

ЗНАЧЕНИЕ РЕАКЦИИ ДЕГРАНУЛЯЦИИ ТУЧНЫХ КЛЕТОК ПРИ ПОДБОРЕ ИНСУЛИНОТЕРАПИИ У ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Гулинская О. В. (gulinskaya@gmail.com), Никонова Л. В. (lola.nikonova.58@mail.ru), Тишковский С. В. (tishkovsky@rambler.ru), Давыдчик Э. В. (davydchike@mail.ru), УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, Беларусь

Введение. Стратегия лечения пациентов с сахарным диабетом (СД) в Беларуси базируется на основе отечественных и международных согласительных документов в области диабетологии. Пациенты с СД применяют инсулин отечественного производства, а при развитии индивидуальной непереносимости или аллергической реакции есть возможность заменить применявшийся инсулин другим, менее антигенным препаратом.

Цель: провести клинико-экспериментальное исследование реакции дегрануляции тучных клеток (РДТК), возникающей на разные виды инсулинов, применяемых в Республике Беларусь.

Материал и методы. Оценка РДТК животных на разные виды инсулинов, которые получали 31 пациент с СД с наличием в анамнезе различных аллергических реакций и необходимостью в коррекции инсулинотерапии или изменении препарата инсулина. Осуществлялся мониторинг тощачковой и постпрандиальной гликемии, оценивалась степень компенсации углеводного обмена. Примененная методика заключается в выявлении РДТК крысы при инкубации с сывороткой пациента и исследуемым инсулином. При наличии в сыворотке пациента специфических IgE к данному виду инсулина происходит дегрануляция тучных клеток.

Результаты. Более 80% пациентов имели суб- или декомпенсацию диабета. Резкоположительные пробы (РДТК более 40%) отсутствуют. На 5 вводимых препаратов инсулина зафиксированы положительные реакции (3-13%). Все препараты инсулина имели слабоположительные РДТК (29-55%).

Выводы. Проведение РДТК на разные виды инсулинов поможет клиницисту подобрать менее иммуногенное лекарственное средство в случае наличия у пациента аллергической реакции. Все исследованные в данной работе препараты инсулина могут применяться для комплексного лечения СД.

Ключевые слова: сахарный диабет, инсулин, реакция дегрануляции тучных клеток.

Введение

Стратегия лечения пациентов с сахарным диабетом (СД) в Республике Беларусь базируется на основе отечественных и международных согласительных документов в области диабетологии [1, 2]. Пациенты с СД применяют инсулин отечественного производства, а при развитии индивидуальной непереносимости или аллергических реакций в арсенале имеется инсулин датской, немецкой, польской и американской фармацевтических компаний [3].

Современные технологии производства инсулина отличаются друг от друга не только по источнику получения, но и по степени очистки, веществам, добавляемым к раствору инсулина, концентрации, значениям pH [4].

Иммунологические исследования показали, что при подкожном введении любого инсулина образуются циркулирующие антитела к гормону. Этот механизм обусловлен тем, что при подкожном введении происходит локальное энзиматическое разрушение инсулина, образующиеся фрагменты которого могут стать аллергенами, вызывающими строго индивидуальные иммунные реакции [5]. Аллергические реакции на инсулин встречаются в 5-30% случаев [6, 7, 8, 9]. Они могут возникать на применение любого препарата инсулина и проявляться в местной и генерализованной формах, что требует замены применявшегося инсулина другим его видом или переходом на аналогичные препараты других фирм [7].

Мировой опыт показывает, что аллергические реакции часто возникают не на инсулин, а

на консервант, используемый для стабилизации препаратов инсулина [6]. Местные аллергические реакции нередко возникают в результате неправильного введения инсулина: чрезмерная травматизация, введение сильно охлажденного препарата, неправильный выбор места для инъекции и т. п. [9]. Нежелательные лекарственные реакции на препараты инсулина имеют медицинское, экономическое, социальное значение вследствие того, что они являются причиной госпитализаций, снижают качество жизни пациентов, повышают стоимость лечения [10].

IgE-опосредованные реакции, которые послужили целью данного исследования, являются реакциями немедленного типа. В их основе лежит взаимодействие аллергена со специфическими IgE-антителами. Связывание IgE с Fc-рецепторами тучных клеток и базофилов приводит к активации и дегрануляции тучных клеток с высвобождением медиаторов, приводящих к повышению проницаемости капилляров и отеку слизистых оболочек с соответствующими клиническими проявлениями [11, 12, 13]. Лабораторные методы исследования направлены на выявление биохимических или иммунологических маркеров активации иммунопатологических реакций, лежащих в основе предполагаемого механизма аллергической реакции [14].

Цель исследования: провести клинико-экспериментальное исследование реакции дегрануляции тучных клеток (РДТК), возникающей на разные виды инсулинов, применяемых в Республике Беларусь.

Материал и методы

На базе эндокринологического отделения УЗ «Гродненская областная клиническая больница» обследован 31 пациент с СД 1-го и 2-го типов, среди которых женщины составили 67,7%, мужчины – 32,3%, средний возраст – 44,5 лет. СД 1-го типа диагностирован у 13 пациентов, 2-го – у 18. Длительность заболевания в среднем составила – 11,8 года.

Показанием для проведения РДТК являлось наличие в анамнезе различных аллергических реакций, необходимость в коррекции инсулинотерапии или изменении препарата инсулина.

Всем пациентам проводили мониторинг тощачковой и постпрандиальной гликемии и сахароснижающую терапию с использованием инсулинов, которые зарегистрированы и применяются в Республике Беларусь (Протамин ЧС, Моноинсулин ЧР, Генсулин Н и Генсулин Р, инсулин Протафан и Актрапид, инсуман Базал, инсуман Рапид, Хумулин НПХ и Хумулин Р, а также Лантус).

Примененная методика оценки РДТК заключается в выявлении РДТК крысы при инкубации с сывороткой пациента и исследуемым инсулином. При наличии в сыворотке пациента специфических IgE к данному виду инсулина происходит дегрануляция тучных клеток. Результат учитывается по проценту разрушенных клеток на 100 тучных клеток: слабopоложительная (+) реакция – 10-20% разрушенных тучных клеток; положительная (++) – 21-40%; резко положительная (+++) – больше 40% разрушенных клеток по сравнению с контролем [15].

Обработку полученных данных проводили методами вариационной статистики с использованием стандартной лицензионной программы STATISTICA 10.0. Соответствие распределения количественных данных закону нормального распределения проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Значения приведены как среднее значение $M \pm$ и стандартное отклонение (SD). Для сравнения использовался Sign-тест (знаковый тест) и критерий Вилкоксона. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Мониторинг тощачковой и постпрандиальной гликемии, а также степень компенсации углеводного обмена представлены в таблице 1.

Таблица 1. – Основные показатели компенсации углеводного обмена, $n=31$

Показатели плазмы крови	$M \pm SD$; абс. (%)
Глюкоза натощак, ммоль/л	7,5 \pm 1,5
Глюкоза через 2 часа после еды, ммоль/л	9,9 \pm 2,9
Гликированный гемоглобин (HbA1c), %	8,4 \pm 1,7
Компенсация (HbA1c <6,5%)	9 (18%)
Субкомпенсация (HbA1c от 6,5-7,5%)	6 (12%)
Декомпенсация (HbA1c >7,5%)	16 (70%)

Как видно из данных таблицы 1, более 80% пациентов имели суб- или декомпенсацию СД,

предусматривающую проведение стационарного лечения с применением инсулинов с целью коррекции нарушений углеводного обмена.

В таблице 2 представлены результаты проведения РДТК с разными препаратами инсулина в сравнении с контролем.

Таблица 2. – Результаты РДТК на разные препараты инсулина, (абс. % разрушенных клеток) и сравнение с контролем ($M \pm SD$)

Препараты инсулина	РДТК +	РДТК ++	$M \pm SD$
Моноинсулин ЧР	13 (42%)	2 (6,45%)	10,23 \pm 6,41
Протамин ЧС	10 (32,26%)	4 (12,9%)	10,84 \pm 6,71
Генсулин R	9 (29,03%)	-	7,71 \pm 4,64
Генсулин Н	10 (32,26%)	-	8,68 \pm 4,53
Актрапид	14 (45,16%)	-	8,84 \pm 5,35
Протафан	15 (48,39%)	2 (6,45%)	10,48 \pm 6,13
Инсуман Рапид	10 (32,26%)	1 (3,23%)	8,48 \pm 5,45
Инсуман Базал	15 (48,39%)	-	9,41 \pm 5,35
Хумулин НПХ	17 (54,84%)	-	10,29 \pm 5,66
Хумулин R	11 (35,48%)	-	7,97 \pm 4,39
Лантус	10 (32,26%)	2 (6,45%)	9,61 \pm 7,17
Контроль	-	-	4,71 \pm 2,05

Как видно из данных таблицы 2, РДТК на препараты инсулина свидетельствует об отсутствии резко положительных проб. Лишь 5 препаратов инсулина имели средние значения РДТК (выше 21-40%), причем показатели по конкретным препаратам не превышали 13%. Другие препараты инсулина имели слабopоложительные РДТК (от 29 до 55%).

Особый интерес представляло сравнение разных препаратов инсулина с контролем в зависимости от типа СД (табл. 3).

Таблица 3. – Показатели вариации РДТК на разные препараты инсулина в зависимости от типа СД (Sign-тест)

Препараты инсулина	СД 1-го типа	СД 2-го типа
Моноинсулин ЧР	8,77 \pm 7,44	11,28 \pm 5,53
Протамин ЧС	9,08 \pm 6,65	12,11 \pm 6,65
Генсулин R	8,69 \pm 4,47	7,00 \pm 4,75
Генсулин Н	8,77 \pm 3,98	8,61 \pm 5,01
Актрапид	7,62 \pm 5,06	9,72 \pm 5,52
Протафан	11,46 \pm 6,55	9,78 \pm 5,89
Инсуман рапид	8,62 \pm 4,66	8,39 \pm 6,09
Инсуман базал	9,85 \pm 5,34	9,11 \pm 5,51
Хумулин R	8,15 \pm 4,79	7,83 \pm 4,20
Хумулин НПХ	12,0 \pm 6,40	9,06 \pm 4,87
Лантус	9,85 \pm 8,37	9,44 \pm 6,42
Контроль	4,71 \pm 2,05	4,71 \pm 2,05

При сравнении показателей вариации РДТК у пациентов в зависимости от типа СД (Sign-тест) не выявлено существенных различий в степени иммуногенности препаратов инсулина.

Выводы

Проведение РДТК на разные виды инсулинов поможет клиницисту подобрать менее им-

муногенный лекарственный препарат в случае наличия у пациента аллергической реакции на определенный вид инсулина. Все зарегистрированные в Республике Беларусь и исследованные в данной работе препараты инсулина могут применяться для комплексного лечения СД.

Литература

1. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом : клинич. рек. / Российская ассоц. эндокринологов, Эндокринологич. науч. центр ; под ред. : И. И. Дедова, М. В. Шестаковой, А. Ю. Майорова. – 8-е изд. – Москва : УП ПРИНТ, 2017. – 112 с.
2. Аметов, А. С. Инсулинотерапия / А. С. Аметов // Сахарный диабет 2 типа: проблемы и решения / А. С. Аметов. – 2-е изд., перераб. и доп. – Москва, 2014. – Гл. VI. – С. 371-420.
3. Шепелькевич, А. П. Диабетологическая помощь в Республике Беларусь: современные тенденции / А. П. Шепелькевич // Лечебное дело. – 2015. – № 6. – С. 55-60.
4. Доклиническое изучение лекарственной формы генно-инженерного инсулина человека — Инсулмикс (30/70) / Д. Е. Митрушкин [и др.] // Человек и лекарство : тез. докл. XII Российского национального конгресса, Москва, 18-22 апр. 2005 г. / науч. ред.: А. Г. Чучалин. – Москва, 2005. – С. 684.
5. Continuous subcutaneous insulin infusion allows tolerance induction and diabetes treatment in a type 1 diabetic child with insulin allergy / C. Hasselmann [et al.] // *Diabetes Metab.* – 2013. – Vol. 39, iss. 2. – P. 174-177. – doi: 10.1016/j.diabet.2012.10.002.
6. Allergic shock and death associated with protamine administration in a diabetic patient / Y.Q. Chu [et al.] // *Clin. Ther.* – 2010. – Vol. 32, iss. 10. – P. 1729-1732. – doi: 10.1016/j.clinthera.2010.09.010.
7. Allergy to human insulin / L. Fern6ndez [et al.] // *Allergy.* – 2003. – Vol. 58, iss. 12. – P. 1317.
8. Insulin allergy: clinical manifestations and management strategies / L. Heinzerling [et al.] // *Allergy.* – 2008. – Vol. 63, iss. 2. – P. 148-155. – doi: 10.1111/j.1398-9995.2007.01567.x.
9. Radermecker, R. P. Allergy reactions to insulin: effects of continuous subcutaneous insulin infusion and insulin analogues / R. P. Radermecker, A. J. Scheen // *Diabetes Metab. Res. Rev.* – 2007. – Vol. 23, iss. 5. – P. 348-355. – doi: 10.1002/dmrr.714.
10. Kaya, A. Severe anaphylactic reaction to human insulin in a diabetic patient / A. Kaya, K. Gungor, S. Karakose // *J. Diabetes Complications.* – 2007. – Vol. 21, iss. 2. – P. 124-127. – doi: 10.1016/j.jdiacomp.2006.05.003.
11. Ляликов, С. А. Клиническая иммунология и аллергология: учеб. пособие / С. А. Ляликов, Н. М. Тихон. – Минск : Вышэйшая школа, 2015. – 366 с.
12. Тучные клетки. Физиология и патофизиология / Б. Г. Юшков [и др.]. – Москва : Медицина, 2011. – 240 с.
13. Burton, O. T. Beyond immediate hypersensitivity: evolving roles for IgE antibodies in immune homeostasis and allergic diseases / O. T. Burton, H. C. Oettgen // *Immunol. Rev.* – 2011. – Vol. 242, iss. 1. – P. 128-143. – doi: 10.1111/j.1600-065X.2011.01024.x.
14. Цинкернагель, Н. Основы иммунологии / Н. Цинкернагель. – Москва : Мир, 2008. – 928 с.
15. Хаитов, Р. М. Руководство по клинической иммунологии. Диагностика заболеваний иммунной системы: руководство для врачей / Р. М. Хаитов, Б. В. Пинегин, А. А. Ярилин. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 352 с.

References

1. Dedov II, Shestakova MV, Majorov AJu, editors; Rossijskaja asociacija jendokrinologov, Jendokrinologicheskij nauchnyj centr. Algoritmy specializirovannoj medicinskoj pomoshhi bolnym saharnym diabetom [Standards of specialized diabetes care]. 8th ed. Moskva: UP PRINT; 2017. 112 p. (Russian).
2. Ametov AS. Insulinoterapija [Insulinotherapy]. In: Ametov AS. *Saharnyj diabet 2 tipa: problemy i reshenija* [Diabetes 2 types: problems and decisions]. 2nd ed. Moskva: GJeOTAR-Media; 2014. p. 371-420. (Russian).
3. Shepelkevich AP. Diabetologicheskaja pomoshh v Respublike Belarus: sovremennye tendencii. *Lechebnoe delo* [Medical business]. 2015;6:55-60. (Russian).
4. Mitrushkin DE, Nikulina EE, Ivanova ME, Chernenko SM. Doklinicheskoe izuchenie lekarstvennoj formy genno-inzhenernogo insulina cheloveka – Insulmiks (30/70) [Preclinical studying of the medicinal form of genno-engineering insulin of the person – Insulmiks]. In: Chuchalin AG, editor. *XII Rossijskij nacionalnyj kongress «Chelovek i lekarstvo»* [The Russian national congress «The Person and a medicine»], 2005 April 18-22; Moskva, Rossija; Moskva; 2005. p. 684. (Russian).
5. Hasselmann C, Pecquet C, Bismuth E, Raverdy C, Sola-Gazagnes A, Lobut JB, Carel JC, Tubiana-Rufi N. Continuous subcutaneous insulin infusion allows tolerance induction and diabetes treatment in a type 1 diabetic child with insulin allergy. *Diabetes Metab.* 2013;39(2):174-177. doi: 10.1016/j.diabet.2012.10.002.
6. Chu YQ, Cai LJ, Jiang DC, Jia D, Yan SY, Wang YQ. Allergic shock and death associated with protamine administration in a diabetic patient. *Clin. Ther.* 2010;32(10):1729-1732. doi: 10.1016/j.clinthera.2010.09.010.
7. Fern6ndez L, Duque S, Montalb6n C, Bartolom6 B. Allergy to human insulin. *Allergy.* 2003;58(12):1317.
8. Heinzerling L, Raile K, Rochlitz H, Zuberbier T, Worm M. Insulin allergy: clinical manifestations and management strategies. *Allergy.* 2008;63(2):148-155. doi: 10.1111/j.1398-9995.2007.01567.x.
9. Radermecker RP, Scheen AJ. Allergy reactions to insulin: effects of continuous subcutaneous insulin infusion and insulin analogues. *Diabetes Metab. Res. Rev.* 2007;23(5):348-355. doi: 10.1002/dmrr.714.

10. Kaya A, Gungor K, Karakose S. Severe anaphylactic reaction to human insulin in a diabetic patient. *J. Diabetes Complications*. 2007;21(2):124-127. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2006.05.003.
11. Lyalikov SA, Tihon NM. Klinicheskaja immunologija i allergologija [Clinical immunology and allergology]. Minsk: Vyshhejschaja shkola; 2015. 366 p. (Russian).
12. Jushkov BG, Chereshev VA, Klimin VG, Artashjan OS. Tuchnye kletki. Fiziologija i patofiziologija. [Corpulent cages. Physiology and pathophysiology]. Moskva: Medicina; 2011. 240 p. (Russian).
13. Burton OT, Oettgen NS. Beyond immediate hypersensitivity: evolving roles for IgE antibodies in immune homeostasis and allergic diseases. *Immunol. Rev.* 2011; 242(1):128-143. doi: 10.1111/j.1600-065X.2011.01024.x.
14. Cinkernagel N. Osnovy immunologii [Immunology bases]. Moskva: Mir; 2008. 928 p. (Russian).
15. Haitov RM, Pinegin BV, Jarilin AA. Rukovodstvo po klinicheskij immunologii. Diagnostika zabolevanij immunnoj sistemy [Guide on clinical immunology. Diagnostics of diseases of immune system]. Moskva: GJeOTAR-Media; 2009. 352 p. (Russian).

THE ROLE OF MAST CELLS DEGRANULATION REACTION IN THE ADJUSTMENT OF INSULIN IN DIABETES MELLITUS PATIENTS

Gulinskaya O. V., Nikonova L. V., Tishkovskiy S. V., Davydchik E. V.
Educational Establishment «Grodno State Medical University», Grodno, Belarus

Introduction: Strategy of treatment of patients with diabetes (DM) in Belarus is based on a basis of domestic and international conciliatory documents in the area of diabetes. Patients with DM apply domestic production insulin, and at development of individual intolerance or allergic reaction, there is a possibility to replace applied insulin other less antigenic preparation.

Aim: To conduct a reaction clinics-experimental research based on mast cells degranulation corpulent cages (RDMC), arising on various kinds of the insulin applied in republic of Belarus.

Material and methods: Estimation RDMC of animals on various kinds of insulin which received 31 patient with DM with presence in the anamnesis of various allergic reactions and necessity for correction insulin therapy or change of a preparation of insulin. Monitoring fasting and postprandial glycemia was carried out, degree of indemnification of a carbohydrate exchange was estimated. The applied technique consists in revealing RDMC of a rat at incubation with whey of the patient and investigated insulin. At presence in whey of the patient specific IgE to the given kind of insulin occurs degranulation corpulent cages.

Results: More than 80 % of patients had sub- or decompensation of a diabetes. Sharply positive tests (RDMC more than 40 %) are absent. On 5 entered preparations of insulin positive reactions (3-13 %) are fixed. All preparations of insulin had weakly positive RDMC (29-55 %).

Conclusion: Carrying out RDMC on various kinds of insulin will help the clinical physician to pick up less immune medical product in case of presence at the patient of allergic reaction. All preparations of insulin investigated in given work can be applied to complex treatment DM.

Keywords: *diabetes mellitus, insulin, mast cell degranulation reaction.*

Поступила: 29.09.2017

Отрецензирована: 24.11.2017