green LC, David AW. Analysis of nitrate, nitrite and (15N) nitrate in biological fluids. *Anal. Biochem.* 1982; 126:131-138.
13. Prolo C, Piacenza L, Radi R. Peroxynitrite: a multifaceted oxidizing and nitrating metabolite. *Curr Opin Chem Biol.* 2024; 80:102459. DOI: 10.1016/j.cbpa.2024.102459
14. Piacenza L, Zeida A, Trujillo M, Radi R. The superoxide radical switch in the biology of nitric oxide and peroxynitrite. *Physiol Rev.* 2022; 102(4):1881-1906.
15. Sirman YV, Savvitskyi IV, Preys NI. Zmini aktivnosti indutsibelnoyi sintazy oksidu azotu pri eksperimentalniy diabetichniy retinopatiyi ta sposobah yiyi korektsiyi. *Aktualni problemu sychasnoi medycyny.* 2021; 3(75):208-214. DOI: 10.31718/2077-1096.21.3.208
16. Campbell-Thompson M, Fu A, Kaddis JS, Wasserfall C, Schatz DA, Pugliese A, Atkinson MA. Insulinitis and β -Cell Mass in the Natural History of Type 1 Diabetes. *Diabetes.* 2016; 65(3):719-31. DOI: 10.2337/db15-0779
17. Smeets S, De Paep DL, Stangé G, Verhaeghen K, Van der Auwera B, Keymeulen B, Weets I, Ling Z, In't Veld P, Gorus F. Insulinitis in the pancreas of non-diabetic organ donors under age 25 years with multiple circulating autoantibodies against islet cell antigens. *Virchows Arch.* 2021; 479(2):295-304. DOI: 10.1007/s00428-021-03055-z
18. Liu C, Feng X, Li Q, Wang Y, Li Q, Hua M. Adiponectin, TNF- α and inflammatory cytokines and risk of type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Cytokine.* 2016; 86:100-109. DOI: 10.1016/j.cyto
19. Kozynets HP, Osadcha OI, Lynnyk OM, Zhernov OA. Osoblivosti formuvannya sistemnoyi zapalnoyi vidpovidi u patsiyentiv u gostrij period opikovoyi hvorobi. *Ukrainskui medichnui chasopis.* 2022; 3(149):1-5.
20. Boraschi D. What Is IL-1 for? The Functions of Interleukin 1. Across Evolution. *Front Immunol.* 2022; 13:872155. DOI: 10.3389/fimmu.2022.872155
21. Burke SJ, Updegraff BL, Bellich RM, Goff MR, Lu D, Minkin SC Jr, Karlstad MD, Collier JJ. Regulation of iNOS gene transcription by IL-1 β and IFN- γ requires a coactivator exchange mechanism. *Mol Endocrinol.* 2013; 27(10):1724-42.
22. Dhamodharan U, Viswanathan V, Krishnamoorthy E, Rajaram R, Aravindhan V. Genetic association of IL-6, TNF- α and SDF-1 polymorphisms with serum

- cytokine levels in diabetic foot ulcer. *Gene*. 2015; 565(1):62-7. DOI: 10.1016/j.gene
23. Kyiak Y, Fartushok N, Onyschuk Y, Fedevych Y, Bashta G. Profile of proinflammatory cytokines in type 1 diabetes mellitus, *Fiziologichnyi Zhurnal*. 2012; 58(5):65-69. DOI: 10.15407/fz58.05.065
 24. Rutman AK, Negi S, Gasparrini M, Hasilo CP, Tchervenkov J, Paraskevas S. Immune Response to Extracellular Vesicles From Human Islets of Langerhans in Patients With Type 1 Diabetes. *Endocrinology*. 2018; 159(11):3834-3847. DOI: 10.1210/en.2018-00649
 25. Brock C, Hansen CS, Karmisholt J, Møller HJ, Juhl A, Farmer AD, Drewes AM, Riahi S, Lervang HH, Jakobsen PE, Brock B. Liraglutide treatment reduced interleukin-6 in adults with type 1 diabetes but did not improve established autonomic or polyneuropathy. *Br J Clin Pharmacol*. 2019; 85(11):2512-2523. DOI: 10.1111/bcp.14063
 26. Sheikh-Ahmad M, Nakhleh A, Riskin A, Yovanovich E, Chen-Konak L, Reut M, Saiegh L. The correlation between testosterone, inflammation and cytokine status in type-2 diabetes men. *Andrologia*. 2022; 54(10):e14526. DOI: 10.1111/and.14526

UDC 616.379-008.64-07:616.155.3-097.37-085.225.27:577.112.385

THE IMPACT OF PRO-INFLAMMATORY CYTOKINES ON THE FUNCTIONING OF THE L-ARGININE-NO SYSTEM IN PATIENTS WITH TYPE 1 DIABETES MELLITUS

O.P. Khavrona¹, L.P. Biletska¹, M.Yu. Kliushta²

¹Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Department of Biochemistry, Lviv, Ukraine

²Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Department of Orthopedic Dentistry, Lviv, Ukraine, ORCID ID: 0009-0002-0747-6354?

Scopus ID: 38761538800,

e-mail: o.khavrona@gmail.com

ORCID ID: 0000-0001-5073-924X

Scopus ID: 56413048800,

e-mail: lilua70@gmail.com

ORCID ID:0009-0006-6960-3901,

e-mail: marta.kliushta@gmail.com

Abstract. Type 1 diabetes (T1D) is a chronic autoimmune disorder associated with a systemic inflammatory response, in which pro-inflammatory cytokines play a key role in the pathogenesis. These cytokines, such as TNF- α , IL-1 β , and IL-6, contribute to chronic inflammation, which exacerbates tissue damage. The L-Arginine-NO (Nitric Oxide) system is essential for various physiological functions, including vasodilation, immune regulation, and insulin sensitivity. However, chronic inflammation, driven by elevated levels of pro-inflammatory cytokines, can impair the functioning of the L-Arginine-NO system, potentially leading to complications such as endothelial dysfunction.

The aim of this study is to investigate the relationship between proinflammatory cytokines and the functioning of the L-Arginine-NO system in patients diagnosed with type 1 diabetes.

The research group included 28 patients with insulin-dependent diabetes. The mean age of all patients was between 30 and 40 years. The glycemie level (sugar in blood) ranged from 8.4 to 10.3 mmol/l. The control group included 15 healthy persons. Blood for biochemical research was taken from the ulnar vein at the first day of the hospital stay. The concentration of L-Arginine was determined using the T.L. Aleynikov method. Maintenance of the stability of metabolite NO₂ - was defined by the method of Green L.C., David A.V. Activity of NO-synthase determined by the method of Sumbaeva V.V., Jasin-ska I.M. The pro-inflammatory cytokine levels in the blood serum were determined using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method. The received results were processed statistically based on the method of variance statistics with the help of the STATISTICA 8.0 program (Statsoft, USA).

In the blood serum of patients with type 1 diabetes mellitus, an increase in the activity of the inducible form of NOS was found by 635 %, leading to a decrease in L-Arginine levels by 21 % and a significant increase in NO content by 81 %. At high levels, the NO radical can react with molecules that have unpaired electrons, such as by interacting with the superoxide anion O²⁻, forming the potent oxidant peroxynitrite (ONOO⁻), which contributes to the development of oxidative stress and the formation of a chronic inflammatory process.

This was confirmed by the increase in the levels of first-line response cytokines IL-1 β and TNF- α compared to the control group by 219 % and 249 %, respectively. The significant increase in first-line cytokines triggers the cytokine cascade. An increase in IL-2 levels by 129 %, IL-6 by 30 %, and no significant increase in IL-8 levels was observed, although there was a tendency for it to rise. It is known that IL-2, IL-6, IL-8, and IFN- γ determine the type of immune response during inflammation. The obtained data indicate an uncontrolled release of pro-inflammatory cytokines, suggesting the formation of a chronic inflammatory process in the context of type 1 diabetes mellitus development.

It has been shown that the disruption of the balance between pro-inflammatory cytokines and the L-Arginine-NO metabolism is an important factor contributing to the development of chronic inflammatory processes and oxidative stress in patients with type 1 diabetes. The obtained data highlight the need for the development of new therapeutic approaches aimed at correcting cytokine profile disturbances and restoring the function of the L-ARG-NO system, which could help reduce the inflammatory process and improve the condition of patients with type 1 diabetes.

Keywords: Type 1 diabetes mellitus, L-Arginine, Nitric Oxide, NO-synthase, pro-inflammatory cytokines.

Conflict of interest: absent.

Стаття надійшла в редакцію 24.02.2025 р.

Стаття прийнята до друку 01.06.2025 р.