

Rola toksyny botulinowej A w terapii neurologicznej

The role of botulin toxin A in neurological treatment

JAROSŁAW SŁAWEK

Z Poradni Konsultacyjnej Chorób Układu Pozapiramidowego Szpitala Specjalistycznego Gdańsk-Zaspa w Gdańsku

STRESZCZENIE. Leczenie toksyną botulinową *A* stało się w ostatnich latach uznaną i wysoce skuteczną metodą leczenia ogniskowych dystonii i połowiczego kurczu twarzy. Obecnie wydłuża się lista potencjalnych, nowych wskazań do leczenia tym preparatem. Autor przedstawia aktualny stan wiedzy na temat leku poparty własnym kilkuletnim doświadczeniem w jego stosowaniu.

SUMMARY. The treatment with botulin toxin *A* has been recognized in recent years as a highly effective medication method in focal dystonias and facial hemispasm. The list of potential new indications to treatment with this pharmaceutical has been currently extended. The author presents the relevant state-of-the-art knowledge, supporting it with his own experience from application of the drug in clinical practice over a few years' period.

Słowa kluczowe: toksyna botulinowa / terapia
Key words: botulin toxin / therapy

Toksyna botulinowa jest jedną z najsilniejszych trucizn biologicznych [37]. Produkowana jest przez Gram (+) laseczki beztlenowe *Clostridium botulinum*. W 1895 roku w Belgii prof. E. van Ermengen wyizolował bakterię z pożywienia, które stało się przyczyną masowego zatrucia i nazwał ją *Bacillus botulinus* [15]. Paradoksalnie, kilkadziesiąt lat później toksyna ta stała się jednym z najskuteczniejszych leków w terapii schorzeń przebiegających z nadmiernymi skurczami mięśni.

Pod koniec lat sześćdziesiątych amerykański okulista A. Scott ze *Smith-Kethwell Eye Research Foundation* w San Francisco użył po raz pierwszy toksyny do wyłączenia nadaktywnych mięśni oka u małp. Szukano wtedy alternatywnej do zabiegów operacyjnych metody leczenia zezu u ludzi. Ten sposób leczenia okazał się skuteczny i uitorował drogę dalszym badaniom [46].

Scott był także pierwszym badaczem, który użył toksyny w celach terapeutycznych

u ludzi (pierwsza publikacja z 1980 roku) [48, 49]. W 1989 roku *U.S. Food and Drug Administration* (FDA) wydała licencję na stosowanie toksyny botulinowej typu A w leczeniu zezu i kurczu powiek. Natomiast w 1990 roku w czasopiśmie *Neurology* ukazał się raport Podkomitetu Leków i Technologii Amerykańskiej Akademii Neurologii, oceniający metodę leczenia ogniskowych dystonii i połowiczego kurczu twarzy za pomocą lokalnych wstrzyknięć toksyny botulinowej A [4] jako wysoce skuteczną i bezpieczną.

BUDOWA CHEMICZNA

Toksyna botulinowa produkowana przez laseczki *Clostridium botulinum* występuje w 7 odmianach serologicznych, oznaczonych literami od A do G. Chociaż antygenowo różne, posiadają one podobny ciężar i strukturę podjednostek [10]. Toksyna typu A, używana w celach terapeutycznych, jest

syntetyzowana w postaci łańcucha polipeptydowego o masie około 150 000. W tej postaci jest ona mało aktywna w blokowaniu złącza nerwowo-mięśniowego.

Dopiero po enzymatycznej fragmentacji (enzymy bakteryjne lub trypsyna) do formy dwułańcuchowej staje się wysoce aktywna biologicznie [10, 15]. Dwa łańcuchy polipeptydowe: ciężki (100 000) i lekki (50 000) są połączone przez mostki dwusiarczkowe oraz wiązania niekonwalencyjne, a łańcuch lekki dodatkowo związany jest z jednym atomem cynku [15, 47].

Środkowy fragment lekkiego łańcucha wszystkich typów toksyny zawiera sekwencję aminokwasów: His-Glu-Axx-Axx-His, która jest częścią wiążącą atom cynku (Zn), typową dla enzymów z grupy tzw. Zn-endo-peptydaz [47]. Odkrycie to dało podstawę dla zrozumienia mechanizmu działania toksyny. Obecnie wiadomo, że działa ona proteolitycznie, tak jak inne enzymy z tej grupy.

MECHANIZM DZIAŁANIA

Toksyna botulinowa powoduje zahamowanie uwalniania acetylocholiny z zakończeń presynaptycznych w płytkach nerwowo-mięśniowych, a także w zwojach układu autonomicznego. Zjawisko to przebiega w trzech etapach: (1) wiązanie, (2) internalizacja i (3) zahamowanie uwalniania neurotransmitera. Wiązanie odbywa się poprzez specjalne receptory (prawdopodobnie sialoglikoproteiny) na powierzchni komórki, ale tylko w jej części presynaptycznej. Prawdopodobnie każdy z serologicznych typów toksyny ma swoje odrębne miejsce wiązania. Zakończenie C (*C-terminal*) łańcucha ciężkiego toksyny odpowiedzialne jest za jej wiązanie z receptorem. Internalizacja w pierwszym etapie polega na endocytozie (wpuklenie się błony komórkowej w miejscu receptorowym), a następnie na zamknięciu cząsteczek toksyny w endosomach. W kolejnym etapie zostaje ona uwolniona do cytoplazmy. Dokładny mechanizm tego zjawiska nie jest poznany, ale wiadomo, że odgrywa tu rolę N-zakoń-

czenie (*N-terminal*) łańcucha ciężkiego toksyny. Proces ten jest niezależny od jonów wapnia, ale częściowo zależny od stymulacji nerwu [10, 13]. Zahamowanie uwalniania neurotransmitera (acetylocholiny) polega natomiast na enzymatycznej fragmentacji białek cytoplazmy, odpowiedzialnych za jego uwolnienie do szczeliny synaptycznej. Za tą aktywność cząsteczki toksyny odpowiedzialny jest łańcuch lekki. Toksyna botulinowa nie wpływa natomiast na syntezę i magazynowanie acetylocholiny. Enzymatyczna aktywność toksyny została odkryta stosunkowo niedawno i zaliczono ją do klasy metaloproteaz (Zn-endo-peptydaza) [7, 15, 17, 33, 47].

Różne typy serologiczne toksyny mają różny punkt uchwytu w cytoplazmie działając na różne białka zaangażowane w proces uwalniania. Stosowana w leczeniu toksyna typu A działa enzymatycznie na białko SNAP-25 (*synaptosomal protein*).

Mechanizm działania toksyny można określić jako rodzaj chemicznego odnerwienia. Początek jej działania pojawia się zwykle w ciągu 24–72 godzin po podaniu [10] i trwa około 2–4 miesiące, a powrót funkcji mięśnia związany jest z procesem reinerwacji poprzez tworzenie nowych zakończeń nerwowo-mięśniowych (tzw. *sprouting*) [3, 33]. Po podaniu toksyny dochodzi w mięśniu do atrofii spowodowanej odnerwieniem, która jest odwracalna. Nie obserwowano także po długotrwałej terapii toksyną typu A u ludzi zmian zapalnych ani martwiczych w mięśniach [30, 56]. Okazuje się jednak, że działanie toksyny nie jest ograniczone tylko do miejsc podania.

Garner i wsp. w 1993 roku i Girlanda i wsp. w 1992 roku obserwowali zmiany w badaniu SF EMG (elektromiografia pojedynczego włókna) w mięśniach odległych od miejsc podania leku, w 3–13 dni od czasu iniekcji. Zmiany te utrzymywały się przez kolejne 3–4 miesiące [22, 25]. Przypisuje się to zjawisko dyfuzji leku drogą krwi do miejsc odległych. Otwarte jednak pozostaje nadal pytanie, czy nie jest to spowodowane zwrotnym transportem toksyny z zakończeń presy-

naptycznych do rdzenia kręgowego. W eksperymentach zwierzęcych udało się udowodnić za pomocą znakowanej izotopowo toksyny istnienie takiego transportu [8, 29, 59]. Jaki jest rzeczywisty wpływ tego zjawiska na redukcję objawów choroby lub powstawanie objawów ubocznych nie jest obecnie jasne. Jednakże pewne obserwacje kliniczne trudne są do wyjaśnienia lokalnym jedynie działaniem toksyny, np. normalizacja krzywej słuchowych potencjałów wywołanych z pnia mózgu (BAER) u chorych z dystonią szyjną po podaniu leku, czy też ustąpienie ruchów atetotycznych w kończynach górnych u dzieci z mózgowym porażeniem, którym podano lek do mięśni kończyn dolnych z powodu spastyczności [14, 23, 54].

Obserwowano także wpływ toksyny, podawanej miejscowo u chorych z połowicznym kurczem twarzy i dystonią szyjną, na zmiany w odruchach sercowo-naczyniowych, co także dowodzi odległego jej wpływu na układ autonomiczny [25].

Mierząc rozmiar włókien mięśniowych i barwiąc je na poziom acetylocholinestazy (jako wskaźnika odnerwienia) wykazano, że toksyna dyfunduje z miejsc podania na odległość około 4,5 cm [9]. Z tego powodu w leczeniu zaleca się wielopunktowe ostrzykiwanie mięśnia [10, 33].

Posługując się metodą barwienia PAS ustalono, że największy spadek glikogenu w mięśniach po drażnieniu elektrycznym nerwu występuje w środkowej jego części, która zawiera największą ilość płytek nerwowo-mięśniowych. Z tego powodu zaleca się ostrzykiwanie właśnie tej części mięśnia [52]. Obszar działania leku wzrasta także wraz z jego dawką i większym rozcieńczeniem [10].

Ilość toksyny w dostępnych na rynku preparatach i siła jej działania określane są w jednostkach. Jedna jednostka (j) odpowiada ilości toksyny letalnej dla 50% (LD-50) samic myszy *Swiss-Webster* o wadze 18–20 g [10]. Współczynnik LD-50 określono także dla małp. Po podaniu domięśniowym wynosi on 39 j/kg wagi ciała [50]. Wg Herrero i wsp. po podaniu dożylnym

wskaźnik ten jest podobny i wynosi 40 j/kg wagi ciała [31]. Najniższa dawka, która wywołuje toksyczność układową (systemową) wynosi 33 j/kg wagi ciała. Aoki z laboratorium firmy Allergan w Irvine, USA, w eksperymentach na myszach, stosując tzw. test znieruchomienia (*TST-immobility test*) określił dawkę 30 j/kg wagi ciała jako graniczną, powyżej której pojawia się uogólnione osłabienie mięśni po lokalnym podaniu toksyny do mięśni kończyny dolnej myszy [5]. Ekstrapolując dane Scotta i Herrero określono, że LD-50 dla człowieka o wadze 70 kg wynosi 3000 j.

Jednakże uogólnione osłabienie mięśni może wystąpić już przy dawce 1000 j podanej w ciągu 2 tygodni [10]. Oczywiście dawki stosowane w leczeniu są niższe i stanowią 1–10% dawki półletalnej (LD-50) [33]. Dane powyższe pochodzą z laboratorium firmy Allergan i dotyczą preparatu Botox.

Obecnie na rynku dostępne są dwa preparaty toksyny botulinowej A: *Botox* – amerykańskiej firmy Allergan oraz *Dysport* – angielskiej firmy Speywood. Aktywność biologiczna obu tych preparatów jest jednak różna – 1 ng preparatu Dysport odpowiada około 40 j mysim, podczas gdy 1 ng Botoxu około 2,5 j mysim [33]. Pomimo tej 16-krotnej różnicy kliniczna aktywność 1 j Botoxu odpowiada 3–4 j [33] lub nawet 6 j [20] preparatu Dysport. Preparat Botox jest dostępny na rynku w fiolkach po 100 j, natomiast Dysport po 500 j. Porównywanie stosowanych dawek przez różnych autorów oraz siły działania obu preparatów, z powodu braku dokładnego przelicznika, może sprawiać trudności w interpretacji różnych wyników badań.

TWORZENIE PRZECIWCIAŁ I PROBLEM OPORNOŚCI NA LECZENIE

Istotnym problemem wynikającym ze stosowania toksyny botulinowej wydaje się być immunizacja ustroju z tworzeniem przeciwciał przeciwko antygenowi, jakim jest białkowa cząsteczka toksyny. W kilku pracach

częstość występowania takich przeciwciał określono na 3–10% [26, 34, 61]. W pracy Greena i wsp. [26] wykryto przeciwciała u 24 na 559 pacjentów (4,3%). Jednakże w całej grupie chorych (559), aż 10,5% rozwinęło oporność na leczenie toksyną botulinową A. Wynika z tego, że najprawdopodobniej u części chorych nie udaje się wykryć przeciwciał (np. z powodu małej czułości metody) lub też istnieją jakieś inne przyczyny oporności. W pracy Siatkowskiego i wsp. [53], który używał 4-krotnie czulszej metody wykrywania przeciwciał (tzw. *sphere-linked immunodiagnostic assay*) w porównaniu z powszechnie stosowanym testem ELISA, wykryto przeciwciała aż u 57% z grupy 42 chorych leczonych toksyną botulinową z powodu połowiczego kurczu twarzy i dystonii szyjnej. Nie stwierdzono jednak u tych chorych z przeciwciałami oporności na leczenie. Także inne prace nie potwierdzają ścisłej zależności między obecnością przeciwciał a utratą skuteczności działania leku po kolejnych iniekcjach [57]. Większość powyższych danych dotyczy preparatu Botox. W pracy Zuber i wsp. ustalono natomiast 3% częstość występowania przeciwciał dla preparatu Dysport [61]. Prawdopodobnie różne testy diagnostyczne wykrywają przeciwciała dla różnych białkowych fragmentów toksyny – część być może skierowana jest przeciwko białkom towarzyszącym, a tylko część przeciwko fragmentom aktywnym biologicznie, co mogłoby tłumaczyć tak wielki odsetek chorych z przeciwciałami w pracy Siatkowskiego i wsp.

W związku z powyższymi doniesieniami ustalono listę czynników ryzyka dla rozwinienia się oporności na leczenie botuliną. Należą do nich:

- dostrzykiwanie leku w ciągu 2–3 tygodni po podaniu pierwszej dawki,
- zbyt częste iniekcje,
- wysokie dawki leku,
- młody wiek chorych [34, 61].

W praktyce oznacza to konieczność stosowania optymalnych (tzn. najmniejszych skutecznych) dawek leku i niezbyt częste powtarzanie wstrzyknięć (minimalny okres przerwy to 1 miesiąc) [10].

Dla chorych, u których rozwinęła się oporność na leczenie typem A toksyny prawdopodobnie w najbliższej przyszłości dostępne będzie leczenie toksyną typu F. Kliniczny efekt jej działania jest podobny do typu A, ale trwa tylko około 1 miesiąca. Jej molekularny mechanizm działania jest inny niż toksyny typu A i polega na enzymatycznej fragmentacji białek o nazwie *VAMP/synaptobrevin* i *cellulobrevin* w zakończeniach presynaptycznych [27, 40]. Toksyna typu F jest także efektywna klinicznie u chorych seronegatywnych, ale opornych na leczenie typem A. W pracy Greena i Fahna z 1996 roku 5 z 9 chorych seronegatywnych, opornych na typ A, zareagowało dobrze w 3 kolejnych sesjach na toksynę typu F [28].

W próbach klinicznych jest także typ B toksyny botulinowej, ale jego działanie nie jest jeszcze dokładnie poznane [10].

PRZECIWWSKAZANIA

Stosowanie toksyny botulinowej przeciwskazane jest u chorych z zaburzeniami transmisji nerwowo-mięśniowej, tzn. w miastenii, zespole Lamberta-Eatona, a także w chorobie neuronu ruchowego (MND – *motor neuron disease*), szczególnie jeżeli konieczne są duże dawki leku.

Także przy stosowaniu leków działających blokująco na złącze nerwowo-mięśniowe (aminoglikozydy) może dojść do trudnego do przewidzenia nasilenia działania toksyny [10]. Niewiele jest danych dotyczących stosowania leku w czasie ciąży. W pracy Scotta z 1989 roku u 9 kobiet ciężarnych leczonych toksyną botulinową A zanotowano 1 poród przedwczesny, który jednak nie był najprawdopodobniej związany ze stosowaniem leku [51]. Jednakże z powodu małej ilości danych nie poleca się leczenia w okresie ciąży.

Za wymowny należy uznać fakt, że przez ponad 10 lat szerokiego stosowania leku nie zanotowano trwałych efektów ubocznych czy przypadków zgonu związanych z leczeniem [10].

NOWE ZASTOSOWANIA LEKU

Stosowanie toksyny botulinowej A ma uznaną pozycję w leczeniu ogniskowych dystonii (kurcz powiek, kręcz karku, kurcz pisarski oraz szereg innych dystonii idiopatycznych i objawowych) oraz połowiczego kurczu twarzy, także w piśmiennictwie polskim [4, 18, 33, 42, 55]. Skuteczność leczenia botuliną znacznie przewyższa dotychczas stosowane metody. Efektywność leczenia określa się średnio na 90% (69–100%) w kurczu powiek, 53–90% w kręczu karku oraz 90% w połowicznym kurczu twarzy [4].

W ostatnich latach znalazła ona także zastosowanie w leczeniu innych chorób przebiegających z nadmiernymi skurczami mięśni. Należą do nich:

- spastyczność (u chorych po urazach czaszkowo-mózgowych i kręgosłupa, po przebytych udarze niedokrwiennym i krwotocznym mózgu, w stwardnieniu rozsianym oraz u dzieci z mózgowym porażeniem dziecięcym) [6, 14, 19, 32, 36, 38, 54, 58],
- sztywność (u chorych z postępującym porażeniem nadjądrowym, *stiff-person syndrome*) [16, 43],
- drżenie samoistne [35],
- choroba tików [11],
- pęcherz neurogeny [21],
- mioklonie podniebienia [45],
- zez [48, 49],
- skurcze mięśni gładkich przewodu pokarmowego [dyskinezy dróg żółciowych, achalazja wpustu] i zwieracza odbytu (szczelina odbytu) [2].

Toksyna znajduje też zastosowanie w leczeniu zespołów bólowych, związanych z bo-

lesnymi skurczami mięśni (ból krzyża związane ze wzrostem napięcia mięśni przykręgosłupowych, tzw. *off-painful dystonia* w późnym okresie choroby Parkinsona, w przewlekłych bólach mięśniowo-powięziowych – *myofascial pain* oraz w napięciowych bólach głowy, a także w bólach o innym podłożu (ból głowy Hortona) [1, 10, 12, 24, 33, 41, 46, 60].

Metoda leczenia nie jest tania. Obecnie ocenia się, że jedna sesja wstrzyknięć leku w przypadku kurczu powiek kosztuje 100 funtów angielskich, a w kręczu karku 300 funtów [39]. Jednakże biorąc pod uwagę całkowity rachunek ekonomiczny leczenia chorych, np. z dystonią szyjną (przewlekłe przyjmowanie mało skutecznych doustnych leków, zabiegi operacyjne, rehabilitacja, świadczenia rentowe i rehabilitacyjne), ostateczny koszt leczenia jest znacznie niższy, przy przyjęciu, że iniekcje konieczne są średnio co 3 miesiące [33].

Własne doświadczenia autora w leczeniu ogniskowych dystonii, połowiczego kurczu twarzy oraz spastyczności u chorych z mózgowym porażeniem dziecięcym potwierdzają wysoką efektywność i bezpieczeństwo opisywanej metody leczenia [54, 55].

PIŚMIENNICTWO

1. Acquardo M.A., Borodic G.E.: Treatment of myofascial pain with botulinum A toxin. *Anesthesiology* 1994, 80, 705–706.
2. Albanese A. i wsp.: The use of botulinum toxin on smooth muscles. *Eur. J. Neurol.* 1995, suppl. 3, 29–34.
3. Alderso K., Holds J.B., Anerson R.L.: Botulinum – induced alteration of nerve-muscle interactions in the human orbicularis oculi following treatment for blepharospasmus. *Neurology* 1991, 41, 1800–1805.
4. American Academy of Neurology. Assessment: the clinical usefulness of botulinum toxin A in treating neurologic disorders. *Neurology* 1990, 40, 1332–1336.
5. Aoki K.R., Peng K., Siddiqui T., Gruber L., Spamoyannis A.: Pharmacology of Botox (botulinum type A toxin) purified neurotoxin complex: local versus systemic muscle activity

- measurements in mice. *Eur. J. Neurol.* 1995, 2, suppl. 3, 3–9.
6. Bhakta B.B., Cozens J.A., Bamford J.M., Chamberlain M.A.: Use of botulinum toxin in stroke patients with severe upper limb spasticity. *J. Neurol. Neurosurg. Psych.* 1996, 61, 30–35.
 7. Black J.D., Dolly J.O.: Interaction of 125-I labeled botulinum neurotoxins with nerve terminals. Audiographic evidence for its uptake into motor nerves by acceptor – mediated endocytosis. *J. Cell. Biol.* 1986, 103, 535–544.
 8. Black J.D., Dolly J.O.: Selective location of acceptors for botulinum neurotoxin type A in the central and peripheral nervous systems. *Neuroscience* 1987, 23, 767–779.
 9. Borodic G.E., Ferrante R., Pearce L.B., Smith K.: Histologic assessment of dose-related diffusion and muscle fiber response after therapeutic botulinum toxin A injections. *Mov. Disord.* 1994, 9, 31–39.
 10. Brin M.F.: Botulinum toxin: chemistry, pharmacology and preparation for use American Academy of Neurology, demonstration skills workshop series – clinical usefulness of botulinum toxin for treatment of dystonia and other muscle spasms. March 29, 1996, 350.
 11. Burton L. i wsp.: Botulinum toxin injection into vocal cord in the treatment of malignant coprolalia associated with Tourette's Syndrome. *Mov. Disord.* 1996, 4, 431–433.
 12. Cheshire W.P., Abashian S.W., Mann J.D.: Botulinum toxin in the treatment of myofascial pain syndrome. *Pain* 1994, 59, 65–69.
 13. Coffield J.A., Considine R.V., Simpson L.L.: The site and mechanism of action of botulinum neurotoxin. W: Jankovic J., Hallett M. (red.): *Therapy with Botulinum Toxin*. Marcel-Dekker, New York 1994, 3–14.
 14. Cosgrove A.P., Corry J.S., Graham U.K.: Botulinum toxin in the management of the lower limb in cerebral palsy. *Dev. Med. Child. Neurol.* 1994, 36, 386–396.
 15. Das Gupta B.R.: Structures of botulinum neurotoxin, its functional domains and perspectives on the crystallinetype A toxin. W: Jankovic J., Hallett M. (red.): *Therapy with Botulinum Toxin*. Marcel-Dekker, New York 1994.
 16. Davis D., Jabbari B.: Significant improvement of Stiff-Person Syndrome after paraspinal injection of Botulinum toxin A. *Mov. Disord.* 1993, 8, 371–373.
 17. Dolly J.O., Ashton A.C., Mc Innes C. i wsp.: Clues to the multiphasic inhibitory action of botulinum neurotoxins on release of transmitters. *J. Physiol.* 1990, 84, 237–246.
 18. Domżał T.: Własne doświadczenia w leczeniu dystonii botuliną. *Neurol. Neurochir. Pol.* 1995, 4, 481.
 19. Dunne J.W., Heye N., Dunne S.L.: Treatment of chronic limb spasticity with botulinum toxin A. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 1995, 58, 232–235.
 20. Durif F.: Clinical bioequivalence of the current commercial preparations of botulinum toxin. *Eur. J. Neurol.* 1995, 2, suppl. 3, 17–18.
 21. Dykstra D.D.: Effects of botulinum toxin A on detrusor sphincter dyssynergia in spinal cord injury patients. W: Jankovic J., Hallett M. (red.): *Therapy with Botulinum Toxin*. Marcel-Dekker, New York 1994, 535–542.
 22. Garner C.G., Straube A., Witt T.N., Gasser T., Oertel W.H.: Time course of distant effects of local injections of botulinum toxin. *Mov. Disord.* 1993, 8, 33–37.
 23. Giladi N.: The non-neuromuscular effects of botulinum toxin injections. *Eur. J. Neurol.* 1995, 2, suppl. 3, 11–16.
 24. Ginies J.L. i wsp.: Treatment of cluster headaches by subcutaneous injection of botulinum toxin. 8th World Congress on Pain, Vancouver, Canada, Aug. 17–22, 1996.
 25. Girlanda P., Vita G., Nocolosi C.: Botulinum toxin therapy: distant effects on neuromuscular transmission and autonomic nervous system. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 1992, 55, 844–845.
 26. Greene P., Fahn S., Diamond B.: Development of resistance to botulinum toxin type A in patients with torticollis. *Mov. Disord.* 1994, 9, 213–217.
 27. Greene P., Fahn S.: Use of botulinum toxin type F injections to treat torticollis in patients with immunity to botulinum toxin type A. *Mov. Disord.* 1993, 8, 479–483.
 28. Greene P., Fahn S.: Response to botulinum toxin F in seronegative, botulinum toxin A resistant patients. *Mov. Disord.* 1996, 2, 181–184.
 29. Haberman E.: 125-I-labeled neurotoxin from *Clostridium botulinum* A: preparation, binding to synaptosomes and ascent to the spinal cord. Naunyn-Schmiedeberg's *Arch. Pharmacol.* 1974, 281, 47–56.

30. Harris C.P., Alderson K., Nebeker J., Holds J.B., Anderson R.L.: Histologic features of human orbicularis oculi treated with botulinum A toxin. *Arch. Ophthalmol.* 1991, 109, 393–398.
31. Herrero B.A., Ecklund A.E., Street C.S., Ford D.F., King J.K.: Experimental botulism in monkeys – a clinical pathological study. *Exp. Mol. Pathol.* 1967, 6, 84–95.
32. Hesse S. i wsp.: Botulinum toxin treatment for lower limb extensor spasticity in chronic hemiparetic patients. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 1994, 57, 1321–1324.
33. Jankovic J.: Botulinum toxin in movement disorders. *Curr. Op. Neurol.* 1994, 7, 358.
34. Jankovic J., Schwartz K.S.: Clinical correlates of response to botulinum toxin injections. *Arch. Neurol.* 1991, 48, 1253–1256.
35. Jankovic J. i wsp.: A randomized, double-blind, placebo – controlled study to evaluate botulinum toxin type A in Essential Hand Tremor. *Mov. Disord.* 1996, 3, 250–256.
36. Koman L.A. i wsp.: Management of spasticity in cerebral palsy with botulinum A toxin: report of preliminary, randomized, double-blind trial. *J. Ped. Orthop.* 1994, 14, 199–203.
37. Lamanna C.: The most poisonous poison. *Science* 1959, 130, 763–772.
38. Lagueny A.: Botulinum toxin for spasticity: an overview. *Eur. J. Neurol.* 1995, 2, suppl. 3, 41–46.
39. Lees A.J.: Botulinum toxin A. *BMJ* 1992, 305, 1169.
40. Ludlow C.L., Hallett M., Rhew K. i wsp.: Therapeutic use of type F botulinum toxin. *N. Engl. J. Med.* 1992, 326, 349–350.
41. Pacchetti i wsp.: Off-painful dystonia in Parkinson Disease patients treated with botulinum toxin. *Mov. Disord.* 1995, 3.
42. Poewe W., Wissel J.: Experience with botulinum toxin in cervical dystonia. W: Jankovic J., Hallett M. (red.): *Therapy with Botulinum Toxin.* Marcel-Dekker, New York 1994, 267–278.
43. Polo K.B., Jabbari B.: Botulinum toxin A improves the rigidity of Progressive Supranuclear Palsy. *Ann. Neurol.* 1994, 35, 237–239.
44. Polo K.B., Jabbari B.: Effectiveness of botulinum toxin A against painful limb myoclonus of spinal cord origin. *Mov. Disord.* 1994, 2, 233–235.
45. Saeed S.R., Brookes G.B.: The use of Clostridium botulinum toxin in palatal myoclonus: a preliminary report. *J. Laryngol. Otol.* 1993, 107, 208–210.
46. Schantz E.J.: Historical perspective. W: Jankovic J., Hallett M. (red.): *Therapy with Botulinum Toxin.* Marcel-Dekker, New York 1994.
47. Schiavo G., Rossetto O., Santucci A., Das Gupta B.R., Montecucco C.: Botulinum neurotoxins are zinc proteins. *J. Biol. Chem.* 1992, 267, 23479–23483.
48. Scott A.B.: Botulinum toxin injections into extraocular muscles as an alternative to strabismus surgery. *Ophthalmology* 1980, 87, 1044–1049.
49. Scott A.B.: Botulinum toxin injection of eye muscles to correct strabismus. *Trans. Am. Ophthalmol.* 1981, 79, 734–770.
50. Scott A.B., Suzuki B.: Systemic toxicity of botulinum toxin by intramuscular injection in monkey. *Mov. Disord.* 1988, 3, 333–335.
51. Scott A.B.: Clostridial toxins as therapeutic agents: W: Simpson L.L. (red.): *Botulinum Neurotoxin and Tetanus Toxin.* Academic Press, New York 1989, 399–412.
52. Sharri C.M., Sanders J.: Quantifying how location and dose of botulinum toxin injections affect muscle paralysis. *Muscle Nerve* 1993, 16, 964–969.
53. Siatkowski R.M., Tyutyunikow A., Biglan A.W.: Serum antibody production to botulinum A toxin. *Ophthalmology* 1993, 100, 1861–1866.
54. Sławek J., Maciąg-Tymecka I.: Leczenie spastyczności u dzieci z mózgowym porażeniem dziecięcym za pomocą miejscowych wstrzyknięć toksyny botulinowej A. *Ped. Pol.* (w druku).
55. Sławek J., Dużyński W.: Zastosowanie kliniczne toksyny botulinowej A. *Post. Nauk Med.* 1996, IX, 1–48, 7–9.
56. Spencer R.F., Mc Neer K.W.: Botulinum toxin paralysis of adult monkey extraocular muscle. Structural alterations in orbital, singly innervated muscle fibres. *Arch. Ophthalmol.* 1987, 105, 1703–1711.
57. Tsui J.K., Wong W.L.M., Wong E., Calne D.B.: Production of circulating antibodies to botulinum A toxin in patients receiving repeated injections for dystonia. *Ann. Neurol.* 1988, 23, 181 (Abstract).

58. Tsui J.K.C., O'Brien C.F.: Clinical trials for spasticity. W: Jankovic J., Hallett M. (red.): *Therapy with Botulinum Toxin*. Marcel-Dekker, New York 1994, 523–534.
59. Williams R.S., Tse C.K., Dolly J.O. i wsp.: Radioiodination of botulinum neurotoxin type A with retention of biological activity and its binding to brain synaptosomes. *Eur. J. Biochem.* 1983, 131, 437–445.
60. Yeu S.K. i wsp.: Compartment approach to the treatment of myofascial pain syndrome of the shoulder and pelvic girdles (including lower back pain). 8th World Congress on Pain, Vancouver, Canada, Aug. 17–22, 1996.
61. Zuber M., Sebald M., Bathien N. i wsp.: Botulinum antibodies in dystonic patients treated with type A botulinum toxin: frequency and significance. *Neurology* 1993, 43, 1715–1718.

*Adres: Dr Jarosław Sławek, Poradnia Konsultacyjna Chorób Układu Pozapiramidowego,
ul. Jana Pawła II, 80-462 Gdańsk*