

Botulinum toksin – otrov i lek

Botulinum toxin – poison and medicine

Svetlana Goločorbin-Kon¹, Aleksandra Mikov², Velibor Vasović³, Nebojša Pavlović¹, Mladena Lalić-Popović¹, Lucija Vasović⁴, Saša Vukmirović³, Sanja Kecman⁵, Momir Mikov³

1. Univerzitet Novi Sad, Medicinski fakultet, Katedra za Farmaciju, Novi Sad, Srbija
2. Univerzitet Novi Sad, Medicinski fakultet, Institut za zdravstvenu zaštitu dece i omladine Vojvodine, Novi Sad, Srbija
3. Univerzitet Novi Sad, Medicinski fakultet, Zavod za farmakologiju, toksikologiju i kliničku farmakologiju, Novi Sad, Srbija
4. Univerzitet Novi Sad, Medicinski fakultet, Novi Sad, Srbija
5. Univerzitet Banja Luka, Medicinski fakultet, Banja Luka, Republika Srpska, Bosna i Hercegovina

PRIMLJEN 29.11.2018..
PRIHVAĆEN 31.01.2019..

APSTRAKT

Botulinum toksin je neurotoksin koji stvara Gram-pozitivna, anaerobna bakterija *Clostridium botulinum* i izlaganjem uticaju ovog neurotoksina razvija se botulizam. Ovaj neurotoksin svoj paralitički efekat ostvaruje brzom, ireverzibilnom blokadom neuromišićne transmisije. Identifikovano je 7 serotipova botulinum toksina [A, B, C (C1, C2), D, E, F i G], strukturno sličnih, ali antigenski i serološki različitih. Botulizam je kod ljudi najčešće uzrokovan neurotoksinima tipa A, B, E, retko neurotoksinom F. Tipovi C i D izazivaju toksičnost kod životinja. Botulizam se manifestuje u vidu mučnine, povraćanja, otežanog gutanja, duplog viđenja i suvoće usta. Dodatne neurološke manifestacije uključuju paralizu koja može dovesti do prestanka disanja. Terapija je urgentna primena polivalentnog antitoksičnog seruma koji je efikasan protiv svih 7 serotipova toksina. No i pored svoje velike toksičnosti, botulinum toksin formulisani u obliku injekcija je našao veliku primenu u medicini u terapiji distonije, hiperhidroze, strabizma, blefarospazma, spazma ekstremiteta, kod učestalog mokrenja i migrene. U ovom preglednom radu detaljnije se opisuju istorijat, mehanizam dejstva botulinum toksina, epidemiologija botulizma, toksikološki aspekti uključujući kliničku sliku, tipove, dijagnozu i lečenje trovanja i klinička primena botulinum toksina kao leka sa posebnim osvrtom na doziranje, indikacije u neurologiji i upotrebu u estetskoj medicini.

Ključne reči: botulinum toksin; botulizam; farmaceutski preparati; terapija; pregled.

Svetlana Golocorbin-Kon¹, Aleksandra Mikov², Velibor Vasovic³, Nebojsa Pavlovic¹, Mladena Lalic-Popovic¹, Lucija Vasovic⁴, Sasa Vukmirovic³, Sanja Kecman⁵, Momir Mikov³

1. University of Novi Sad, Medical Faculty, Department of Pharmacy, Novi Sad, Serbia
2. University of Novi Sad, Medical Faculty, Institute for Child and Youth Health Care, Vojvodina, Novi Sad, Serbia
3. University of Novi Sad, Medical Faculty, Department of Pharmacology, Toxicology and Clinical Pharmacology, Novi Sad, Serbia
4. University of Novi Sad, Medical Faculty, Novi Sad, Serbia
5. University of Banja Luka, Medical Faculty, Banja Luka, Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina

RECEIVED 29.11.2018..
ACCEPTED 31.01.2019..

ABSTRACT

Botulinum toxin is neurotoxin produced by Gram-positive anaerobic bacteria *Clostridium botulinum* and exposure to the influence of this neurotoxin develops botulism. The paralytic effect of this neurotoxin is induced by rapid, irreversible blockade of neuromuscular transition. Seven serotypes of botulinum toxin [A, B, C (C1, C2), D, E, F and G] were identified, with a similar structure but with different antigen and serological characteristics. Botulism in human population most frequently caused by neurotoxins of type A, B, E; rarely by neurotoxin type F. Types C and D induce toxicity in animals. Botulism is manifested in the form of nausea, vomiting, swallowing difficulties, diplopia, and dry mouth. Additional neurological manifestations include muscle paralysis that can induce breathing stops. The therapy is emergency use of polyvalent antitoxin serum which is effective against all 7 serotypes of neurotoxin. Despite its high toxicity, botulinum toxin formulated as injection has found great application in medicine, in the treatment of dystonia, hyperhidrosis, strabismus, blepharospasm, muscles spasm, dysuria and migraine. This review paper describes in more detail the history, the mechanism of action of botulinum toxin, epidemiology of botulism, toxicological aspects including clinical features, types, diagnosis and treatment of poisoning and the clinical application of botulinum toxin as a drug, with particular reference to dosing, indications in neurology and the use in aesthetic medicine.

Key words: botulinum toxins; botulism; pharmaceutical preparations; therapeutics; review.

KORESPONDENCIJA / CORRESPONDENCE

Prof. dr Svetlana Golocorbin-Kon, Medicinski fakultet, Hajduk Veljkova 3, 21000 Novi Sad, Tel. 062850178, E-mail: svetlana.golocorbin-kon@mf.uns.ac.rs

Prof. Svetlana Golocorbin-Kon, Ph.D., Medical Faculty, Hajduk Veljkova 3, 21000 Novi Sad, Serbia, Phone +381 62850178, E-mail: svetlana.golocorbin-kon@mf.uns.ac.rs

UVOD

Bakterija *Clostridium botulinum* je ubikvitarni organizam koji je rasprostranjen u zemljištu, na biljkama, voću i povrću, ribama, u digestivnom traktu životinja, i posleđično fecesu naročito glodara (miševa, pacova) i karnivora (mačaka). *Clostridium botulinum* je Gram-pozitivni, anaerobni, sporogeni bacil koji sintetizira termolabilni egzotoksin. Pod mikroskopom izleda kao dugačak štapić raspoređen pojedinačno, ređe u parovima, sa ovalnom sporom koja se nalazi subterminalno, deformišući telo bacila. Mikroorganizam je pokretan, ne stvara kapsulu i saprofit je. U anaerobnim uslovima se razmnožava i stvara egzotoksin a u slobodnoj sredini formira spore. Sinteza toksina se vrši u leševima i biljkama koje trunu, konzervisanoj hrani i mesnim prerađevinama i u drugim anaerobnim sredinama. Spore *C. botulinum* su izrazito termostabilne, pa mogu da opstanu i više sati u uslovima temperature od 100°C. Vlažna toplota, na temperaturi od 120°C, kroz 30 minuta, na bacil deluje baktericidno. Toksin je, s druge strane termolabilan pa izlaganje hrane na 80°C kroz 30 minuta predstavlja preventivnu meru protiv botulizma.¹

Postoji 7 serotipova *Clostridium botulinum*: A, B, C (C1- α i C2- β), D, E, F, G, koji se međusobno razlikuju po biohemijskoj strukturi, imunološkim i farmakološkim svojstvima. Serotipovi A, B, E i ređe tip F, izazivaju bolest kod ljudi dok serotipovi A i B imaju vrlo veliki toksikološki potencijal, stvarajući toksine otporne na razgradnju digestivnim enzimima. *Clostridium botulinum* tipa C i D najčešće izaziva animalni botulizam.²

Sama toksoinfekcija bacilom se vrlo retka, a može da nastane germinacijom spora u gastrointestinalnom traktu i u ranama u kojima vladaju anaerobni uslovi. Peroralni unos mikroorganizma, bilo sporogenog ili nesporogenog oblika, ne dovodi do infekcije ljudi jer bakterija nesmetano prolazi digestivni trakt. Dakle, unos toksina je glavni činilac nastanka oboljenja, što se dešava konzimiranjem namirnica u kojima je *Clostridium botulinum* u anaerobnim uslovima već prethodno sintetisao toksin.

ISTORIJAT

Nemački lekar i pesnik Justinus Kerner (1786–1862) je razvio ideju o mogućoj terapijskoj upotrebi botulinum toksina, koga je nazvao „otrov kobasica“. Dr Muller, takođe nemački lekar je 1870. godine kreirao ime botulizam jer na latinskom *botulus* znači kobasica s obzirom da sama bakterija izgledom podseća na kobasicu. Belgijski profesor Emile Van Ermengem je 1895. godine prvi izolovao bakteriju *Clostridium botulinum* a dr Herman Sommer je 1928. godine prvi izolovao prečišćenu formu botulinum toksina tipa A, kao precipitat stabilne kiseline.

Dr Edward J. Schantz uspeo je 1946. godine da izoluje botulinum toksin tipa A u kristalnom obliku. Istraživačka grupa dr Burgensa je 1949. godine otkrila da botulinum toksin blokira neuromuskularnu transmisiju a 1950. godine dr Vernon Brooks je otkrio da nakon ubrizgavanja botulinum toksina-A u hiperaktivan mišić, dolazi do blokade otpuštanja acetilholina iz motornih nervnih završetaka. Dr Alan B. Scott iz „Smith-Kettlewell Eye Research“ instituta, koristio je 1973. godine botulinum toksin – A u eksperimentu sa majmunima a 1980. godine ga je prvi put koristio kod ljudi. Široka klinička primena botulinum toksina započinje 1989. godine kada je Američka Agencije za hranu i lekove (Food and Drug Administration - FDA) odobrila botulinum toksin – A za terapiju strabizma, blefarospazma i hemifacijalnog spazma, kod pacijenata mlađih od 12 godina 1989. godine. Od tada, pa sledećih godina proširivane su indikacije i uvedeni su novi farmaceutski oblici toksina.

Sledeća indikacija za koju je, 2000-te godine, odobreno korišćenje botulinum toksin-A (BoNT-A) je cervikalna distonija. Prihvatanje upotrebe BoNT-A kod hroničnih bolova potom raste primarno kao nelicencirana primena, je formalno nije prihvaćena od strane FDA, osim u terapiji hroničnih migrena. Klinička upotreba BoNT-A se prati, neki od proizvoda su dostupni na tržištu poput MyoBloc® u Americi i NeuroBloc® u Evropi. MyoBloc® je prihvaćen od strane FDA 2000. godine u terapiji cervikalne distonije i bola u vratu. Upotreba BoNT-F se još ispituje kod osoba koje su otporne na tipove A i B. Godine 2009. abobotulinumtoxin-A (Dysport®) je prihvaćen od strane FDA u terapiji odraslih osoba sa cervikalnom distonijom kako bi se smanjio abnormalni položaj glave i bol u vratu. FDA, 2010. godine odobrava upotrebu onabotulinumtoxin-A (Botox®) u terapiji spazma fleksora ramena, ručnih zglobova i prstiju, kod pacijenata sa moždanim udarom, traumatskim povredama mozga ili sa progresijom multiple skleroze i izdaju dozvolu za incobotulinumtoxin-A (Xeomin®) kod pacijenata sa cervikalnom distonijom, kako bi se smanjio abnormalni položaj glave i bol u vratu i u terapiji blefarospazma kod pacijenata koji su prethodno lečeni Botox®-om. Iste godine FDA odobrava upotrebu injekcije onabotulinumtoxin-A (BOTOX®) u prevenciji glavobolje kod pacijenata sa hroničnim migrenama a 2011. godine FDA odobrava upotrebu onabotulinumtoxin-A (Botox®) kod urinarne inkontinencije zbog hiperaktivnosti detrusora povezane sa neurološkim poremećajima. Dysport® (abobotulinumtoxin A) je FDA odobrila 2012. godine za lečenje spazma ruku, sa ciljem smanjenja povećanog mišićnog tonusa kod mišićnih fleksora lakta, ručnih zglobova i prstiju a 2015. godine FDA odobrava Xeomin® (incobotulinumtoxin A) kod odraslih pacijenata sa spazmom gornjih ekstremiteta.³⁻⁵

MEHANIZAM DEJSTVA BOTULINUM TOKSINA

Prema strukturi botulinum toksin je Zn²⁺ zavisna endopeptidaza, koji sadrži proteolitičku aktivnost na N – terminalnom kraju. Teški lanac (100 kDa) obezbeđuje holinergičku specifičnost i odgovoran je za vezivanje toksina za presinaptičke receptore, i takođe promovise translokaciju lakog lanca (50 kDa) preko endozomne membrane.³

Mehanizam delovanja botulinum toksina se ogleda u blokadi neuromuskularne transmisije u holinergičkim nervnim vlaknima. Na taj način se postiže blokada otpuštanja acetilholina u presinaptičkim završecima. Toksin se apsorbuje u želudcu i u tankom crevu, gde nije neutralisan od strane digestivnih enzima. Pretežno su ugroženi nervni, gastrointestinalni i metabolički sistem. Paraliza počinje u kranijalnim nervima, zatim pogađa gornje ekstremitete, respiratorne mišiće, i na kraju donje ekstremitete. Kod ozbiljnijih slučajeva, paraliza respiratornih mišića dovodi do otežanog disanja i smrti, ukoliko se ne reaguje na vreme. Kako motorni nervni završeci reaguju na acetilholin, trovanje *Clostridium botulinum* – om rezultuje hipotonijom koja se ogleda u flakcidnoj paralizi mišića i uglavnom je povezano sa nauzejom, povraćanjem i dijarejom. Kasnije komplikacije uključuju paralitički ileus, tešku opstipaciju i retenciju urina.⁶⁻¹¹

Botulinum toksin se apsorbuje kroz intestinalni trakt, i krvotokom se prenosi do nervnih završetaka, ili se apsorbuje kroz inficiranu ranu i limfotokom dolazi do nervnih završetaka. Različiti serotipovi Botulinum toksina imaju različit afinitet za nervno tkivo, s tim da tip A toksina ima najveći afinitet. Toksin mora da dopre do nervnog završetka kako bi ispoljio svoj efekat. Vezivanje toksina za centralne i periferne nerve je selektivno. Proces vezivanja je zavisan od koncentracije Ca⁺⁺, energije i nervne stimulacije.¹²

EPIDEMIOLOGIJA

Epidemiološki podaci sistematskog praćenja morbiditeta i mortaliteta u našoj zemlji ukazuju da je botulizam kod ljudi raretno oboljenje. U Srbiji je u 2015. godini zvanično registrovano samo 12 obolelih osoba, u 2016. i 2017. po 4 tako da je godišnja incidenca od 0,06-0,17 slučajeva na 100,000 stanovnika.¹³⁻¹⁵

U zemljama okruženju su slične epidemiološke prilike. Tako je npr. u Hrvatskoj registrovano 5 ljudi sa botulizmom u 2015. godini pa je proračnuta godišnja incidenca 1,16 na milion stanovnika, p čemu je za 20 godina umro samo jedan oboleli. Druga istraživanja u Hrvatskoj su potvrdila trend smanjenja incidencije botulizma s obzirom

da je tokom desetogodišnjeg razdoblja (1995. do 2004.) registrovano 56 obolelih, što je, u poredjenju sa narednim desetogodišnjim periodom (2005. do 2015.) sa 23 slučaja, smanjenje stope incidence za 58%. Sveukupno, u datom periodu, prosečna godišnja incidenciju botulizma kod ljudi je bila 0,81 na 1,000,000 stanovnika.¹⁶ U Poljskoj od 1991. broj registrovanih slučajeva botulizma počeo je da pada ispod 200 godišnje, tako da je 2012. godine zabeležena najniža godišnja incidenca od 0,57 na 1,000,000 stanovnika.¹⁷⁻¹⁹

Najčešći izvor toksina ranijih godina je bila komercijalno konzervirana hrana a danas su to domaće konzervirano povrće, voće i riblji proizvodi.²⁰ Sporadični slučajevi i manje epidemije botulizma nastaju i nakon jedenja zaraženog sušenog mesa (šunke, kobasice) domaće proizvodnje.²¹ Pošto je *Clostridium botulinum* rasprostranjen ubikvitarno u prirodnoj sredini, morski plodovi su češći izvor botulizma od ostalih namirnica životinjskog porekla. S druge strane, najznačajniji potencijalni izvor botulizma je povrće i voće koje je pripremljeno u obliku zimnice sa malim ili umerenim dodatkom kiselina. Konzervirana i vakuumirana hrana je takođe važan izvor botulizma jer bakteriji pogoduju anaerobni uslovi koji vladaju u ovim namirnicama. Konzervisane namirnice kod kojih je došlo do nakupljanja gasa ("naduvene konzerve") nikako ne treba koristiti u ishrani, jer je to indikator prisustva bakterija. Neke namirnice, poput dimljene ribe, bi trebalo zagrejati na 83°C ili više, bar 30 minuta, tokom pripreme za ishranu, radi dodatne protekcije.

Epidemije botulizma koji se prenosi hranom, najčešći su oblik botulizma u svim razvijenim i zemljama u razvoju. Botulizam rane i dalje je vrlo rijedak u Evropi, za razliku od Sjedinjenih Američkih država gdje se uglavnom susreće među zavisnicima od intravenskih psihoaktivnih supstanci.²² Poslednjih decenija, najčešći uzrok alimentarnih epidemija botulizma jesu egzotoksini tipa A i B (takođe imaju i najveću stopu mortaliteta), dok je tip E uglavnom uzrok trovanja morskim plodovima, dok su trovanja egzotoksinom tipa F moguća ali raretna. Peroralno uneti toksini su veoma otporni na digestiju i primarno se apsorbuju na nivou tankog creva i želuca. Apsorbovan toksin se, tokom perioda od nekoliko sati do nekoliko dana, putem krvi distribuira do organa bogatih holinergičkim sinapsama, blokirajući neurotransmisiju, poput skeletnih mišića gde nastaje njihova paraliza.

TOKSIKOLOŠKI ASPEKTI

Botulinski toksin bakterije *Clostridium botulinum* je najjači poznati otrov, količina od samo 0.1 µg može ubiti odraslog čoveka. Procenjena srednja smrtna doza botulinskog toksina (LD50) je 30 pg/kg nakon intravenske ili subkutane (potkožne) aplikacije, ili 3 ng/kg nakon udisanja.

Njegova izuzetna toksičnost dokazana je u eksperimentalnim uslovima kada je, posle intravenskog ubrizgavanja primatima, LD50 40-56 ng, ili kod tipa-C1 oko 32 ng, kod tipa-D oko 3.200 ng i tipa-E oko 88 ng.²³

Klinička slika trovanja

Više od 90% pacijenata sa botulizmom imaju neke od sledećih, početnih simptoma: mučninu, povraćaju, otežano gutaju, duplo vide ili imaju imaju ekstremno suva usta. Generalno, botulizam napreduje nakon početnih simptoma tako što se javlja abdominalni bol, vrtoglavica, kranijalna nervna paraliza izaziva zamućenje vida, duplo viđenje, slabost očnih mišića, otežano gutanje pa se razvijaju dodatne neurološke manifestacije uključuju simetričnu paralizu ili slabost motornih i autonomnih nerava, dolazi do depresije disanja, koja brzo može dovesti do prestanka disanja. Zbog aktivnosti autonomnog nervnog sistema razvija se paralitički ileus, koji dovodi do teške opstipacije, želudac se dilatira, dolazi do retencije urina, pojave ortostatske hipotenzije, salivacija je redukovana kao i lakrimacija. Dešavaju se promene u dubokim refleksima tetiva, dolazi do dezorijentacije usled mišićne slabosti ali je mentalna funkcija još uvek očuvana.^{24,25}

Tipovi trovanja

Postoje četiri različite kategorije botulizma: botulizam uzrokovan hranom, botulizam zbog rana, botulizam odojčadi i inhalacioni botulizam.²⁵ Svaki od navedenih tipova trovanja se odlikuje specifičnim epidemiološkim karakteristikama.

Do botulizma uzrokovanog hranom dolazi kada *Clostridium botulinum* raste i proizvodi toksine u hrani, proizvodeći spore koje su veoma rezistentne u životnoj sredini, uključujući zemljište, reke i morsku vodu. Rast bakterija i proizvodnja toksina se dešava u hrani sa malim sadržajem kiseonika uključujući određenu temperatura skladištenja i parametre konzerviranja. Ovo se najčešće dešava kod neadekvatno obrađene i pripremljene hrane. *Clostridium botulinum* se neće razvijati u kiselim uslovima (pH 4,6), ali takođe, kiseli uslovi neće uništiti već stvoren toksin. Kombinacija niske temperature skladištenja, slanosti i nizak pH se koristi da bi se preventirao rast bakterije i stvaranje toksina. Botulinum toksin je pronađen u različitim vrstama hrane, poput, boranije, spanaća, pečurki, repe, ribu, uključujući konzerviranu tunu, fermentisanu, morsku i dimljenu ribu; mesne proizvode, kao što su šunka i kobasica. Iako su spore rezistentne na toplotu, toksini koji se proizvedu iz spora pod anaerobnim uslovima mogu da se unište kuvanjem. Stoga je veća verovatnoća da će doći do kontaminacije toksinom konzumiranjem hrane koja se ne obrađuje pre jela.²⁵⁻²⁷

Botulizam zbog rane javlja se kada je rana zagađena sa bakterijom *Clostridium botulinum*-om. Unutar rane bakterije proizvode otrov koji se onda apsorbira u krvotok i dovodi do pojave simptoma. Simptomi su slični kao kod botulizma uzrokovanog hranom, ali mogu se pojaviti tek nakon 2 nedelje.²⁸⁻³¹

Botulizam odojčeta se najčešće javlja kod beba starosti života ispod 6 meseci. Može se javiti kod odojčadi na veštačkoj ishrani. Spore se unose sa kontaminiranom hranom i u debelom crevu prelaze u vegetativan oblik i luče toksin. Resorpcija toksina je slaba i spora. Bolest je blaga, bez karakterističnih simptoma, sem uporne opstipacije. Prisustvo toksina se testira uzorkovanjem stolice.^{12,32-34}

Inhalacioni botulizam je redak i do njega ne dolazi prirodnim putem. Povezan je sa slučajnim ili namernim događajima, poput bioterorizma, koji rezultira oslobađanjem toksina u vazduhu. Posledice su slične onima kao kod botulizma prouzrokovanog hranom. Srednja letalna doza (LD50) iznosi 2 ng, na kilogram telesne mase, što je skoro 3 puta više nego kod botulizma uzrokovanog hranom. Simptomi postaju vidljivi za 1 do 3 dana. Simptomi su slični onima kao kod trovanja hranom pri čemu na kraju dovode do paralize mišića i depresije disanja. Ukoliko se sumnja da je vazduh zagađen *Clostridium botulinum*-om, odeća pacijenta mora biti odložena u plastične vreće, dok se ne steknu uslovi da se odeća opere, a pacijent se mora momentalno okupati kako bi se dekontaminirao.^{34,35}

Dijagnostika trovanja

Dijagnoza kod bolesnika kod kojih bolest počinje akutnim gastroenterokolitisom dijagnoza botulizma se ne može postaviti pre pojave slabosti mišića. Kada se pojave specifični simptomi botulizma, dijagnoza se postavlja na osnovu karakteristične kliničke slike. Ukoliko u isto vreme postoje i drugi oboleli, stanje je lako prepoznatljivo ali kako toksin ne mora biti ravnomerno raspoređen u hrani, odsustvo drugih pacijenata sa jasnim manifestacijama ne isključuje dijagnozu. Definitivna dijagnoza se potvrđuje anaerobnom kulturom uzročnika ili dokazom toksina C. botulinum-a u serumu, stolici ili hrani.³⁶ Toksin se najčešće dokazuje iz seruma bolesnika biološkim testom neutralizacije na miševima a toksin i sama bakterija mogu biti prisutni u stolici do mesec dana od početka bolesti.^{21,37}

Lečenje trovanja

Nespecifične mere borbe protiv botulizma odnose se na termičku obradu hrane, kao i na dosledno sprovođenje svih mera i postupaka kontrole u proizvodnji konzervirane hrane.

Osobi koja je otrovana *Clostridium botulinum*-om

preti depresija disanja i potrebno je odmah izvršiti intubaciju i traheotomiju. Protiv otrov drastično može promeniti tok bolesti ukoliko se primeni u prvih 24h. Od 2010. godine koristi se polivalentni antitoksični serum koji je aktivan protiv svih 7 serotipova toksina. Vrlo je efikasan i bezbedan, i trebalo bi ga dati pacijentu što pre. Antitoksin vezuje slobodan toksin, ali ne može da neutrališe toksin koji se već vezao za ciljno mesto. Kod botulizma koji se javlja kod dece, primenjuje se humani antitobulin imunoglobulin (BabyBig®). Njegova upotreba je najefikasnija ukoliko se upotrebi u prvih 7 dana po pojavi prvih simptoma. Daje se u obliku intravenske infuzije (i.v. inf.), tako što se 2 sata pre primene pomeša se sa 5% glukozom i 1% rastvorom albumina, pa se daje 50 mg/kg tokom 1 sata. Veoma je bezbedan i ne dolazi do anafilaktičkih reakcija, kao kod primene konjskog serumskog antitoksina. Ukoliko se ne bi primenio tretman sa BabyBig® antitoksinom, odojčad bi imala prolongirane simptome i veliki broj komplikacija, uključujući produženu hospitalizaciju.

Upotreba antibiotika kod odojčadi kod trovanja je zabranjena, jer se povećava otpuštanje toksina koje doводи do pogoršavanja stanja. Antibiotici se mogu koristiti kod nekih sekundarnih bakterijskih infekcija, ali ukoliko je moguće nakon završetka terapije BabyBig® antitoksinom. Aminoglikozidi, gentamicin ili tobramicin, mogu da pojačaju neuromuskularnu blokadu, stoga je njihova upotreba zabranjena u narednih 6 meseci. Mnogi eksperti preporučuju primenu antibiotika nakon završetka primene antitoksina kod botulizma rana a penicilin G i metronidazol su najčešće korišćeni antibiotici. Klindamicin se takođe pokazao kao vrlo efikasan lek dok aminoglikozidi, nalidiksinska kiselina i sulfametoksazol/trimetoprim nisu efikasni i njihova upotreba nije preporučljiva. Purgativi koji sadrže magnezijum ne bi trebalo da se koriste.

Ishrana tokom terapije je specifična i ako je gastrointestinalni trakt inficiran preporučuje se prehrana preko nazogastrične sonde, jer se time pojednostavljuje kontrola unosa kalorija i tečnosti, stimuliše se crevna peristaltika, čime se eliminiše *Clostridium botulinum* iz creva, i omogućuje davanje majčinog mleka kod odojčadi. Osim toga, izbegavaju se moguće infektivne i vaskularne komplikacije parenteralne prehrane. Ukoliko gastrointestinalni trakt nije inficiran, primenjuje se parenteralna ishrana.^{38,39}

KLINIČKA PRIMENA BOTULINUM TOKSINA

Botulinum toksin je za kliničku primenu formulisan u obliku injekcija u sledećim indikacijama: terapija distonije poput spastične, cervikalne, laringealne kao i generalizovane, te kod blefarospazma, strabizma i ptoze, potom za lečenje hiperhidroze, za terapiju tremora kod Parkinsonove bolesti, kod glavobolje i urinarne inkontinencije. Injekcije botulinskog toksina se obično dobro podnose i nakon injektovanja, toksin prolazi u mišiće i druge tkiva. Paralitički efekat botulinom toksina, datog kao lek, je dozno zavistan, sa maksimalnim efektom 5–7 dana nakon ubrizgavanja. Mišiću je potrebno 6–9 meseci da se oporavi od botulinum toksin-A, dok se neki mišići nikad ni ne povrate u svoje prvobitno stanje.

Oblici botulinum toksina tipa A koji su od strane regulatornih tela odobreni za kliničku primenu su sledeći: onabotulinumtoxin-A, abobotulinumtoxin-A i incobotulinumtoxin-A. Botulinum toksin tip B se naziva rimabotulinumtoxin-B. Onabotulinumtoxin-A se na tržištu nalazi kao Botox®/Botox® Cosmetic, abobotulinumtoxin-A kao Dysport®, incobotulinumtoxin-A kao Xeomin®, i rimabotulinumtoxin-B u prometu se nalazi pod nazivom Myobloc®.²

Standardna jedinica za merenje efikasnosti botulinskog toksina za humanu upotrebu je mišja jedinica (U). Prema definiciji, jedna mišja jedinica je količina botulinskog toksina koja je sposobna da u grupi od 18-20 Swiss Webster miševa ubije njih 50%. Britanski oblik botulinskog toksina (Dysport®) u jednom nanogramu sadrži 40 U dok američki (Botoks A®) na 2,5 U/ng. Letalna doza američkog toksina je 40 U na kg telesne mase, kod majmununa primenjen i.v. dok je za čoveka letalna doza oko 2.730 U.⁴⁰

Doziranje

Što se tiče primene botulinum toksina kao leka u medicini, doziranje zavisi od brojnih faktora, uključujući težinu bolesti, broj mišića koji su uključeni, upotreba drugih lekova, kao i uzrast pacijenta. Deca dobijaju manje doze, proporcionalno njihovoj telesnoj masi. Mesto injektiranja leka u mišić se određuje posmatranjem abnormalnih pokreta, dodiranjem, ultrazvukom ili elektromiografijom (EMG) kojom se prate mišićne aktivnosti. Oblast u koju se ubrizgava toksin se najpre očisti alkoholom a korišćenjem igla malog promera (uobičajeno 1–3) u zavisnosti od broja i veličine mišića, sprovodi se tretman koji se tipično sastoji od 5–10 injektiranja a protokol se se ponavlja na svakih 3–6 meseci.^{39,41}

Specifičnosti primene kod pojedinih indikacija

Distonija larinksa je poremećaj mišićne kontrakcije pri čemu osoba otežano i sa naprezanjem govori, ponekad uz nedostatak daha, govor podseća na šaputanje, a kod nekih ljudi govor je nemoguć. Ne postoji specifični lek protiv laringealne distonije, tako da se različiti farmakološki, hirurški i fizioterapijski pristupi koriste kao simptomatska terapija. Od svih, intramuskularna injekcija botulinum toksina predstavlja terapiju prvog izbora. Kontraindikovana je upotreba botulinum toksina kod laringealne distonije kod trudnica i žena u laktaciji, novorođenčadi, istovremeno upotrebe aminoglikozida i kod nelečenog gastroezofagealnog refluksa. Ako se ponavljaju velike doze, može doći do formiranja antitela na lek i slabljenja terapijskog odgovora. Ovo se može desiti kod 3–10% pacijenata, češće kod mlađih osoba. Ukoliko dođe do razvoja ovih neutrališućih antitela može se koristiti drugi serotip toksina (botulinum toksin-B).⁴²⁻⁴⁵

Blefarospazam je fokalna distonija, koja se karakteriše naglim i nekontrolisanim stiskanjem očnih kapaka, tako da bolesnik ima teškoća sa spontanom otvaranjem očiju. Do ovog stanja najčešće dolazi u starijem životnom dobu, pretežno obostrano, a nekada i unilateralno. Tačna priroda oboljenja nije do kraja poznata, a napad se može provocirati jakim, trepćućim svetlom, vetrom, prašinom i drugim iritirajućim činiocima. Kliničko ispoljavanje je varijabilno u smislu jačine i učestalosti napada. Nelagodnost, iritacija i treptanje su najčešće prve izraženije početne smetnje. Vremenom se pojačavaju, a pored nekontrolisanih pokreta kapaka mogu da se jave smetnje na delu lica ili čela. Botulinum toksin-A se smatra najefikasnijim tretmanom izbora u lečenju blefarospazma. Kod više od 95% pacijenata se terapija pokazala delotvorna. Kod prvog tretmana, koristi se maksimalna doza od 25 internacionalnih jedinica (I.J.), po oku, podeljena od 4 do 6 doza, kako ne bi došlo do neželjenih efekata. Preporučljivo je da se koristi manji volumen, odnosno veća koncentracija, kako se rastvor ne bi rasipao po okolnom tkivu. Rastvor se ubrizgava subkutano u m. orbicularis oculi, a intramuskularno u m. corrugator i procerus. Neželjena dejstva leka su: spuštanje očnog kapka (ptoza) (7–11%), simptomi suvog oka (7,5%), lagoftalmus (5–12%), entropija i ekotropija, fotofobija (2,5%), diplopija (<1%) i ekhimoza.⁴⁶

Kod strabizma se, nakon lokalne anestezije, botulinum toksin ubrizgava direktno u očni mišić, koristeći specijalno dizajnirane igle, elektrode, koje su prikazane na EMG aparat. Nakon ubrizgavanja botulinum toksina, igla ostaje u tom položaju u mišiću 30 sekundi, nakon čega se izvadi. Razlog tome je sprečavanje rasipanja botulinum toksina po okolnom tkivu. Kod dece se primenjuje opšta anestezija ili ketamin. Upotrebom ketamina mišić oka je i dalje aktivan, kako bi se mogao registrovati preko EMG-a. Koncentracije koje se koriste su 1.25–2.5 I.J. (<25 I.J. po oku); kod horizon-

talnog strabizma 1.25–2.5 I.J., kod paralize VI kranijalnog nerva, doza je 1.25–2.5 I.J. u m. medial rectus i kod horizontalnog strabizma 2.5–5 I.J. u bilo koji mišić. Širenjem botulinum toksina po okolnom tkivu prouzrokuje neželjena dejstva poput sindrom ptoze i vertikalne devijacije. Ptoza prolazi nakon 3 do 4 nedelje, dok vertikalna devijacija predstavlja ozbiljnije neželjeno dejstvo i ponekad se mora rešiti hirurškom intervencijom. Pojava vertikalne devijacije nije zavisna od doze botulinum toksina, kao ni od mišića u koji se ubrizga.⁴⁷⁻⁴⁹

Injekcije onabotulinumtoxin-A su odobrene za lečenje urinarne inkontinencije prouzrokovane hiperaktivnošću detrusora bešike. Sve češće se propisuje ovaj lek kod pacijenata koji su otporni na terapiju antiholinergicima. Nakon ubrizgavanja botulinum toksina, dolazi do parcijalne denervacije mišića, što dovodi do njegove paralize. Pored atrofije mišića, može doći do rasta novih aksona i sinteze novih acetilholinskih receptora. Postoje dokazi da dolazi do reineracije mišića, što suzbija efekat toksina. Injektiranje detrusora mokraćne bešike izvodi se pomoću cistoskopije. Igla se ubacuje u detrusor do dubine od približno 2 mm. Ukupno 30 injekcija (od kojih svaka sadrži 1 mL, ili 67 I.J. BoNT-A), jednako raspoređenih na razdaljini od 1 cm. Trougao bešike (trigonum vesicae) se zaobilazi. Ponovno injektovanje je dozvoljeno, ukoliko efekat predhodnog tretmana počinje da slabi, minimum 12 nedelja posle prvog tretmana. Najčešća neželjena dejstva jesu povećano pražnjenje mokraćne infekcija mokraćnih puteva i blaga hematurija, dok su prolazna malaksalost i slabost rarietne, pretežno kod većih doza.⁵⁰

Primena u estetskoj medicini

Upotreba botulinum toksina u estetskoj medicini je započela primenom injekcija u predeo gornjeg lica a vremenom je evolvirala i u regije središnje i donje strane lica i predeo vrata. Doziranje i mesto aplikacije injekcije treba da se zasnivaju na analizi ciljnih mišića u kontekstu odnosa sa susednim i povezanim mekim i tvrdim tkivima. Savremene smernice upućuju na ostvarivanje neuromodulacije radije nego potpune paralize mišića, uključujući primenu nižih doza u regiju gornjeg lica, češće kombinovano lečenje s hijaluronskom kiselinom punila, i intrakutanu injekciju gde je potrebno da se ograniči zahvaćenost regije i dužina dejstva.⁵¹ Primarne regije aplikacije su čelo, obrve, glabella, lateralni deo očne orbite, nos i usne kao i perioralni, maseterični i platizmalni predeo. Razvijeni su i specifični pristupi za estetsku primenu kod muškaraca a poznata je i neodobrena (nelicencirana) primena botulinum toksina u ovoj oblasti.^{52,53} Detaljno razmatranje primene botulinum toksina u estetskoj medicini i hirurgiji prevazilazi domen ovog rada pa se takve informacijama nalaze u drugim, specifičnim izvorima.

ZAKLJUČAK

Botulinski toksin bakterije *Clostridium botulinum* je najjači poznati otrov i decenijama je pažnja medicinske javnosti bila usmerena prema njegovim toksikološkim aspektima. Vremenom razvila se medicinska primena ovog toksina i danas on predstavlja važan lek u oblasti neurologije i estetske medicine i hirurgije. Primer botulinum toksina još jednom potvrđuje dobro poznatu Paracelzijusovu izreku da su "sve stvari otrovi i da ničega nema bez otrovnih kvaliteta, a da je jedino doza ta koja čini stvar otrovom" i podseća nas da bi jedno od istinskih zadovoljstava lekara i naučnika trebalo da bude traganje za tom osetljivom granicom i njeno neprestano preispitivanje u cilju unapredjenja efikasnosti i bezbednosti farmakoterapije.

ZAHVALNOST

Ovaj rad je urađen u okviru Projekta za nauku i tehnološki razvoj Vojvodine br. 114-451-2072/2016-02.

LITERATURA

1. Suvajdžić Lj. Priručnik iz mikrobiologije sa vežbama za studente farmacije. Novi Sad: Ortomedics, 2004.
2. Smith TJ, Hill KK, Raphael BH. Historical and current perspectives on *Clostridium botulinum* diversity. *Res Microbiol* 2015; 166: 290-302.
3. Kedlaya D. Botulinum toxin. Medscape. New York: WebMD, 2018. (<http://emedicine.medscape.com/article/325451-overview>).
4. Erbguth FJ. From poison to remedy: the chequered history of botulinum toxin. *J Neural Transm* 2008; 115: 559-65.
5. Ting PT, Freiman A. The story of *Clostridium botulinum*: from food poisoning to Botox. *Clin Med* 2004; 4: 258-61.
6. Chan-Tack KM. Botulism. Medscape. New York: WebMD, 2018. (<https://emedicine.medscape.com/article/213311-overview#a1>).
7. Voth DE, Ballard JD. *Clostridium difficile* toxins: mechanism of action and role in disease. *Clin Microbiol Rev* 2005; 18: 247-63.
8. Dressler D, Benecke R. Pharmacology of therapeutic botulinum toxin preparations. *Disab Rehab* 2007; 29: 1761-8.
9. James WD, Berger T, Elston D. *Andrews' diseases of the skin: clinical dermatology*. 10th ed. New York: Saunders, 2005.
10. Forth W, Henschler D, Rummel W, Starke K. *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. Mannheim: BI Wissenschaftsverlag, 1988. (in German).
11. Nigam PK, Nigam A. Botulinum toxin. *Indian J Dermatol* 2010; 55: 8-14.
12. Nantel AJ. *Clostridium botulinum*–International Programme on Chemical Safety. Poisons Information Monograph 858. Bacteria. Geneva: World Health Organization, 1999.
13. Zdravstveno Statistički godišnjak Republike Srbije 2015. Beograd: Institut za javno zdravlje Srbije, „Dr Milan Jovanović Batut”, 2015.
14. Zdravstveno Statistički godišnjak Republike Srbije 2016. Beograd: Institut za javno zdravlje Srbije, „Dr Milan Jovanović Batut”, 2016.
15. Zdravstveno Statistički godišnjak Republike Srbije 2017. Beograd: Institut za javno zdravlje Srbije, „Dr Milan Jovanović Batut”, 2017.
16. Paparella A. Epidemiološke karakteristike botulizma u Republici Hrvatskoj u razdoblju od 1995. do 2015. Diplomski rad. Split: Medicinski Fakultet Sveučilišta u Splitu, 2016.
17. Galazka A, Przybylska A. Surveillance of foodborne botulism in Poland: 1960-1998. *Euro Surveill* 1999; 4(6): pii=43.
18. Czerwinski M, Czarkowski MP, Kondej B. Foodborne botulism in Poland in 2012. *Przegl Epidemiol* 2014; 68: 249-52.
19. Czerwinski M, Czarkowski MP, Kondej B. Foodborne botulism in Poland in 2013. *Przegl Epidemiol* 2015; 69: 243-5, 363-5.
20. Bleck TP. *Clostridium botulinum*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Principles and practice of infectious diseases*. 6th ed. Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone, 2005: 2822-26.
21. Lisić M. *Clostridium botulinum*. U: Begovac J, Božinović D, Lisić M, Baršić B, Schoenwald S, ur. *Infektologija*. I izdanje. Zagreb: Profil, 2006: 668-70.
22. Therre H. Botulism in the European Union. *Euro Surveill*. 1999;4(1):pii=48.
23. Arnon SS, Schechter R, Inglesby TV, et al.; Working Group on Civilian Biodefense. Botulinum toxin as a biological weapon: medical and public health management. *JAMA* 2001; 285: 1059-70.
24. Wendt S, Eder I, Wölfel R, Braun P, Lippmann N, Rodloff A. Botulism: diagnosis and therapy. *Dtsch Med Wochenschr* 2017; 142: 1304-12.

25. Thanongsaksrikul J, Chaicumpa W. Botulinum neurotoxins and botulism: a novel therapeutic approach. *Toxins* 2011; 3: 469-88.
26. Gutzwiller FS, Steffen R, Mathys P, et al. Botulism: prevention, clinical diagnostics, therapy and possible threat. *Dtsch Med Wochenschr* 2008; 133: 840-5.
27. Cereser ND, Costa FM, Rossi Júnior OD, Silva DA, Sperotto VD. Foodborne botulism. *Ciência Rural* 2008; 38: 280-7.
28. Chatham-Stephens K, Fleck-Derderian S, Johnson SD, Sobel J, Rao AK, Meaney-Delman D. Clinical features of foodborne and wound botulism: a systematic review of the literature, 1932–2015. *Clin Infect Dis* 2017; 66(Suppl 1): S11-6.
29. Cherington M. Botulism: update and review. *Semin Neurol* 2004; 24: 155-63.
30. Dembek ZF, Smith LA, Rusnak JM. Botulism: cause, effects, diagnosis, clinical and laboratory identification, and treatment modalities. *Disaster Med Public Health Prep* 2007; 1: 122-34.
31. Mechem CC, Walter FG. Wound botulism. *Veter Human Toxicol* 1994; 36: 233-7.
32. Rudnicka K, Tenderenda M, Chmiela M. The etiology and epidemiology of infant botulism. *Pediatrics Polska* 2014; 89: 198-202.
33. Tickner N, Apps JR, Keady S, Sutcliffe AG. An overview of drug therapies used in the treatment of dystonia and spasticity in children. *Archives of Disease in Childhood: Education and Practice Edition* 2012; 97: 230-5.
34. Villar RG, Elliott SP, Davenport KM. Botulism: the many faces of botulinum toxin and its potential for bioterrorism. *Infect Dis Clin* 2006; 20: 313-27.
35. Dhaked RK, Singh MK, Singh P, Gupta P. Botulinum toxin: bioweapon & magic drug. *Ind J Med Res* 2010; 132: 489.
36. Woodruff BA, Griffin PM, McCroskey LM, et al. Clinical and laboratory comparison of botulism from toxin type A, B, and E in the nited States, 1975-1988. *J Infect Dis* 1992; 166: 1281-6.
37. Notermans S, Nagel J. Assays for botulinum and tetanus toxins. In: Simpson LL, ed. *Botulinum neurotoxin and tetanus toxin*. San Diego: Academic Press, 1989: 319-31.
38. Panicker JN1, Muthane UB. Botulinum toxins: pharmacology and its current therapeutic evidence for use *Neurol India* 2003; 51: 455-60.
39. Ramachandran TS. Dystonia treatment using botulinum toxin. *Medscape*. New York: WebMD, 2016. (<http://emedicine.medscape.com/article/1818592-overview>).
40. Jankovic J, Brin MF. Therapeutic uses of botulinum toxin. *New Engl J Med* 1991; 324: 1186-94.
41. Dressler D. Botulinum toxin therapy: its use for neurological disorders of the autonomic nervous system. *J Neurol* 2013; 260: 701-13.
42. Placzek R, Heck K, Pennekamp PH. Botulinum toxin in the musculoskeletal system. *Zeitschrift fur Orthopadie und Unfallchirurgie* 2016; 54: 20-7.
43. Olthoff A, Grosheva M, Reichel G, Volk GF, Laskawi R. Treatment of laryngeal dystonia with botulinum toxin. *Fortschritte der Neurologie-Psychiatrie* 2017; 85: 450-62.
44. Wheeler A, Smith HS. Botulinum toxins: mechanisms of action, antinociception and clinical applications. *Toxicology* 2013; 306: 124-46.
45. Glaser DA. The use of botulinum toxins to treat hyperhidrosis and gustatory sweating syndrome. *Neurotox Res* 2006; 9: 173-8.
46. Graham RH. Benign essential blepharospasm treatment & management. *Medscape*. New York: WebMD, 2018. (<http://emedicine.medscape.com/article/1212176-treatment>).
47. Nahai F, Lorenc ZP, Kenkel JM, et al. A review of onabotulinumtoxinA (Botox). *Aesthet Surg J* 2013; 33(Suppl 1): 9S-12S.
48. Rowe FJ, Noonan CP. Botulinum toxin for the treatment of strabismus. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; (2): CD006499. (doi: 10.1002/14651858.CD006499.pub3).
49. Crouch ER. Use of botulinum toxin in strabismus. *Curr Opin Ophthalmol* 2006; 17: 435-40.
50. Ellsworth PI. Botulinum toxin injections for neurogenic detrusor overactivity technique. *Medscape*. New York: WebMD, 2016. (<https://emedicine.medscape.com/article/2036931-technique#c3>).
51. Sundaram H, Liew S, Signorini M, et al.; Global Aesthetics Consensus Group. Global Aesthetics Consensus: hyaluronic acid fillers and botulinum toxin type A-recommendations for combined treatment and optimizing outcomes in diverse patient populations. *Plast Reconstr Surg* 2016; 137: 1410-23.
52. Green JB, Keaney TC. Aesthetic treatment with botulinum toxin: approaches specific to men. *Dermatol Surg* 2017; 43(Suppl 2): S153-S156.
53. Lupo MP. Tox outside the box: off-label aesthetic uses of botulinum toxin. *J Drugs Dermatol* 2016; 15: 1151-7.