

# БОТУЛИНИЧЕСКИЙ ТОКСИН: НЕКОТОРЫЕ ВОПРОСЫ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

С каждым годом расширяются наши представления о возможностях использования препаратов ботулинического токсина типа А в эстетической медицине и других областях медицинской практики. Что касается косметологии, то наряду с традиционной коррекцией мимических морщин и лечением гипергидроза препараты БТА стали использоваться для коррекции овала лица, его асимметрии, для изменения положения отдельных элементов. Можно отметить появление большого числа публикаций, посвященных нюансам проведения тех или иных процедур, анализу клинического опыта.

Для получения воспроизводимых результатов необходим препарат надлежащего качества. Использование зарегистрированных препаратов, соответствующих стандартам качества, подтвержденным сертификатом, выданным уполномоченным органом, является аксиомой. В медицинском учреждении препарат должен храниться в условиях, предусмотренных инструкцией: ботокс — в холодильнике (2–8 °С) или в морозильной камере (от -5° до -20 °С), диспорт — в холодильнике (2–8 °С), лантокс — в морозильной камере (от -5° до -20 °С), ксеомин — при комнатной температуре.

Поскольку во флаконе препарат находится в виде аморфного порошка, перед процедурой проводят его восстановление добавлением требуемого объема стерильного 0,9% раствора хлорида натрия (физиологического) без консерванта. Перед разведением содержимого флакона центральная часть резиновой пробки должна быть обработана антисептическим раствором, удаление пробки запрещается. Физиологический раствор вводят, прокладывая пробку с стерильной иглой размером 23–25G. Перемешивание проводится очень аккуратно легкими вращательными движениями в течение 1 минуты. Не допускается резкое встряхивание с образованием пузырьков, поскольку это, по сложившимся представлениям, может привести к частичной инаktivации (денатурации) токсина. Полученный препарат представляет собой прозрачную, бесцветную или слегка желтоватую жидкость без посторонних включений, возможна легкая опалесценция.

Хранить восстановленные препараты следует в холодильнике: в течение 4 часов — препараты ботокс и лантокс, не более 8 часов — диспорт, в течение 24 часов — ксеомин. В пределах этих сроков компания-производитель гарантирует сохранение активности токсина и стерильности растворов.

Все предельно ясно. Однако повседневная практика ставит перед специалистом целый ряд вопросов. При проведении процедур с использованием ботулинического токсина по эстетическим показаниям содержимого одного флакона обычно достаточно для проведения инъекций нескольким пациентам. Это не представляет проблем для крупных медицинских центров с большим потоком пациентов, однако врачу небольшой клиники или частнопрактикующему специалисту бывает трудно собрать всех пациентов в один день. В настоящее время уже выпускаются препараты с уменьшенной дозировкой (например, ботокс и лантокс по 50 ЕД во флаконе). Однако сложности подстерегают и здесь: в каких-то случаях этой дозы будет недостаточно и придется взять некоторое количество токсина из другого флакона. А что делать с оставшимся? Невозможность зачастую использовать весь флакон при проведении инъекций заставляет задумываться о возможном риске в стоимость лечения. Поэтому вопросы, связанные с возможностью хранения восстановленного ботулинического токсина, перед врачами обязательно встают.

Согласно инструкциям по применению хранить восстановленные препараты БТА следует в холодильнике: в течение 4 часов препараты ботокс и лантокс, в течение 8 часов — диспорт, в течение 24 часов — ксеомин.

Как хранить восстановленный препарат? При каких условиях: в холодильнике или его лучше заморозить? Последний вариант видится даже более надежным, поскольку при низких температурах и в твердой фазе все химические реакции протекают медленнее и риск микробной контаминации также ниже. Однако как влияет замораживание на свойства восстановленного ботулинического токсина? Как долго можно хранить при той или иной температуре восстановленный препарат? Насколько меняется при этом его активность? Поскольку главный аргумент против хранения сверхохлажденного времени сводится к возможной микробной контаминации, не следует ли для восстановления БТА использовать тот же физиологический раствор, но с добавлением консерванта? Такие формы выпускаются некоторыми фармацевтическими фирмами.

Еще один аспект: БТА с успехом используется при лечении первичного гипергидроза — аксиллярного, ладонного, подошвенного. Одной из проблем при проведении этой процедуры является болезненность множественных инъекций. Использование лидокаина при приготовлении рабочего раствора БТА может сделать процедуру более комфортной. Некоторые специалисты добавляют лидокаин к препаратам ботулинического токсина для достижения немедленного миорелаксирующего действия. А если в состав композиции включить еще и эпинефрин (адреналин), то за счет вазоконстрикции можно ограничить диффузию токсина из места введения. Однако при использовании такого «коктейля» обязательно встают вопросы физической, химической и фармакологической совместимости.

И наконец, может быть самый бесхитростный вопрос: по чему же мы так боимся энергично взбалтывать препарат при восстановлении?

Практически на все поставленные вопросы удается найти ответы при анализе исследований, результаты которых представлены в медицинской периодике.

### Можно ли энергично перемешивать?

Сохраняются ли в неизменном виде фармакологические свойства БТА, если раствор готовить с энергичным взбалтыванием? Ответ на этот вопрос в какой-то степени дают результаты проспективного рандомизированного двойного слепого исследования, проведенного специалистами Медицинской школы Детройтского университета (США) [10].

В процессе приготовления восстановленного препарата БТА с одержимое час ти флаконов осторожно перемешивали в соответствии с инструкцией по применению, другую часть подвергли энергичному взбалтыванию. За тем пациентам (в возрасте  $39,9 \pm 2,8$  года) проводились инъекции БТА в область лба, при чем в одну половину — с использованием препарата, приготовленного в соответствии с инструкцией, в другую половину — после взбалтывания. Спустя неделю после процедуры, а также раз в месяц на протяжении полугода измеряли подвижность бровей пациентов (в мм).

По результатам исследования не выявлено различий в действии ботулотоксина, приготовленного тем или иным способом: с обеих сторон лба наблюдалось одинаковое уменьшение подвижности бровей. Таким образом, характер перемешивания при приготовлении раствора ботулинического токсина существенного влияния на его фармакологические свойства не оказывает.

### Совместимость с анестетиками

Можно предположить, что добавление анестетика к раствору для восстановления ботулинического токсина способствует повышению комфорта процедур, связанных с проведением множественных инъекций в областях с большой плотностью болевых рецепторов (аксиллярная, ладонная, подошвенная). Повлияет ли это на миорелаксирующие свойства БТА?

В 2000 г. в известной клинике Майо (Рочестер, США) было проведено рандомизированное двойное слепое контролируемое исследование с участием 10 волонтеров [5]. Для восстановления БТА (ботокс) использовали либо 1% раствор лидокаина с эпинефрином, либо физиологический раствор хлорида натрия (контроль).

Характер перемешивания при приготовлении раствора ботулинического токсина существенного влияния на его фармакологические свойства не оказывает.

Добавление анестетика к раствору для восстановления БТА способствует повышению комфорта процедур, связанных с проведением множественных инъекций в областях с большой плотностью болевых рецепторов.

Немедленные и отсроченные результаты коррекции аксиллярного гипергидроза свидетельствуют о биоэквивалентности растворов БТА, приготовленных с использованием лидокаина и без него. Поскольку инъекции раствора, в состав которого входит лидокаин, гораздо менее болезненные, исследователи сочли возможным отметить их преимущество.

С помощью полученных препаратов БТА проводили коррекцию мимических морщин верхней трети лица введением их в *mm. frontalis, corrugator supercilii* и *procerus*: с одной стороны лба — препарата, разведенного раствором лидокаина, с другой — в таких же дозах, но приготовленного с использованием раствора хлорида натрия. Фотографирование и видео документирование (контроль по подвижности мышц) осуществляли до инъекции, через 5–10 минут после нее, а также через неделю и 3 месяца.

При введении смеси БТА+лидокаин+эпинефрин миорелаксирующий эффект развивался немедленно у всех волонтеров. Через неделю эффект миорелаксации был симметричным на обеих сторонах лба у всех участников эксперимента. Сходные результаты отмечались на протяжении 3 месяцев наблюдения.

По мнению авторов исследования, добавление смеси лидокаина с эпинефрином при восстановлении БТА не оказывает существенного влияния на эффективность препарата и длительность действия. Использование такого комплексного состава может быть полезным в некоторых ситуациях.

Сравнение профиля безопасности и эффективности стандартного раствора БТА (приготовленного с использованием физиологического раствора) и раствора, приготовленного с добавлением анестетика (1% лидокаина) при лечении аксиллярного гипергидроза было проведено в 2007 г. в отделении дерматологии госпиталя Брюссельского университета (Бельгия) [17].

В рандомизированном двойном слепом контролируемом клиническом исследовании приняли участие 29 пациентов-добровольцев с аксиллярным гипергидрозом. Всем пациентам вводили 100 ЕД БТА (ботокс): в одну подмышечную область 50 ЕД препарата, приготовленного с использованием лидокаина, в другую — 50 ЕД стандартного препарата БТА (для разведения использовался физиологический раствор). Болезненность процедуры пациенты оценивали по 100-балльной визуальной аналоговой шкале (ВАШ). Врачи наблюдали за пациентами в течение 8 месяцев, для объективного контроля проводили йодокрахмальную пробу Минора. Кроме того, пациенты описывали свои субъективные ощущения.

По результатам исследования эффективность коррекции гипергидроза как с использованием стандартного раствора ботулотоксина, так и с добавлением лидокаина не отличалась и по мнению специалистов, и по оценкам пациентов. Побочных эффектов не отмечалось. Однако при оценке болезненности инъекций была выявлена существенная разница:  $29,3 \pm 20,0$  баллов из 100 при добавлении лидокаина и  $47,5 \pm 24,0$  — при использовании физиологического раствора ( $p=0,0027$ ).

Таким образом, немедленные и отсроченные результаты коррекции аксиллярного гипергидроза свидетельствуют о биоэквивалентности растворов БТА, приготовленных с использованием лидокаина и без него. Поскольку инъекции раствора, в состав которого входит лидокаин, гораздо менее болезненные, исследователи сочли возможным отметить их преимущество.

### Хранение восстановленного препарата

Вопрос о том, влияет ли хранение восстановленного БТА на его фармакологические свойства, задают себе многие специалисты, сталкиваясь с ситуацией, когда один из пациентов не смог прийти в назначенный день или когда на повторном визите становится очевидной необходимость введения еще некоторого количества токсина для усиления основного эффекта или коррекции неблагоприятных явлений.

В инструкциях по применению различных препаратов оговорены достаточно короткие сроки их хранения (4–8 часов). И не без оснований на то. Кроме исследований самих разработчиков в 1990-е гг. были проведены и независимые исследования стабильности разведенного токсина.

Специалисты лор-отделения госпитальной клиники Университета Айовы (США) использовали БТА для лечения спастической дисфонии [4]. Это заболевание связано с развитием тяжелых эмоциональных и социальных последствий из-за того, что голос становится либо натянутым, напряженным, неестественным (при аддукторной дисфонии), либо практически беззвучным, «воздушным» (при абдукторном типе). Для лечения этой патологии используют инъекции БТА в тиреоартериоидные мышцы гортани.

Поскольку на одну процедуру расходуется лишь небольшая доза токсина и для титрования доз требуется проведение нескольких последовательных процедур, неизбежно встает вопрос о возможности хранения оставшегося восстановленного препарата. Экспериментальное исследование, проведенное специалистами Университета Айовы, показало, что биологическая активность БТА, размороженного после 2 недель хранения, была на 69,8% ниже по сравнению с только что приготовленным препаратом ( $p < 0,0001$ ). При хранении восстановленного препарата в холодильнике в течение 6 часов его активность существенно не менялась ( $P = 0,16$ ). Испытания по определению LD50 проводили на белых мышах по стандартному протоколу.

Более оптимистичными были результаты экспериментальных исследований, проведенных в 2003 г. в клинике Св. Джозефа (Хьюстон, США) [9].

В задачи этого исследования вошло оценить фармакологическую активность и микробную числоту восстановленного раствора БТА, хранившегося в холодильнике на протяжении 12 недель. Эксперимент проводили на белых новозеландских кроликах, которым в правую переднюю ушную мышцу вводили БТА: 1-й группе — препарат, восстановленный в день инъекции (контроль), 2-й, 3-й и 4-й группам животных — восстановленный препарат, который до использования хранился в холодильнике в течение 2, 6 и 12 недель, соответственно. Левое ухо служило в качестве внутреннего контроля. Кроликов осматривали ежедневно, отмечая положение уха по 3-балльной шкале. Кроме того, до инъекции и каждые 2 недели после нее проводили исследование проводимости нервов (*nerve conduction study*). Исследование заканчивали, когда нервно-мышечная проводимость восстанавливалась и ухо принимало исходное положение (как и левое, интактное).

По результатам наблюдений оказалось, что миорелаксирующий эффект от введения свежеприготовленных и хранившихся в холодильнике восстановленных препаратов БТА на протяжении первых 4 недель существенно не отличался. После этого срока он начинал прогрессивно снижаться, причем тем сильнее, чем больше был срок хранения приготовленного раствора. Общая длительность эффекта хемоденервации составила: в 1-й группе — 7,80 недели, во 2-й — 7,75, 3-й — 7,00, 4-й — 5,40 недели. Полученные результаты свидетельствуют о том, что хранение разведенного раствора не влияет на его исходную активность, но приводит к уменьшению длительности действия. Допустимый срок хранения раствора без существенного изменения активности составляет, по мнению исследователей, 2 недели. Микробиологические исследования подтвердили отсутствие роста как аэробных, так и анаэробных бактерий на протяжении 12 недель.

В 2007 г. сотрудники медицинского факультета Университета Гази (Анкара, Турция) в ходе экспериментального исследования проверили влияние инъекций как свежеприготовленного, так и хранившегося после восстановления в холодильнике препарата БТА на ультраструктуру нервов и мышц [3]. Эксперимент также проводили на белых новозеландских кроликах, препараты вводили в переднюю ушную мышцу. Контролем служили как интактные мышцы и нервы, так и мышцы после введения в них физиологического раствора. Изменения в тканях оценивали при проведении электронной микроскопии.

По результатам проведенного исследования оказалось, что трофические изменения в мышцах через 5 недель после инъекций разных препаратов БТА существенно не различались. Через 3 месяца они были менее выражены в случае использования препарата, хранившегося в холодильнике. Что касается двигательных нервов, то свежеприготовленный препарат оказывал существенное влияние на их ультраструктуру, через 3 месяца картина была одинаковой независимо от вида препарата.

Параллельно экспериментальным работам было выполнено немало клинических исследований.

Одно из первых было проведено на базе четырех медицинских центров Бразилии под руководством Дорис Гексель [6]. В нем приняли участие 85 пациентов обоего пола в возрасте 19–79 лет (в среднем 46,41 года). Фототипы кожи — от I до V. Все группы были рандомизированы, т.е. их формирование проводили методом случайной выборки. Критериями исключения служили стандартные противопоказания к введению БТА.

Для восстановления токсина (ботокс) использовали стерильный 0,9% раствор хлорида натрия без консервантов. Смешивание проводили очень аккуратно, исключая

Хранение разведенного раствора не влияет на исходную активность БТА, но приводит к уменьшению длительности действия. Допустимый срок хранения раствора без существенного изменения активности составляет, по мнению исследователей, 2 недели.

## Научные исследования

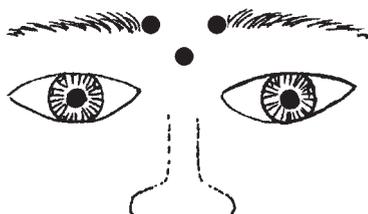


Рис. 1. Точки введения БТА (Hexel D. et al., 2003) [6]

образование пузырьков. Разведенные препараты хранили в холодильнике (согласно инструкции).

Пациентам каждой из 7 групп вводили один из препаратов ботулинического токсина (только что восстановленный, приготовленный 8, 15, 22, 29, 36 и 43 дня назад и хранившийся в холодильнике). БТА вводили в 3 стандартные точки межбровной области: мужчинам — по 9 ЕД в каждую точку, женщинам — по 8 ЕД (рис. 1). Конечно, пациенты нуждались в индивидуальном подборе эффективной дозы, однако в исследовании требовалось максимально стандартизировать протокол.

Осмотр пациентов проводили до процедуры, на следующий день и каждые 15 дней на протяжении 4 месяцев. Протокол обследования включал обязательное фотографирование как в покое, так и при попытке сдвинуть брови. Клиническая картина оценивалась как врачами, так и пациентами (рис. 2, 3). Фотографии оценивали независимые эксперты, а также врачи, участвовавшие в исследовании, однако при этом они не знали, какой препарат был введен (рис. 4). Принималось во внимание наличие морщин и складок в межбровной области как в покое, так и на фоне произвольного сокращения *m. procerus* и *m. corrugators supercilii* в день исследования, в последующем — только на фоне сокращения мышц, а также сама возможность сокращения мышц по сравнению с исходным уровнем (4 степени).

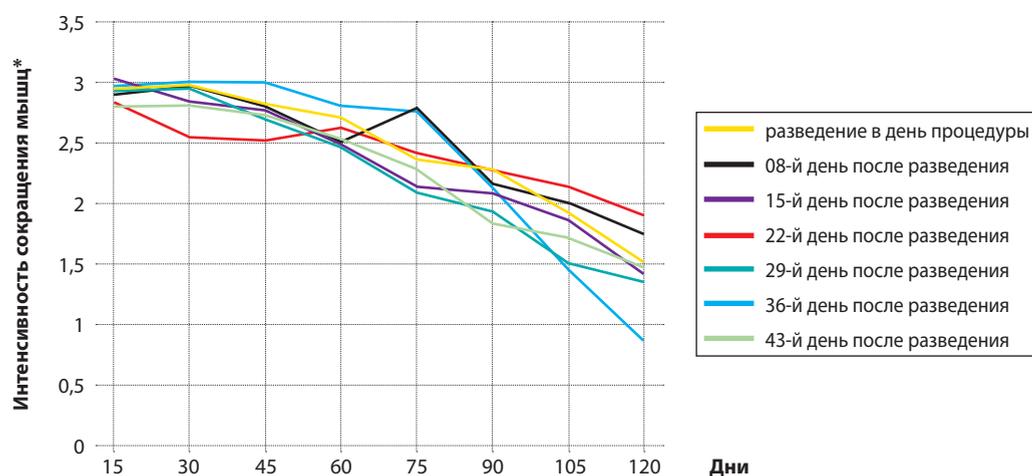


Рис. 2. Оценка врачами подвижности мышц межбровной области (Hexel D. et al., 2003) [6]

\*Согласно выбранной шкале: 0 — «подвижность мышц не изменилась по сравнению с исходным уровнем», 4 — «значительно снижена».

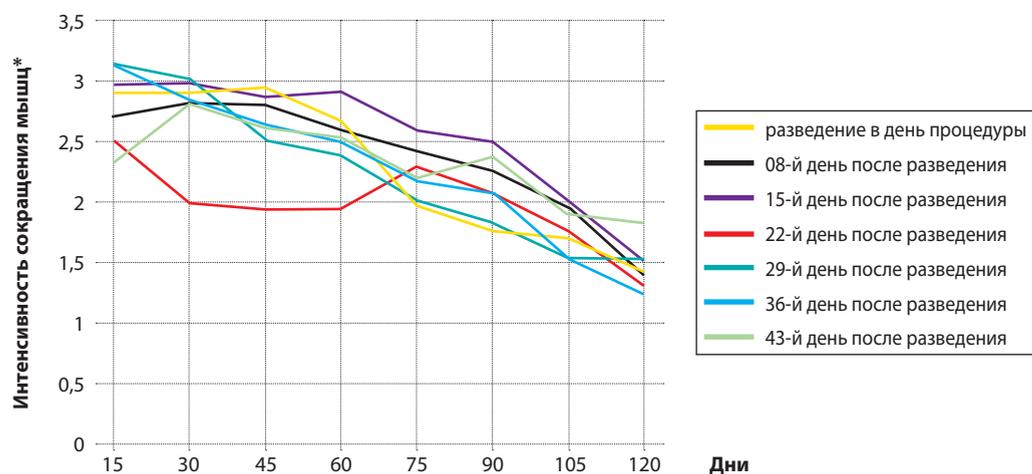


Рис. 3. Оценка пациентами подвижности мышц межбровной области (Hexel D. et al., 2003) [6]

\*Согласно выбранной шкале: 0 — «подвижность мышц не изменилась по сравнению с исходным уровнем», 4 — «значительно снижена».

В проведенном исследовании было убедительно доказано, что при хранении восстановленного препарата в холодильнике в течение 6 недель активность ботулотоксина существенно не изменяется. Незначительные различия наблюдались скорее между пациентами одной группы, поскольку на степень и длительность миорелаксирующего эффекта БТА влияют индивидуальные особенности человека.

Результаты проспективного рандомизированного двойного слепого контролируемого исследования изменения активности восстановленного БТА при хранении в холодильнике, проведенного в офтальмологической клинике Майами (США), были опубликованы в 2007 г. [8].

45 пациентам были проведены инъекции БТА (ботокс) в область «гусиных лапок»: с одной стороны вводился препарат только что восстановленный, с другой — в той же дозе, но восстановленный 2 недели назад и хранившийся в холодильнике. Всех пациентов фотографировали до процедуры, через 2, 6 недель и 3 месяца после нее. Кроме того, их самих просили описать эффект коррекции в сроки контрольных визитов. Фотографии оценивались независимыми экспертами (офтальмохирурги или пластические хирурги), которые были не в курсе характера используемых препаратов. Экспертизу проводили, используя 5-балльную шкалу оценки морщин.

Один из пациентов указал, что эффект от введения хранившегося токсина развился на третий день после инъекции, от свежеприготовленного — на четвертый. Врачи-исследователи отметили, что у 5 пациентов наблюдается более выраженный эффект на стороне, где вводился свежеприготовленный препарат, у 6 — препарат после хранения. Эксперты наблюдали асимметрию эффекта у 4 пациентов: у 2 — более выраженный эффект от введения «свежего» токсина, у 2 — от хранившегося 2 недели.

По мнению исследователей, хранение восстановленного препарата БТА в холодильнике в течение 2 недель не оказывает влияния на миорелаксирующий эффект токсина при коррекции морщин латеральных углов глаз.

Однако примерно в это же время появляется публикация противоположного свойства [13]. Исследование, проведенное специалистами медицинского колледжа Сеульского университета (Корея), также было направлено на изучение изменения активности восстановленного БТА при хранении.

В исследовании приняла участие 32 добровольца. Инъекции 2,5 ЕД БТА (к сожалению, из доступного для ознакомления реферата статьи непонятно о каком именно препарате идет речь. — Прим. ред.) проводились в *m. extensor digitorum brevis* (короткий разгибатель пальцев стопы): на одной ноге вводился свежеприготовленный раствор, на другой — хранившийся в холодильнике 1, 2 и 4 недели. Для оценки активности мышц сравнивали амплитуду движения пальцев стопы. По наблюдениям исследователей, более ограниченные движения наблюдались в случае использования свежеприготовленного раствора ( $p < 0,05$ ). Поэтому использование БТА после хранения в холодильнике ими не рекомендовалось.

### Влияние замораживания

Наличие противоречивых данных по стабильности восстановленного ботулинического токсина возможно и послужило катализатором для выполнения целого ряда исследований по изучению влияния замораживания уже восстановленного препарата на его свойства.

Одна из первых работ была выполнена в отделе неврологии медицинского центра Университета Лома Линда (Калифорния, США), ее результаты опубликованы в 1997 г. [15]. Электромиографическое исследование активности *m. extensor digitorum brevis* после инъекций раствора БТА (ботокс), как свежеприготовленного, так и хранившегося после восстановления в холодильнике (4 °С) или в морозильной камере (-20 °С) в течение 2 недель, показало отсутствие потери активности токсина при хранении.

Результаты проспективного открытого перекрестного исследования с участием 43 пациентов со спастической дисфонией аддукторного типа были опубликованы в 2006 г. [16]. В этом исследовании половине пациентов выполняли инъекции БТА (ботокс), восстановленного в день процедуры, другой половине — восстановленного и хранившегося в замороженном виде в течение 1–8 недель, а затем вновь размороженного. Каждый пациент получал 7 сеансов инъекций БТА. Данные по сравни-



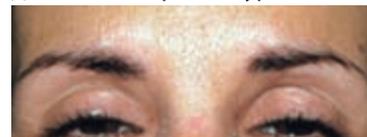
День 01-й — в покое



День 01-й — при нахмуривании



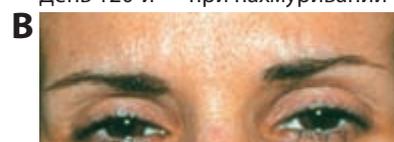
День 15-й — при нахмуривании



День 60-й — при нахмуривании



День 120-й — при нахмуривании



День 01-й — в покое



День 01-й — при нахмуривании



День 15-й — при нахмуривании



День 60-й — при нахмуривании



День 120-й — при нахмуривании

**Рис. 4.** Динамика клинической картины у пациентов, которым был введен токсин, разведенный в день инъекции (А) или 43 дня хранившийся в холодильнике (В) (Hexel D. et al, 2003) [6]

## Научные исследования

Таблица 1

Сравнительная эффективность свежеприготовленного препарата БТА (ботокс) и после хранения восстановленного препарата в замороженном состоянии [6]		
	Препарат, восстановленный в день процедуры	Размороженный после хранения препарат
Положительные результаты лечения	93,0%	90,7%
Длительность действия	16,0 +/-7,6 недели	16,2 +/-8,5 недели
Удовлетворенность пациентов результатами лечения (оценка по 7-балльной шкале Ликерта)	6,0 (5,0–7,0)	6,0 (4,0–7,0)

тельной эффективности собирали после 3-го сеанса, когда уже удавалось подобрать эффективную и безопасную дозу (0,33–6,0 ЕД в каждую мышцу, в среднем — 1,17 ЕД).

Эффективность лечения оценивалась по длительности действия (к количеству недель без спазма и проблем с речью) и степени удовлетворения эффектом (7-балльная шкала Ликерта). Особое внимание обращалось на побочные эффекты. В результате анализа полученных результатов стало очевидным отсутствие разницы между свежим и размороженным препаратами (таблица 1).

В медицинском центре Св. Франциска (Нью-Джерси, США) изучали активность восстановленного препарата БТА (ботокс) после 6 месяцев хранения в замороженном состоянии в сравнении с препаратом, восстановленным в день проведения процедуры [14]. В ходе проспективного исследования инъекции были выполнены в 118 областей лица 80 пациентам. Отличные результаты получены в 94,8% областей при использовании свежеприготовленного раствора и в 93,3% при использовании раствора после замораживания и оттаивания ( $p=1$ ). Побочные эффекты были редкими, легкими и разрешались самопроизвольно в обеих группах. Авторами исследования был сделан вывод о том, что вопреки общераспространенному мнению восстановленный БТА может храниться в замороженном виде на протяжении 6 месяцев без потери активности.

Одна из последних публикаций относится к 2008 г. [19]. Проспективное рандомизированное двойное слепое контролируемое исследование было выполнено на базе Питтсбургской медицинской школы (США) с участием 40 добровольцев (34 женщины и 6 мужчин) в возрасте 21–65 лет (в среднем 42,3 года).

За две недели до начала эксперимента был приготовлен разведенный препарат ботулотоксина (ботокс). Часть флаконов с препаратом хранилась в холодильнике, часть — в морозильной камере в течение 2 недель. При этом холодильником пользовались в обычном режиме. Всем флаконам были присвоены номера, так что в ходе исследования ни врач, проводящий инъекцию, ни пациент не знали, какой препарат используется.

Инъекции выполнялись по стандартной схеме: по 8 ЕД БТА в 8 точек лобной мышцы (по 4 точки с каждой стороны лба) (рис. 5). При этом с одной стороны лба вводился препарат, разведенный в день инъекции (контроль), в другую — после 2 недель хранения при тех или иных температурных условиях.

До процедуры, а также через 2 недели, 1, 2, 3 и 4 месяца после нее пациентов фотографировали. Для объективной оценки активности лобной мышцы на лбу отмечали по две точки, расположенные на среднелобной линии на расстоянии 15 мм от верхнего края бровей и 20 мм друг от друга (рис. 6). Подвижность лобной мышцы на разных сроках наблюдения оценивали по сближению точек (измеряли калипером) при попытке поднять брови. Для субъективной оценки подвижности мышц пациенты заполняли специальные опросники.

Еще до проведения инъекций у ряда пациентов была выявлена асимметрия подвижности лобной мышцы: у 20 пациентов она составила 0,5 мм, у 4 — 1,0 мм. В среднем подвижность мышцы, оцененная по уровню сближения точек-маркеров, составила 6,3 мм. Такая количественная оценка позволила учесть индивидуальные особенности пациентов на фоне проведения стандартного вмешательства.

Полученные результаты представлены на рис. 7, 8. Анализ результатов свидетельствует об отсутствии выраженных отличий в подвижности лобной мышцы с обеих сторон (уровень подвижности отличался не более чем на 0,5–1,0 мм) в рамках каж-

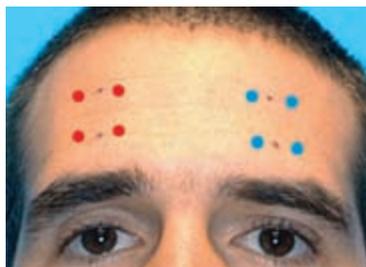


Рис. 5. Точки инъекций (в мышцу одной половины лба вводился препарат, разведенный в день процедуры, другой — разведенный 2 недели назад) (Yang G.C. et al., 2008) [19]

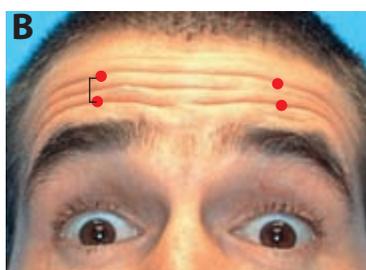
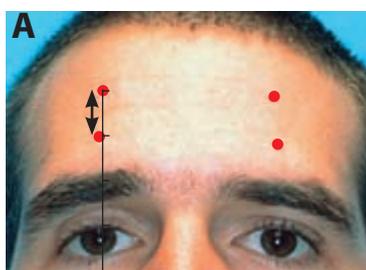


Рис. 6. Точки-маркеры, позволяющие оценить подвижность лобной мышцы (А и В) (Yang G.C. et al., 2008) [19]

дой группы. Более того, не отмечалось существенных изменений двигательной активности при сравнении результатов от введения охлажденного и замороженного препаратов. Исключением стал лишь один пациент, у которого наблюдалась большая подвижность мышц на стороне свежеприготовленного препарата на сроках 2 недели и 1 мес. (разница в подвижности соответствующей части лобной мышцы составила 1,5 мм).

При анализе заполненных пациентами опросников выяснилось, что при использовании замороженного препарата 4 пациента отмечали большую активность мышц на стороне контрольного препарата, однако эти наблюдения касались лишь некоторых сроков и не отражали тенденцию. В той группе, где пациентам вводили хранившийся в холодильнике препарат, 3 человека отмечали большую подвижность мышц с контрольной стороны, 3 — с той стороны, куда был введен хранившийся препарат. При анализе результатов измерений у всех этих пациентов существенных различий (более 1,0 мм) выявлено не было.

Через 4 месяца и врачи, и пациенты отметили практически полное восстановление активности лобной мышцы. Таким образом, по мнению исследователей, при внутримышечном введении БТА в адекватной дозе обеспечивается выраженный миорелаксирующий эффект. Длительность эффекта ботулинического токсина зависит только от скорости реиннервации мышц. Восстановленный препарат после хранения в течение 2 недель при температуре 4 °C или -20 °C своих свойств не изменяет.

## Консервация восстановленного препарата

Один из аргументов против длительного хранения разведенного ботулинического токсина заключается в возможности бактериального загрязнения из-за контаминации в процессе забора порций раствора для проведения инъекций.

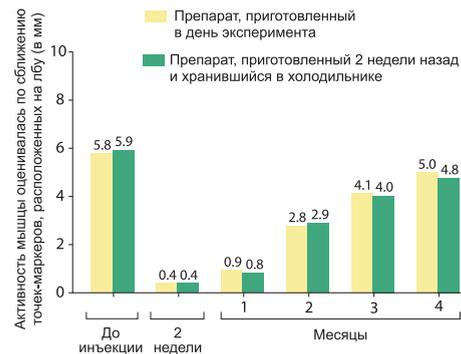
Задачей исследования, проведенного в отделе эстетической хирургии Чикагского университета (США), стало изучение сохранения стерильности в процессе хранения препарата ботулинического токсина (ботокс), который восстанавливали с использованием раствора хлорида натрия, содержащего консервант — бензиловый спирт [2]. В течение недели после разведения из каждого флакона (100 ЕД) отбирали препарат для проведения инъекций 1–3 пациентам (всего не более 60–80 ЕД). Все время между процедурами препараты хранились в обычном холодильнике вместе с другими медикаментами. После использования флаконы, в которых еще оставалось 20–40 ЕД БТА (0,5–1,0 мл), вновь помещали в холодильник и каждые 2 недели с соблюдением стандартных мер предосторожности из них отбирали пробы по 0,1 мл, имитируя дальнейшее использование. Забор проб проводился разными сестрами для исключения систематического нарушения санитарного режима. Оставшийся буквально на дне препарат отправляли на микробиологическое исследование. Содержимое всех 127 проанализированных образцов было признано стерильным.

Таким образом в процессе длительного хранения препарата БТА, восстановленный добавлением физиологического раствора с консервантом (бензиловым спиртом), остается стерильным и может быть использован на протяжении 1–4 месяцев. Это исследование служит еще одним подтверждением безопасности длительного хранения восстановленного раствора БТА, хотя и учитывает только один аспект — сохранение стерильности.

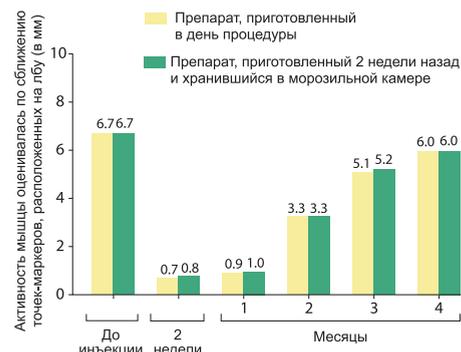
Использование консерванта — бензилового спирта — при восстановлении ботулинического токсина позволяет реализовать и еще один эффект — значительно снизить болезненность инъекций. Что и было подтверждено результатами клинических исследований, проведенных американскими дерматологами и опубликованных в 2002 г. [1].

Группой специалистов были проведены одновременно и ретроспективное исследование, и проспективное рандомизированное двойное слепое контролируемое исследование.

В ретроспективном исследовании приняли участие 20 человек (18 женщин и 2 мужчин) в возрасте 30–61 года (в среднем 48 лет). В данном исследовании анализировали ощущения пациентов (комфорт/дискомфорт), которым ранее в мышцы вер-



**Рис. 7. Активность лобной мышцы после инъекций БТА (ботокс): препарата, разведенного в день процедуры и за 2 недели и хранившегося при температуре 4 °C (Yang G.C. et al., 2008) [19]**



**Рис. 8. Активность лобной мышцы после инъекций БТА (ботокс): препарата, разведенного в день процедуры и за 2 недели и хранившегося при температуре -20 °C (Yang G.C. et al., 2008) [19]**

## Научные исследования

В процессе использования и длительного хранения препарат БТА, восстановленный с использованием физиологического раствора с консервантом, остается стерильным.

Восстановление БТА физиологическим раствором хлорида натрия с добавлением бензилового спирта приводит к существенному снижению болезненности инъекций и повышению комфортности процедуры.

ней части лица (лоб, межбровная область, «гусиные лапки») вводили БТА (ботокс), восстановленный без консерванта, а на контрольной процедуре — с консервантом (бензиловым спиртом). По результатам наблюдений почти 90% пациентов отметили большую комфортность инъекций БТА, приготовленного с использованием раствора с консервантом, по сравнению с проведенными ранее инъекциями.

В проспективном исследовании приняли участие 15 пациентов женского пола в возрасте 33–64 лет (в среднем 48 лет), которым вводили препарат в мышцы верхней части лица для коррекции динамических морщин. В одну половину лица вводили раствор БТА, приготовленный с использованием 5 мл 0,9% раствора хлорида натрия с консервантом (бензиловый спирт 0,9%), в другую — без консерванта. Пациентов просили оценить болезненность инъекций с обеих сторон. 100% пациентов заявили о меньшей болезненности инъекций в случае разведения БТА раствором с консервантом ( $p < 0,001$ ). Уровень боли был ниже на 54% (33–80%). Если ощущения от инъекции препарата без консерванта описывали как «укол», «укус», «щипок», говорили о боли и чувстве распирания, то от введения раствора с консервантом — «еле заметный укол» и даже «совсем не больно». Некоторые пациенты высказали предположение, что врач использует более тонкую иглу, хотя это было не так.

Достигнутый эффект миорелаксации не отличался на обеих половинах лица как по мнению специалистов, так и самих пациентов. Последующее наблюдение в течение 4 месяцев за пациентами, которые посещали клинику по разным поводам, показало, что характер и длительность эффекта на разных половинах лица были одинаковы. Таким образом, восстановление ботулинического токсина физиологическим раствором хлорида натрия с добавлением консерванта приводит к существенному снижению болезненности инъекций и повышению комфортности процедуры.

Различная болезненность инъекций БТА, восстановленного физиологическим раствором с консервантом или без него, не может быть объяснена, например, разницей pH растворов: в обоих случаях уровень pH был 4,5–7,0. Сотрудники лаборатории Эббот, где производятся оба вида физиологического раствора для инъекций, прокомментировали, что чаще всего pH растворов находится на уровне 5,0–5,6. Причем обычно несколько более кислым оказывается раствор с консервантом, что теоретически должно обуславливать большую болезненность именно его введения.

Единственная разница между этими двумя растворами — присутствие бензилового спирта. Дело в том, что сам по себе бензиловый спирт обладает выраженными анестезирующими свойствами. Это подтверждено в крайнем мере в 4 рандомизированных двойных слепых контролируемых исследованиях, где сравнивалась болезненность подкожных инъекций разных препаратов. Уже само по себе введение физиологического раствора хлорида натрия с бензиловым спиртом позволяет обеспечить анестезию перед внутривенным введением катетера. Причем этот эффект превысил таковой у 1% раствора лидокаина [12]. Некоторые авторы предлагают проводить кожную анестезию у пациентов с аллергией на лидокаин с помощью раствора хлорида натрия с бензиловым спиртом и эпинефрином. И хотя лидокаин позволяет достигать более выраженного и продолжительного анестезирующего эффекта, само его введение является достаточно болезненным.

Авторы исследования для восстановления БТА используют только консервированный физиологический раствор и отмечают возросшую удовлетворенность пациентов [1]. А это один из факторов их возвращения на повторную процедуру.

Еще одним подтверждением этих наблюдений служит рандомизированное двойное слепое контролируемое исследование офтальмологов из Университета Миссури (Канзас-Сити, США) с участием 20 пациентов [11]. По результатам исследования инъекции БТА, разведенного раствором, содержащим консервант, были менее болезненными ( $p < 0,0001$ ) как по оценкам врачей, так и пациентов. Использование консерванта не оказывало влияния на клинические эффекты БТА.

В 2003 г. были опубликованы результаты работы группы американских дерматологов, которые аналогичное исследование провели в отношении ботулинического токсина типа В. Препарат Myobloc выпускается в виде раствора, содержащего 5000 ЕД токсина, причем его инъекции достаточно дискомфортны для пациентов.



В проспективном рандомизированном двойном слепом контролируемом исследовании приняли участие 15 добровольцев (14 женщин и 1 мужчина), средний возраст которых составил 47 лет [18]. Пациентам проводили коррекцию гипердинамических морщин верхней части лица (лоб, межбровная область, латеральная часть орбиты) с использованием БТВ (M uobloc), дополнительно разведенного физиологическим раствором с консервантом (на одной стороне лица) или без него (на другой стороне). Меньшую болезненность инъекций на той стороне лица, где вводился состав с консервантом, отметили 87% пациентов ( $p=0,0006$ ), и только 13% (2 пациента) как менее болезненные оценили инъекции раствора без консерванта. По мнению большинства участников, уровень боли при использовании состава с консервантом был ниже на 32% (10–80%). По данным телефонных опросов пациентов, все они не отметили какой-либо разницы клинической картины на правой и левой стороне лица на протяжении 16 недель; при этом длительность миорелаксирующего эффекта БТВ не превышала 8–11 недель.

### Диспорт

Все приведенные выше данные были получены в отношении ботокса. А как же диспорт, который активно используется уже как минимум на трех континентах?

В 2009 г. были опубликованы убедительные результаты мультицентрового рандомизированного слепого контролируемого исследования активности восстановленного ботулинического токсина типа А в составе препарата диспорт, проведенные группой Дорис Гексель (Doris Hexel, Бразилия) [7].

В исследовании участвовали 105 здоровых добровольцев обоим пола в возрасте 18–60 лет. У всех участников отмечались динамические морщины в глабеллярной области. Фототип кожи — от II до V. Часть пациентов уже имела опыт инъекций БТА (ботокс или диспорт), другим пациентам инъекции БТА проводились впервые.

Всем пациентам вводили 50 ЕД БТА (диспорт) в 3 точки: по 20 ЕД в *m. corrugator* с каждой стороны и 10 ЕД в *m. procerus*. При восстановлении препарата в него добавляли 2,5 мл 0,9% раствора хлорида натрия. Часть флаконов с препаратом готовили за 15 дней до процедуры, часть — за 8 дней и затем хранили в холодильнике при температуре 2–8 °С. Флаконы были промаркированы таким образом, что врачи, проводившие инъекции, не были осведомлены о сроке хранения препарата.

Методом рандомизации были сформированы 3 группы:

- пациентам 1-й группы вводили препарат, восстановленный за 15 дней до проведения процедуры;
- пациентам 2-й группы вводили препарат, восстановленный за 8 дней до проведения процедуры;
- пациентам 3-й группы вводили препарат, восстановленный в день инъекции (хранился не более 8 часов в соответствии с инструкцией по применению).

Всех участников исследования фотографировали перед процедурой, а также через 28, 56, 84 и 112 дней после нее. Фотографии выполнялись как в состоянии мимического покоя, так и при максимальном напряжении мышц межбровной области. Подвижность мышц оценивали и врачи, и пациенты по 4-балльной шкале. Оценка фотографий в конце исследования проводили независимые эксперты, используя ту же шкалу.

Еще до проведения инъекций 8 флаконов с восстановленным препаратом, хранившимся в холодильнике в течение 30 дней, были отправлены на микробиологический анализ. По результатам анализа все образцы были стерильны. Флаконы с препаратом, оставшимся после проведения инъекций, также помещали в холодильник и хранили на протяжении 6 месяцев, после чего проводили контроль бактериальной чистоты. По данным микробиологического анализа, и эти образцы (некоторые из которых суммарно хранились около 10 месяцев) также были стерильными.

Анализ клинической картины и статистический анализ результатов по оценке подвижности мышц независимыми экспертами не выявил существенных различий между эффектом, полученным в разных группах пациентов. Пациенты, врачи и эксперты отметили, что миорелаксация сохранялась на протяжении 4 месяцев наблюдения (рис. 9).

Препарат диспорт в восстановленном виде сохраняет стерильность и фармакологическую активность при хранении в холодильнике на протяжении 15 дней.

## Научные исследования

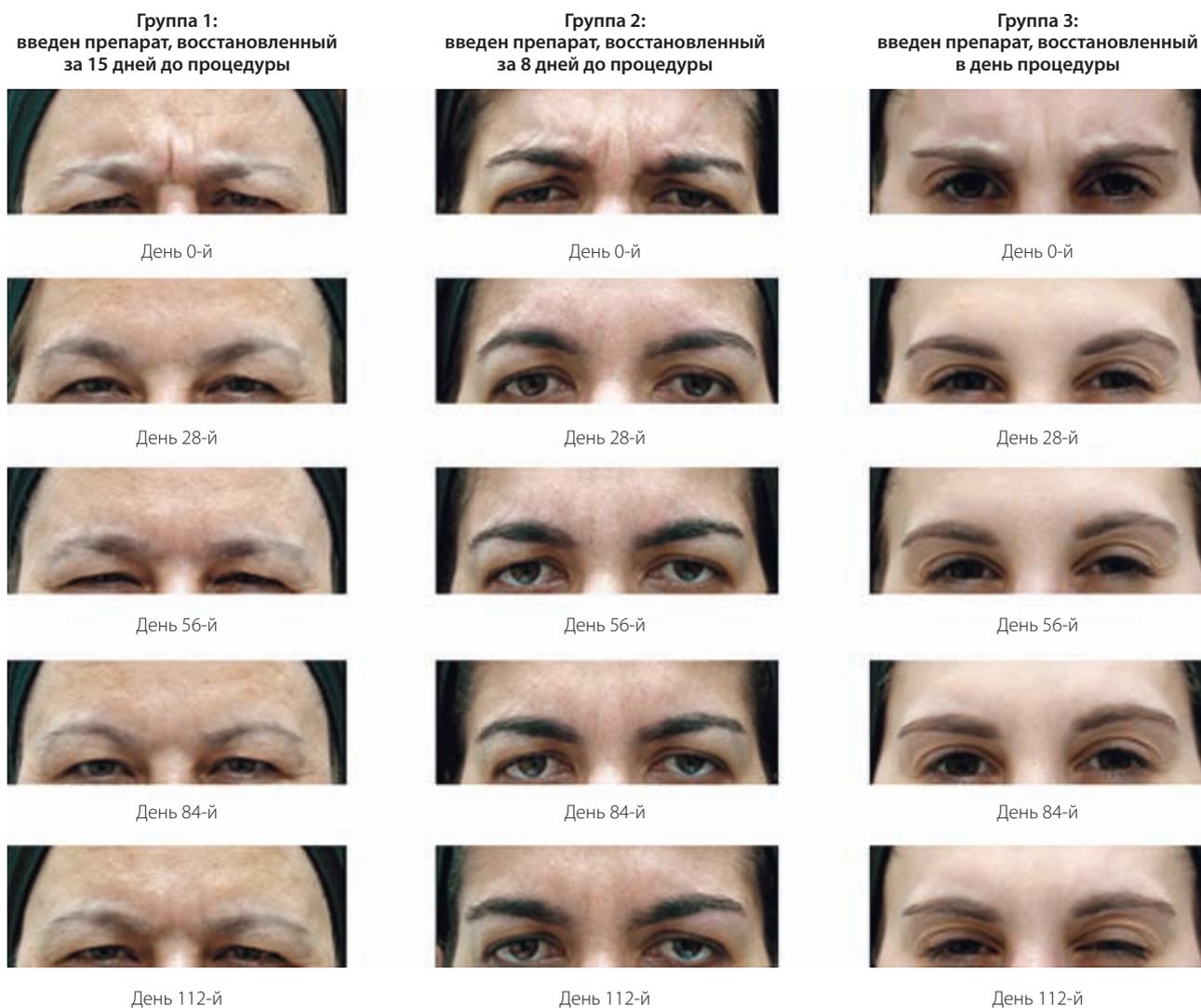


Рис. 9. Сравнение фотографий участников (при максимальном напряжении мышц) из трех групп в разные сроки (Hе хel D. et al., 2009) [7]

По мнению авторов исследования, хранение восстановленного препарата диспорт при температуре 2–8 °С (в холодильнике) в течение 15 дней не приводит к изменению активности токсина и микробной контаминации, что позволяет использовать хранившийся препарат в клинической практике.

### Заключение

Итак, у нас есть официальные инструкции по применению препаратов БТА и есть повседневная практика, которая постоянно ставит вопросы. Хорошо, что на некоторые из них у нас появились ответы.

Однако всем специалистам приходится сталкиваться с тем, что при использовании препаратов БТА в эстетической практике у разных пациентов мы получаем различные результаты. Более того, даже пациенты, которым подобная процедура проводилась не раз, иногда проявляют совершенно необычную реакцию. Среди возможных причин этого рассматривают вариабельность количества ЕД токсина во флаконе в определенных пределах. И все же основная причина — индивидуальные особенности каждого пациента — пол, возраст, анатомические особенности мышц, их масса, интенсивность биохимических и физиологических процессов, иммунологический статус. Поэтому, несмотря на наличие формальных рекомендаций, каждый раз после оценки индивидуальности пациента может потребоваться адаптация доз и схем введения. Но это уже новые вопросы.

Обзор подготовлен Е. Чайковской

## Литература



1. Alam M., Dover J.S., Arndt K.A. Pain associated with injection of botulinum A exotoxin reconstituted using isotonic sodium chloride with and without preservative: a double-blind, randomized controlled trial. *Arch Dermatol.* 2002; 138, 4: 510–514.
2. Alam M., Yoo S.S., Wrono D.A. et al. Sterility assessment of multiple use botulinum A exotoxin vials: A prospective simulation. *J Am Acad Dermatol.* 2006; 55, 2: 272–275.
3. Elmas C., Ayhan S., Tuncer S. et al. Effect of fresh and stored botulinum toxin a on muscle and nerve ultrastructure: an electron microscopic study. *Ann Plast Surg.* 2007; 59, 3: 316–322.
4. Gartlan M.G., Hoffman H.T. Crystalline preparation of botulinum toxin type A (Botox): degradation in potency with storage. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1993;108, 2: 135–140.
5. Gassner H.G., Sherris D.A. Addition of an anesthetic agent to enhance the predictability of the effects of botulinum toxin type A injections: a randomized controlled study. *Mayo Clin Proc.* 2000; 75, 7: 701–704.
6. Hexel D.M., De Almeida A.T., Rutowitsch M. et al. Multicenter, double-blind study of the efficacy of injections with botulinum toxin type A reconstituted up to six consecutive weeks before application. *Dermatol Surg.* 2003; 29, 5: 523–529.
7. Hexel D., Rutowitsch M.S., de Castro L.C. et al. Blind Multicenter Study of the Efficacy and Safety of Injections of a Commercial Preparation of Botulinum Toxin Type A Reconstituted up to 15 Days Before Injection. *Dermatol Surg.* 2009; 35, 6: 933–940.
8. Hui J.J., Lee W.W. Efficacy of fresh versus refrigerated botulinum toxin in the treatment of lateral periorbital rhytids. *Ophthalm Plast Reconstr Surg.* 2007; 23, 6: 433–438.
9. Jabor M.A., Kaushik R., Shayani P. et al. Efficacy of reconstituted and stored botulinum toxin type A: an electrophysiological and visual study in the auricular muscle of the rabbit. *Plast Reconstr Surg.* 2003; 111: 2419–2426.
10. Kazim N.A., Black E.H. Botox: shaken, not stirred. *Ophthalm Plast Reconstr Surg.* 2008; 24, 1: 10–12.
11. Kwiat D.M., Bersani T.A., Bersani A. Increased patient comfort utilizing botulinum toxin type a reconstituted with preserved versus nonpreserved saline. *Ophthalm Plast Reconstr Surg.* 2004; 20, 3: 186–189.
12. Nuttall G.A. et al. Establishing intravenous access: a study of local anesthetic efficacy. *Anesth Analg.* 1993; 77: 950–953.
13. Paik N.J., Seo K., Eun H.C. Reduced potency after refrigerated storage of botulinum toxin A: human extensor digitorum brevis muscle study. *Mov Disord.* 2006; 21, 10: 1759–1763.
14. Parsa A.A., Lye K.D., Parsa F.D. Reconstituted botulinum type A neurotoxin: clinical efficacy after long-term freezing before use. *Aesthetic Plast Surg.* 2007; 31, 2: 188–191.
15. Sloop R.R., Cole B.A., Escutin R.O. Reconstituted botulinum toxin type A does not lose potency in humans if it is refrozen or refrigerated for 2 weeks before use. *Neurology.* 1997; 48, 1: 249–253.
16. Tomas J.P., Siupsinskiene N. Frozen versus fresh reconstituted botox for laryngeal dystonia. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2006; 135: 204–208.
17. Vadoud-Seyedi J., Simonart T. Treatment of axillary hyperhidrosis with botulinum toxin type A reconstituted in lidocaine or in normal saline: a randomized, side-by-side, double-blind study. *Br J Dermatol.* 2007; 156, 5: 986–989.
18. Van Laborde S., Dover J.S., Moore M. et al. Reduction in injection pain with botulinum toxin type B further diluted using saline with preservative: A double-blind, randomized controlled trial. *J Am Acad Dermatol.* 2003; 48, 6: 875–877.
19. Yang G.C., Chiu R.J., Gillman G.S. Questioning the need to use Botox within 4 hours of reconstitution: a study of fresh vs 2-week-old Botox. *Arch Facial Plast Surg.* 2008; 10, 4: 273–279.



ОТ МИРОВОГО ЛИДЕРА В ОБЛАСТИ ДИАГНОСТИКИ КОЖИ  
COURAGE+KHAZAKA ELECTRONIC GMBH

РЕКЛАМА

### Multi Skin Test Center® MC 900



**ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ КОМБАЙН  
ДЛЯ КОМПЛЕКСНОЙ ОЦЕНКИ  
СОСТОЯНИЯ КОЖИ IN VIVO**

Позволяет проводить функциональную диагностику состояния кожи по следующим параметрам: увлажненность, жирность, пигментация и эритема, кислотно-щелочной баланс, барьерная функция (теваметрия), микроциркуляция (бесконтактная инфракрасная термометрия), блеск кожи (глюссиметрия), а также визуально оценивать состояние кожи в видимом и УФ-свете при помощи видеодерматоскопов. Результаты диагностики сохраняются в учетной карточке, и на их основе клиенту выдается распечатка с индивидуальными рекомендациями косметических средств.



**ШИРОКИЙ АССОРТИМЕНТ ДИАГНОСТИЧЕСКОГО ОБОРУДОВАНИЯ  
ДЛЯ РЕШЕНИЯ ВАШИХ ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ ЗАДАЧ**

Эксклюзивный дистрибьютор COURAGE+KHAZAKA ELECTRONIC GMBH  
в России и СНГ (кроме Украины):  
**ООО «НОВЫЕ ИДЕИ В КОСМЕТИКЕ»**  
117342, Москва, ул. Бултерова, 17-Б, офис 318  
Тел./факс: +7(495) 334 92 67, +7(495) 334 86 90  
info@nicosmetics.ru



**Новые Идеи в Косметике**  
[www.nicosmetics.ru](http://www.nicosmetics.ru)