



В.В. Ходаченко<sup>1</sup>, Л.П. Сизякина<sup>1</sup>, О.А. Сидоренко<sup>2</sup>

## КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ В ДИНАМИКЕ ЭСТЕТИЧЕСКОЙ БОТУЛИНОТЕРАПИИ

*Ростовский государственный медицинский университет,  
<sup>1</sup>кафедра клинической иммунологии и аллергологии ФПК и ППС,  
<sup>2</sup>кафедра кожных и венерических болезней.*

*Россия, 344022, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29. E-mail: vika7208@mail.ru*

Цель: изучение динамики параметров иммунного статуса пациентов при использовании ботулинического токсина типа А в эстетических целях.

Материалы и методы: у 20 человек, применявших ботулинический токсин для коррекции мимических морщин, изучали фенотипическую и функциональную характеристику иммунокомпетентных клеток методом проточной цитофлуориметрии, гуморальные факторы адаптивного и врожденного иммунного ответа оценивали методом иммунодиффузии по Манчини и иммуноферментного анализа. Исследования проводили до, на 14-е и 90-е сутки после введения препарата.

Результаты: при исследовании клинико-иммунологических результатов коррекции был выявлен положительный эстетический результат, а также изменения в иммунном статусе пациентов. Параметры иммунного статуса, полученные через 2 недели, характеризовались усилением процессов иммуносупрессии, цитотоксической активности Т-лимфоцитов и активацией синтеза ИФγ, в следствие чего формировалось преобладание противовоспалительных цитокинов над провоспалительными. Указанные изменения сохранялись на протяжении 3-х месяцев с наметившейся тенденцией к активации процессов межклеточной кооперации и динамикой увеличения синтеза IgG.

Выводы: При эффективной терапии мимических морщин ботулиническим токсином типа А изменения в иммунном статусе отражают физиологическую реакцию иммунной системы на введение микродоз чужеродного антигена.

*Ключевые слова:* ботулинический токсин типа А, параметры иммунного статуса.

V.V. Khodachenko<sup>1</sup>, L.P. Sizyakina<sup>1</sup>, O.A.Sidorenko<sup>2</sup>

## CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL CHARACTERISTICS OF PATIENTS TREATING WITH BOTULOTOXIN A IN DYNAMICS

*Rostov State Medical University*

*<sup>1</sup>Department of Clinical Immunology and Allergology*

*<sup>2</sup>Department of Skin and Sexually Transmitted Diseases*

*29 Nakhichevansky st., Rostov-on-Don, 344022, Russia. E-mail: vika7208@mail.ru*

Purpose: To investigate the dynamic changes of immune system in aesthetic patients treated with botulinum toxin type A.

Materials and methods: The study involved 20 patients treated with botulinum toxin type A to reduce mimic wrinkles. Phenotypic and functional characteristics of immune cell were investigated during the study. Immune parameters were discovered before and in 14 and 90 days after injections with standard immunological methods as a flow cytometry, immunodiffusion in Manchini test and enzyme immune test.

Results: During the study a positive clinic aesthetic effect and differences in immune status were observed in all patients. Parameters of immune system in 2 weeks after injection were characterized by increasing of immune suppression, rising cytotoxic activity of T-cells and activation of IF-γ synthesis. It results in overweight of antiinflammatory cytokines compared with proinflammatory cytokines. These changes have been kept for 3 months with a tendency to increasing of intracellular cooperation and IF-γ synthesis.

Summary: In patients effectively treated with botulinum toxin injections there are different immune changes. It shows a physiological reaction of immune system to the introduction of heterogenous antigens.

*Key words:* Botulotoxin type A, immune status marks.



## Введение

В современной эстетической медицине ботулинотерапия признана наиболее эффективным и минимально инвазивным способом коррекции возрастных изменений кожи. Результативность такого рода воздействия определяется свойством ботулинического токсина типа А (БТА) формировать в месте введения временную релаксацию мышц и устранять таким образом гиперактивность мимических мышц лица - важнейшей причины возникновения морщин. Наибольшее распространение этот метод получил для уменьшения мимических морщин фронтальной, периорбитальной, периоральной и глабеллярной зон лица. Считается, что главным условием получения удовлетворительного эстетического результата - отсутствия мимических морщин и сохранения естественного выражения лица - является правильный выбор точек введения препарата, подбор адекватной дозы, грамотный отбор пациентов с учетом показаний и противопоказаний [1]. В результате такого воздействия уменьшение выраженности морщин наблюдается на 2-7 день, достигая максимума к концу второй недели. Через 12 недель эффект ослабевает и полностью исчезает через 3-4 месяца, после чего возникает необходимость следующего введения БТА. Уменьшение и полное устранение эффекта связывают с коллатеральной реиннервацией мимических морщин [2]. В то же время в литературе нет единого представления о комплексной реакции иммунной системы, которые неизбежны в условиях воздействия на нее чужеродного антигена, которым является ботулинический нейротоксин. Практически отсутствуют работы оценки эффективности ботулинотерапии с позиции возможности формирования специфической иммунологической толерантности. Не прослежены корреляционные связи между эстетическим эффектом и выраженностью ответных реакций врожденных и адаптивных факторов иммунного ответа на БТА.

Цель настоящей работы - изучение динамики параметров иммунного статуса пациентов при коррекции мимических морщин препаратом ботулинического токсина типа А.

## Материалы и методы

Под наблюдением находились 20 пациентов с мимическими морщинами верхней трети лица легкой и средней степени в возрасте от 27 до 57 лет. Критериями исключения из исследования являлось наличие онкологической, нервно-мышечной, а также любой соматической патологии, актуальной на период наблюдения. В качестве исследуемого препаратом выбора стал «Ксеомин» (Merz, Германия), который представляет собой чистый нейротоксин с молекулярной массой 150 кДа и не содержит белковые комплексы, добавляемые в другие препараты БТА [3]. Перед началом исследования пациенты заполняли информационное соглашение на процедуру, проводилось фотографирование при максимальной эмоциональной экспрессии и в покое. Наличие у пациентов морщин в области лба, межбровья и латеральных морщин глаз - «гусиных лапок» было обусловлено гипертонусом соответствующих мышц - *m.frontalis*, *m.procerus*, *m.corrugatorsupercilii*, *m.orbicularisoculi*, *m.nasalis*, что потребовало введения ботулотоксина. «Ксеомин» вводили в количестве 2-4 ед. в точку, согласно рекомендуемым

схемам лечения, в общей суммарной дозе от 20 до 50 единиц. В период наблюдения другая терапия не назначалась. Оценку результатов лечения проводили на 14 день после терапии, в соответствии со стандартами ведения пациентов после процедуры ботулинотерапии. Иммунологическое обследование проводили до лечения, через 2 недели и спустя 3 месяца после применения ботулотоксина [4].

Фенотипический анализ лимфоцитов, а именно определение экспрессии CD3, CD4, CD8, CD16, CD19, CD25, CD95, внутриклеточного содержания Foxp3, Гранзима В, проводили с помощью реакции иммунофлюоресценции с учетом результатов на проточном лазерном цитофлуориметре «FC 500» (BectonCoulter, США) с использованием соответствующих моноклональных антител. Кислородозависимую метаболическую активность нейтрофилов оценивали в НСТ-тесте. Определяли спонтанную (НСТсп.) и стимулированную латексом (НСТст.) активность. Содержание сывороточных иммуноглобулинов класса А, М, G - в реакции радиальной иммунодиффузии в геле по Манчини. Уровень в периферической крови интерлейкина 4 и ИФН $\gamma$  - методом ИФА на диагностических тест-системах производства ЗАО «Вектор-Бест». Математическую обработку полученных данных проводили используя программу Statistica 6.0. Достоверность различий в группах оценивали с помощью непараметрических критериев Манна-Уитни и Вилксона. Достоверными считались результаты при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Через две недели после введения БТА у всех пациентов был зарегистрирован хороший и отличный эстетический результат, гипертонуса вышеописанных мышц не отмечалось, что привело к отсутствию мимических морщин, разглаживанию кожи.

Анализ параметров клеточных факторов адаптивного иммунного ответа (табл. 1), показал, что через 2 недели после введения токсина существенных изменений в процессе созревания и дифференцировки Т-лимфоцитов не обнаружено. Относительное и абсолютное содержание CD3+ лимфоцитов практически не отличалось от исходного фона. Аналогичная тенденция отмечена при анализе содержания CD4+ лимфоцитов, обладающих хелперно-индукторной активностью и CD8+ лимфоцитов с супрессорно-цитотоксической активностью. Вследствие этого на прежнем уровне сохранился и иммунорегуляторный индекс. Анализ функциональной активности Т-лимфоцитов выявил лишь тенденцию к усилению процессов ранней активации, в то время как экспрессия рецепторов поздней активации и готовности к апоптозу (CD95+) существенно не отличаются от исхода. Содержание В-лимфоцитов, равно как и интенсивность процессов синтеза IgA, IgM и IgG, остаются неизменными. Анализ цитотоксической активности CD16+ лимфоцитов выявил отчетливую тенденцию к их снижению, что, вероятно, связано с увеличением процессов иммуносупрессии, документированное по статистически-достоверному увеличению как относительного, так и абсолютного содержания CD4+ CD25+Foxp3. В фагоцитарном звене существенных изменений микробицидной активности не обнаружено, содержание циркулирующих иммунных комплексов не отличается от показателей физиологически значимых величин и от исходного фона. В цитокиновом балансе отмечается существенное увеличение синтеза ИФ, в то время как содержание ИЛ-1 не отличается от исходного фона.



Динамика изменения параметров иммунного статуса пациентов при ботулинотерапии (Ксеомин до 50 ед.)

Показатели	до терапии (n=20)	через 2 недели (n=20)	через 3 месяца (n=20)
CD3+, %	74,9±4,5	74,9±4,9	74,5±6,2
CD3+, abs	1,5±0,5	1,6±0,4	1,6±0,3
CD4+, %	43,4±7,8	45,9±7,9	43,4±8,0
CD4+, abs	0,8±0,2	0,9±0,2	0,9±0,2
CD4+ CD25+Fox p3, %	0,5±0,2	0,9±0,1*	0,8±0,1**
CD4+ CD25+Fox p3, abs	0,02±0,01	0,06±0,01*	0,02±0,01
CD8+, %	34,8±8,5	33,9±8,2	35,0±6,1
CD8+, abs	0,7±0,02	0,8±0,3	0,7±0,2
CD8+Gr, %	25,4±5,2	32,3±5,5*	31,4±5,4**
CD8+ Gr, abs	0,7±0,02	0,7±0,04	0,7±0,02
ИРИ	1,4±0,5	1,4±0,4	1,4±0,6
CD25+, %	7,1±2,2	10,4±1,9*	2,7±1,9**
CD25+, abs	0,13±0,06	0,1±0,04	0,05±0,01
CD95+, %	4,6±1,2	5,5±1,3	5,8±1,4
CD95+, abs	0,1±0,02	0,1±0,04	0,1±0,06
CD20+, %	10,4±3,5	12,0±4,1	9,6±3,9
CD20+, abs	0,2±0,04	0,3±0,07	0,2±0,07
IgA г/л	1,9±0,3	2,2±0,4	1,9±0,5
IgMг/л	1,3±0,3	1,5±0,4	1,2±0,2
IgGг/л	10,8±1,7	10,3±1,7	11,3±0,8
CD16+Gr, %	9,7±1,2	7,2±1,6	9,8±1,4
CD16+Gr, abs	0,3±0,04	0,2±0,07	0,4±0,09
НСТсп. у.е.	108,1±17,3	102,0±25,2	103,2±21,2
Кст.	1,5±0,1	1,5±0,1	1,7±0,1
ЦИК	66,9±11,7	62,9±10,1	53,6±9,8
ИЛ-4 пкг/мл	1,1±0,2	0,9±0,1	0,8±0,2
ИФН-γ пкг/мл	8,9±1,6	21,6±4,2*	12,6±2,7**

Примечание:

\*отмечены статистически достоверные различия показателей по сравнению с исходными (до терапии) при  $p < 0.05$

\*\* отмечены статистически достоверные различия показателей по сравнению с предыдущим сроком при  $p < 0.05$

Дальнейшее наблюдение за пациентами в течение 3 месяцев показало, что полученный терапевтический эффект сохранялся, однако мимическая активность мышц, расслабленных введением ботулотоксина, частично восстанавливается. В иммунограмме спустя 3 месяца после терапии не выявлено существенных сдвигов в содержании CD3 лимфоцитов, а также в их субпопуляционных соотношениях. Однако наметились статистически значимые изменения в функциональной активности Т-лимфоцитов, документированное выраженной супрессией процессов ранней активации, в то время как процессы поздней активации и готовности к апоптозу существенно не отличаются от предыдущих сроков на-

блюдения. Следует отметить, что цитотоксическая активность CD8+лимфоцитов продолжает сохраняться на повышенном уровне, в то время как цитотоксическая активность CD16+лимфоцитов существенно не отличается от исхода. По-прежнему не отмечается повышения, по сравнению с исходными данными, содержания CD4+D25+Foxp3. В гуморальном звене существенных изменений по сравнению с предыдущим сроком наблюдения не обнаружено, за исключением наметившейся тенденции к увеличению содержания IgG. Микробицидная активность нейтрофилов существенно не изменена. В цитокиновом балансе отмечается снижение ИФγ с сохранением на прежнем уровне содержания ИЛ-4.



### Выводы

Таким образом, при хорошем эстетическом эффекте, изменения в иммунном статусе пациентов через 2 недели следует расценить как ответ иммунной системы на введение токсина, проявляющиеся усилением процессов иммуносупрессии, цитотоксической активности Т-лимфоцитов и активацией синтеза ИФγ, что приводит к преобладанию противовоспалительных

цитокинов над провоспалительными. Указанные изменения сохраняются через 3 месяца с наметившейся тенденцией к активации процессов межклеточной кооперации и тенденцией к увеличению синтеза IgG. Терапия мимических морщин препаратом Ксеомин в рекомендованных дозах является эффективной, изменения в иммунном статусе пациентов отражают физиологическую реакцию иммунной системы.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Юцковская Я.А., Дворянинова И.Е., Таран М.Г. Особенности ботулинотерапии при наличии относительных эстетических противопоказаний // Вестник эстетической медицины.- 2012.- Т.11, №4.- С.30-36.
2. Prager W. et al. Botulinum toxin type A in the correction of the upper third of the face: a retrospective analysis of daily practice // Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology.- 2012.- №4.- С. 53-58.
3. Morais O. et al. Comparison of the four types of botulinum neurotoxin type A in the treatment of forehead wrinkles hyperdynamic men // J Drugs in Dermatology.-2012.- №11(2).-С.216-219.
4. Сизякина Л.П., Андреева И.И. Справочник по клинической иммунологии // Ростов-на-Дону.-2005.-С.365.

ПОСТУПИЛА 19.05.2013

УДК 616.441-036.21

**З.Т. Цаболова**

## ПРИЗНАКИ ДИСФУНКЦИИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У ШКОЛЬНИКОВ С ДИСМИКРОЭЛЕМЕНТОЗАМИ В РСО-АЛАНИЯ

*Северо-Осетинская государственная медицинская академия,  
кафедра факультетской терапии, ВПТ, эндокринологией и проф.болезней,  
Россия, 362000, г. Владикавказ, ул. Пушкинская, 40. E-mail: zifts4@gmail.com*

Цель: оценка иммунного статуса в условиях эндемического зоба (ЭЗ) у детей РСО-Алания.

Материалы и методы: обследовано 1198 школьников (13-16 лет). Определены группы: опытная (73 человека) – школьники с ЭЗ, - и контрольная (41 человек) – здоровые подростки. Получены данные количественного распределения основных иммунопатологических синдромов. Исследования интерферонового статуса и цитокинов (ИЛ-2, ИЛ-4) проводили методом иммуноферментного анализа в сыворотке крови наборами ООО “Цитокин”. Результаты оценивали с помощью критерия Стьюдента, критерия Манна-Уитни-Вилкоксона.

Результаты: клинические проявления дисфункции иммунной системы у школьников с ЭЗ выявлены у 27,5%. В опытной группе, по сравнению с контрольной, определяли достоверное повышение способности лейкоцитов к продукции гамма интерферона (ИФ-γ): (25,3±1,2 против 10,7±1,6 (p < 0,005)) и альфа интерферона (ИФ-α) (32,9±2,1 против 21,5±3,7 (p < 0,02)). Выявлено достоверное снижение содержания ИЛ-2 и повышение ИЛ-4 в опытной группе.

Заключение: результаты исследования дополняют современное представление об особенностях формирования зобной эндемии в РСО-Алания и могут послужить основой для разработки патогенетически обоснованных подходов к лечению и профилактики дефицита йода.

*Ключевые слова:* дисмикроэлементозы, иммунный статус, цитокины.