

Η αλλαντική τοξίνη και οι εφαρμογές της στη Νευρο-ουρολογία

Περίληψη

Η αλλαντική τοξίνη είναι ένας προσυναπτικός νευρομυϊκός παράγοντας αποκλίσμου. Όταν ενεθεί ενδομυϊκά σε μικρές ποσότητες προκαλεί εκλεκτική και αναστρέψιμη μυϊκή αδυναμία διάρκειας έως και μερικών μηνών. Η τοξίνη χρησιμοποιείται σε διάφορες ιατρικές ειδικότητες για τη θεραπεία της παθολογικά αυξημένης μυϊκής σύσπασης. Ειδικά στην ουρολογία, ασθενείς με νευρο-ουρολογικά προβλήματα (νευρογενής εξωστηριακή υπερδραστηριότητα και δυσυνέργεια εξωστήρα-έξω σφιγκτήρα) μπορούν να αντιμετωπισθούν επιτυχώς με αλλαντική-Α τοξίνη, ως εναλλακτική προσέγγιση της συντηρητικής αντιμετώπισης ή της χειρουργικής επέμβασης.

Στο συγκεκριμένο άρθρο ανασκόπησης παρουσιάζονται οι τρέχουσες ενδείξεις, οι τεχνικές και τα αποτελέσματα της χρήσης της αλλαντικής τοξίνης σε ασθενείς με νευρο-ουρολογικά προβλήματα.

Εισαγωγή

Το κλωστηρίδιο της αλλαντίασης είναι ένα Gram-θετικό αναερόβιο βακτηρίδιο που παράγει την αλλαντική τοξίνη, η οποία προκαλεί την τροφική δηλητηρίαση που καλείται αλλαντίαση. Τα θεραπευτικά οφέλη που προκύπτουν από την τοπική ένεση του παρασκευάσματος της αλλαντικής τοξίνης βασίζονται στην ειδική της θέση έγχυσης (π.χ. ενδομυϊκά, υποδόρια) και στο γεγονός ότι η αλλαντική τοξίνη έχει υψηλή συγγένεια προς τους χολινεργικούς νευρώνες. Η σύνδεση τοξίνης-χολινεργικών νευρώνων προκαλεί παροδική απονεύρωση, με αποτέλεσμα την απώλεια ή την ελάττωση της νευρωνικής δραστηριότητας του οργάνου-στόχου (π.χ. μυών, αδένων), με ελάχιστο κίνδυνο συστηματικών παρενεργειών όταν χρησιμοποιηθεί σε κατάλληλες δόσεις. Επτά, ανοσολογικά ξεχωριστοί, αντιγονικοί υπότυποι της αλλαντικής τοξίνης έχουν ταυτοποιηθεί: A, B, C1, D, E, F and G¹. Μέχρι σήμερα, στην κλινική πράξη χρησιμοποιούνται η αλλαντική τοξίνη τύπου A και B, με την αλλαντική τοξίνη τύπου A να είναι ισχυρότερη και με μεγαλύτερη διάρκεια δράσης²⁻⁴ από την αλλαντική τοξίνη τύπου B, όπως φαίνεται από ηλεκτρομυογραφικά αποτελέσματα⁴. Το μεγαλύτερο ποσοστό των εμπορικά διαθέσιμων μορφών αλλαντικής τοξίνης για κλινική χρήση βασίζεται στη αλλαντική τοξίνη τύπου A⁵.

Η αλλαντική τοξίνη τύπου A είναι ένας εκλεκτικός αναστολέας της απελευθέρωσης ακετυλοχολίνης από τις νευρικές απολήξεις και έτσι όταν ενεθεί ενδομυϊκά δεσμεύει τη μετάδοση του νευρικού σήματος⁶.

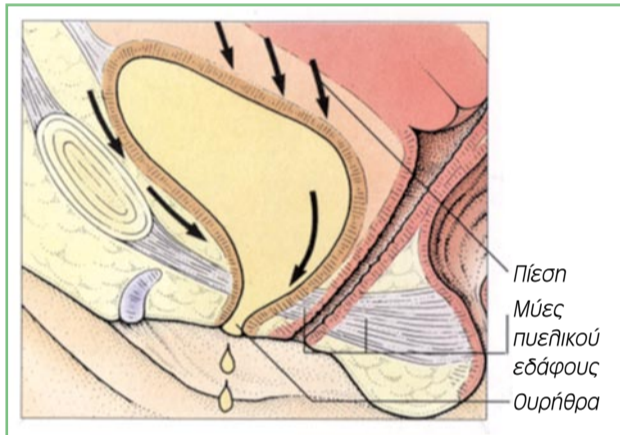
Το μόριο της αλλαντικής τοξίνης αποτελείται από μια βαριά αλυσίδα (H-άλυσος, μοριακού βάρους 100kD) και μια ελαφρά αλυσίδα (L-άλυσος, μοριακού βάρους 50kD). Οι αλυσίδες H και L είναι συνδεδεμένες μεταξύ τους με θερμομυαίσητους δισουλφιδικούς δεσμούς. Η H-άλυσος, με την τελική καρβοξυλική ομάδα, συνδέεται με τις νευρικές απολήξεις στη νευρομυϊκή σύναψη και η L-άλυσος, που αποτελεί και το νευροτοξικό συστατικό, εισέρχεται μέσα στο κύτταρο. Σε ένα εμπορικό σκεύασμα, η αλλαντική-Α τοξίνη συνδέεται με μια αιμογλουτινίνη σχηματίζοντας ένα διμερές με μοριακό βάρος 900 kD⁷.

Αφού εισέλθει εντός του κυττάρου, η L-άλυσος δεσμεύει την ενδοκυττάρια πρωτεΐνη SNAP-25, προκαλώντας βλάβη στην εκκριτική οδό^{8,9}. Η σύνθεση και η αποθήκευση νευρομεταβιβαστών δεν επηρεάζεται¹⁰. Οι διάφοροι τύποι αλλαντικής τοξίνης διαχωρίζουν διαφορετικά τμήματα του πρωτεϊνικού συμπλέγματος που είναι απαραίτητο για το σχηματισμό του κυστιδίου που περιέχει την ακετυλοχολίνη. Σύμφωνα με επιστημονικά δεδομένα, η ανάνηψη της χημειοαπονεύρωσης πιστεύεται ότι οφείλεται σε μια αναδιοργάνωση προσυναπτικών μορίων και σε νευρικές εκβλαστήσεις από τις νευρικές απολήξεις, σχηματίζοντας ξανά μια λειτουργική σύναψη σε διάστημα 3-6 μηνών^{11,12}. Η αλλαντική τοξίνη αναστέλλει κυρίως την απελευθέρωση ακετυλοχολίνης, αλλά σε επαρκείς ποσότητες δείχνει αναστολή της νορεπινεφρίνης, της ντοπαμίνης, της σεροτονίνης, του γ-αμινο-βουτυρικού οξέος, της γλυκίνης και του πεπτιδίου μεθειονίνης-εγκεφαλίνης^{13,14}. Το μόριο της αλλαντικής τοξίνης δε μπορεί να διασχίσει τον αιματοεγκεφα-

Δ. ΦΛΩΡΑΤΟΣ Χειρουργός Ουρολόγος

λικό φραγμό και έτσι δεν έχει καμία δράση στο ΚΝΣ¹³.

Το 1973, ο οφθαλμίατρος Δρ. Alan Scott δημοσίευσε πρώτος μια μελέτη επί των αποτελεσμάτων της αλλαντικής τοξίνης στον πλάγιο ορθό μυ του πιθήκου¹⁵. Στη συνέχεια, παρουσίασε την πρώτη εφαρμογή σε ανθρώπους το 1981¹⁶, θεραπεύοντας ασθενείς με στραβισμό. Από το 1989 εγκρίθηκε στις ΗΠΑ η αλλαντική-Α τοξίνη (Botox[®], Allergan, Ipse, Elan), που ήταν το πρώτο θεραπευτικό εμπορικό προϊόν αλλαντικής νευροτοξίνης για τη θεραπεία του στραβισμού, του καλοήθους ιδιοπαθούς βλεφαρόσπασμου και των παθήσεων του προσωπικού νεύρου (VII). Η διεθνής εμπειρία απέδειξε ότι ο συγκεκριμένος θεραπευτικός παράγοντας είναι ασφαλής και αποτελεσματικός σε ποικίλες ενδείξεις. Το 1991 στο Ηνωμένο Βασίλειο εγκρίθηκε



άλλος ένας τύπος συμπλέγματος αλλαντικής τοξίνης τύπου A (Dysport[®], Ipsen). Πρόσφατα, ο Ομοσπονδιακός Οργανισμός τροφίμων και φαρμάκων (FDA) ενέκρινε ένα συμπλήγμα αλλαντικής-B τοξίνης (Myobloc[™] Elan, στην Ευρώπη Neurobloc[™]) για χρήση σε ασθενείς με αυχενικές δυστονίες. Παρότι όλα αυτά τα προϊόντα βασίζονται στις αλλαντικές τοξίνες, υπάρχουν σημαντικές διαφορές στις δόσεις, στο προφίλ αποτελεσματικότητας και ασφάλειας, επομένως όλα τα σκεύασμα αλλαντικής τοξίνης δε θα πρέπει να θεωρούνται ισοδύναμα συγκρινόμενα μεταξύ τους βάσει του κλάσματος της δόσης. Στη νευρο-ουρολογία, οι ενδείξεις για την αλλαντική-Α τοξίνη είναι η νευρογενής υπερδραστηριότητα του εξωστήρα και η δυσυνέργεια εξωστήρα-έξω σφιγκτήρα.

Αλλαντική τοξίνη και δυσυνέργεια εξωστήρα-έξω σφιγκτήρα

Σε ασθενείς με τραυματισμό του νωτιαίου μυελού, η δυσυνέργεια εξωστήρα-έξω σφιγκτήρα αποτελεί κύριο αίτιο νοσηρότητας. Τα σπασμολυτικά φάρμακα (όπως η βακλοφαίνη ή η διαζεπάμ) και οι α-αδρενεργικοί αναστολείς ελαττώνουν την ουρηθρική απόφραξη, αλλά η επιτυχία τους είναι περιορισμένη έως μηδαμινή. Η ενδεικνυόμενη θεραπεία είναι ο αυτοκαθετηριασμός, αλλά δεν είναι κατάλληλη για άτομα με υψηλή τετραπληγία, λόγω της ανικανότητας χρήσης των άνω άκρων. Ο ρόλος των ενέσεων της αλλαντικής-Α τοξίνης σε τέτοιες περιπτώσεις έχει εξετασθεί σε περιορισμένο μόνο αριθμό μελετών. Οι ενέσεις αλλαντικής-Α τοξίνης στον έξω σφιγκτήρα της ουρήθρας προκαλούν αναστρέψιμη χημική σφιγκτηροτομή, οπότε αποφεύγεται παροδικά η χειρουργική επέμβαση.

Οι ενέσεις αλλαντικής-Α τοξίνης για τη θεραπεία της δυσυνέργειας εξωστήρα-έξω σφιγκτήρα σε ασθενείς με τραυματισμό του νωτιαίου μυελού περιγράφηκαν για πρώτη φορά από τους Dysktra και συν.¹⁷ Η αλλαντική τοξίνη ενιόταν είτε διουρηθρικά μέσω του κυστεοσκοπίου είτε διαπερινεϊκά υπό ηλεκτρομυογραφική καθοδήγηση. Όμως η δόση, ο όγκος διάλυσης και το μεσοδιάστημα μεταξύ δύο ενέσεων ποικίλλουν μεταξύ των συγγραφέων. Οι Dysktra και συν. και οι Dysktra και

Sidi πρότειναν επαναλαμβανόμενες κυστεοσκοπικές ενέσεις σε εβδομαδιαία μεσοδιαστήματα, αυξάνοντας προοδευτικά τη δόση (από 80 μονάδες σε 240 μονάδες Botox[®], με 50 μονάδες ανά 0,1ml φυσιολογικού ορού)^{17,18}. Οι Petit και συν. εκτέλεσαν μια μόνο ένεση των 150 μονάδων (Dysport[®]) διαλυμένη σε 4ml φυσιολογικού ορού¹⁹. Επίσης συγκρίθηκε το αποτέλεσμα της μονήρους ένεσης (100 μονάδες Botox[®] διαλυμένο σε 1ml) σε σχέση με τρεις επαναλαμβανόμενες ενέσεις σε μηνιαία μεσοδιαστήματα και φάνηκε ότι με τις επαναλαμβανόμενες ενέσεις υπήρχε καλύτερο αποτέλεσμα στη δυσλειτουργία της ούρησης²⁰. Αυτό φαίνεται λογικό, αφού το αποτέλεσμα των επαναλαμβανόμενων ενέσεων είναι αθροιστικό. Η συγκεκριμένη τεχνική μπορεί να απαιτεί γενική αναισθησία λόγω του κινδύνου της αυτόνομης υπερανακλαστικότητας.

Οι Dysktra και συν. παρουσίασαν πρώτοι την διαπερινεϊκή προσπέλαση¹⁷. Οι συγγραφείς εγκατέλειψαν την τεχνική πολύ σύντομα λόγω των πτωχότερων αποτελεσμάτων της θεραπείας. Όμως, οι δόσεις ήταν πολύ μικρότερες από εκείνες που χρησιμοποιήθηκαν με τη διουρηθρική προσπέλαση. Παρουσιάζονται παρόμοια αποτελέσματα και με τις δύο τεχνικές (τη διουρηθρική συγκριτικά με τη διαπερινεϊκή) όταν χρησιμοποιείται το ίδιο ποσό τοξίνης²¹. Παρομοίως, ο Gallien παρουσίασε καλά αποτελέσματα χρησιμοποιώντας τη διαπερινεϊκή προσπέλαση²². Αν και το ποσό της χρησιμοποιούμενης τοξίνης στις διαφορετικές μελέτες ήταν το ίδιο, ο όγκος διάλυσης κυμαίνονταν από 1-4ml. Επίσης ποικίλλουν οι παράμετροι που χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση του αποτελέσματος των ενέσεων τοξίνης στη λειτουργία της ούρησης, ακόμη και αν οι περισσότεροι από αυτούς χρησιμοποιούν τη μέγιστη ουρηθρική πίεση ηρεμίας, τον υπολειπόμενο όγκο ούρων μετά την ούρηση, τη μέγιστη εξωστηριακή πίεση και την παρουσία αυτόνομης απορύθμισης. Μετρήθηκε επίσης ο χρόνος που μεσοδιαβεί μεταξύ της έναρξης της μη ανακατακλυστικής εξωστηριακής συστολής και της έναρξης της ούρησης και βρέθηκε σημαντική ελάττωση του χρόνου αυτού μετά από τις ενέσεις αλλαντικής τοξίνης. Αυτό είναι πολύ σημαντικό σημείο, αφού η δυσχέρεια ούρησης λόγω δυσυνέργειας εξωστήρα-έξω σφιγκτήρα είναι ο πιο σημαντικός παράγοντας για την επιδείνωση του ανώτερου ουροποιητικού.

Αντίθετα, οι Gallien και συν. δεν παρατήρησαν κάποια σημαντική ελάττωση των ουρηθρικών πιέσεων ηρεμίας μετά τη χρήση της διαπερινεϊκής τεχνικής. Αυτό μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι η ουρηθρική πίεση ηρεμίας είναι μια στατική παράμετρος, ενώ η δυσυνέργεια εξωστήρα-έξω σφιγκτήρα είναι ένα δυναμικό φαινόμενο, ή στο ότι με τις διαφορετικές οδούς χορήγησης επηρεάζονται διαφορετικά τμήματα του γραμμωτού ουρηθρικού σφιγκτήρα. Για τη διερεύνηση αυτού του σημείου θα ήταν χρήσιμο να αναλυθεί το αποτέλεσμα μιας συνδυασμένης τεχνικής. Η ελάττωση της αυτόνομης υπερανακλαστικότητας που περιγράφηκε από τους Dysktra και συν. και τους Gallien και συν. είναι πιθανώς το επακόλουθο της ελαττωμένης εξωστηριακής πίεσης, που είναι γνωστός παράγοντας ενεργοποίησης αυτού του παράδοξου φαινομένου.

Πρόσφατα, οι de Seze και συν. συνέκριναν σε μια τυχαίοποιημένη διπλή-τυφή μελέτη την αποτελεσματικότητα και την ανεκτικότητα της αλλαντικής τοξίνης (100 IU Botox[®] σε 4ml φυσιολογικού ορού) συγκριτικά με αυτή της λιδοκαΐνης (4ml σε 0,5%). Οι ουσίες αυτές εφαρμόστηκαν διαπερινεϊκά στον έξω ουρηθρικό σφιγκτήρα, σε 13 ασθενείς με κάκωση του νωτιαίου μυελού για τη θεραπεία της δυσυνέργειας εξωστήρα-έξω σφιγκτήρα²³. Το κύριο κριτήριο αποτελεσματικότητας ήταν ο υπολειπόμενος όγκος ούρων μετά την ούρηση, εκτιμώμενος τρεις φορές ημερησίως, τις ημέρες 1, 7 και 30 μετά από κάθε ένεση. Άλλα κριτήρια ήταν ο όγκος ούρησης, η μέγιστη εξωστηριακή πίεση, ο τύπος της δυσυνέργειας και ο βαθμός ικανοποίησης που καταγράφηκε τις ημέρες 0 και 30. Βρέθηκε σημαντική βελτίωση σε όλες τις παραμέτρους στην ομάδα της αλλαντικής τοξίνης, αλλά όχι και στην ομάδα της λιδοκαΐνης και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι σε ασθενείς με τραυματισμό του νωτιαίου μυελού, η αλλαντική τοξίνη υπερέρχει της λιδοκαΐνης στη βελτίωση των κλινικών συμπτωμάτων της ουρηθρικής υπερτονίας που συνοδεύει τη δυσυνέργεια εξωστήρα-έξω σφιγκτήρα.

Συμπέρασμα

Η δυσυνέργεια εξωστήρα-έξω σφιγκτήρα και η εξωστηριακή υπερδραστηριότητα νευρογενούς αιτιολογίας με ή χωρίς ακράτεια ούρων είναι σημαντικές, συνηθισμένες καταστάσεις που συχνά δεν ανταποκρίνονται στην χορηγούμενη φαρμακευτική θεραπεία. Η ένεση αλλαντικής-A τοξίνης φαίνεται ότι είναι μια ασφαλής και πολύτιμη εναλλακτική λύση των χειρουργικών τεχνικών και για τις δύο αυτές καταστάσεις, αλλά παραμένουν αρκετές απορίες σχετικά με τη δράση της αλλαντικής τοξίνης στις νευρωνικές οδούς του κατώτερου ουροποιητικού.

Βιβλιογραφία

1. Simpson LL. Molecular pharmacology of botulinum toxin and tetanus toxin. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1986; 26:427-53.
2. Brashear A, Lew MF, Dykstra DD, et al. Safety and efficacy of NeuroBloc (botulinum toxin type B) in type A-responsive cervical dystonia. *Neurology* 1999; 53:1439-46.
3. Brin, MF, Lew MF, Adler CH, et al. Safety and efficacy of NeuroBloc (botulinum toxin type B) in type A-resistant cervical dystonia. *Neurology* 1999; 53:1431-8.
4. Sloop RR, Cole BA, Escutin RO. Human response to botulinum toxin injection: type B compared with type A. *Neurology* 1997; 49:189-94.
5. Aoki KR. Pharmacology and immunology of botulinum toxin serotypes. *J Neurol* 2001; 248(Suppl 1):3-10.
6. Simpson LL. The neuroparalytic and hemagglutinin activity of botulinum toxin. In: *Neuropoisons: their pathophysiological actions*. Plenum Press: New York 1971; 303-24.
7. DasGupta BR. Structures of botulinum neurotoxin, its functional domains, and perspectives on the crystalline type A toxin. In: *Therapy with botulinum toxin*. J. Jankovic and M. Hallet, Eds. Marcel Dekker Inc.: New York 1994; 3-13.
8. Black JD, Dolly JO. Interaction of 125I-labeled botulinum neurotoxins with nerve terminals. II. Autoradiographic evidence for its uptake into motor nerves by acceptor-mediated endocytosis. *J Cell Biol* 1986; 103:535-44.
9. Black JD, Dolly JO. Interaction of 125I-labeled botulinum neurotoxins with nerve terminals. I. Ultrastructural autoradiographic localization and quantitation of distinct membrane acceptors for types A and B on motor nerves. *J Cell Biol* 1986; 103:521-34.
10. Linial M. Bacterial neurotoxins - A thousand years later. *Isr J Med Sci* 1995; 31:591-5.
11. Alderson K, Holds JB, Anderson RL. Botulinum-induced alteration of nerve-muscle interactions in the human orbicularis oculi following treatment for blepharospasm.

Neurology 1991; 41:1800-5.

12. Printer MJ, Vanden Noven S, Muccio D, Wallace N. Axotomy-like changes in cat motoneuron electrical properties elicited by botulinum toxin depend on the complete elimination of neuromuscular transmission. *J Neurosci* 1991; 11:657-66.
13. Coffield JA, Considine RV, Simpson LL. The site and mechanism of action of botulinum neurotoxin. In: *Therapy with botulinum toxin*. J. Jankovic and M. Hallet, Eds. Marcel Dekker Inc: New York 1994; 3-13.
14. MacKenzie I, Burnstock G, Dolly JO. The effects of purified botulinum neurotoxin type A on cholinergic, adrenergic and non-adrenergic, atropine-resistant autonomic neuromuscular transmission. *Neuroscience* 1982; 7:997-1006.
15. Scott AB, Rosenbaum A, Collins CC. Pharmacologic weakening of extraocular muscles. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1973; 12:924-7.
16. Scott AB. Botulinum toxin injection of eye muscles to correct strabismus. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1981; 79:734-70.
17. Dykstra DD, Sidi AA, Scott AB, Pagel JM, Goldish GD. Effects of botulinum A toxin on detrusor-sphincter dyssynergia in spinal cord injury patients. *J Urol* 1988; 139:919-22.
18. Dykstra DD, Sidi AA. Treatment of detrusor-sphincter dyssynergia with botulinum A toxin: a double-blind study. *Arch Phys Med Rehabil* 1990; 71:24-6.
19. Petit H, Wiart L, Gaujard E, Le Breton F, et al. Botulinum A toxin treatment for detrusor-sphincter dyssynergia in spinal cord disease. *Spinal Cord* 1998; 36:91-4.
20. Schurch B, Schmid DM, Knapp P. An update on the treatment of detrusor-sphincter dyssynergia with botulinum toxin type A. *Eur Neurol* 1999; 6(Suppl 4):S83-S89.
21. Schurch B, Hauri D, Largo M, Kreienbühl B, Meyer E, Rossier AB. Effets de la toxine botulinique A sur le sphincter strié périurétral des vessie neurogènes. *J Urol (Paris)* 1990; 96:375-80.
22. Gallien P, Robineau S, Verin M, Le Bot MP, Nicolas B, Brissot R. Treatment of detrusor sphincter dyssynergia by transperineal injection of botulinum toxin. *Arch Phys Med Rehabil* 1998; 79:715-7.
23. De Seze M, Petit H, Gallien P, de Seze MP, Joseph PA, Mazaux JM, et al. Botulinum A toxin and detrusor sphincter dyssynergia: a double-blind lidocaine-controlled study in 13 patients with spinal cord disease. *Eur Urol* 2002; 42:56-62.
24. Schurch, B. Botulinum A toxin in spinal cord injury. *Arch Phys Med Rehabil* 1998; 79:1481.
25. Abrams P, Larsson G, Chapple C, Wein AJ. Factors involved in the success of antimuscarinic treatment. *BJU Int* 1999; (83 suppl 2):42-7.
26. Plevnik S, Janez J. Maximal electrical stimulation for urinary incontinence: report of 98 cases. *Urology* 1979; 14:638-45.
27. Schmidt RA. Applications of neurostimulation in urology. *Neurourol Urodyn* 1998; 7:585-9.
28. Brindley GS. The first 500 patients with sacral anterior root stimulator implants: general description. *Paraplegia* 1994; 32:795-805.
29. Fowler CJ, Beck RO, Gerrard S, Betts CD, Fowler CG. Intravesical capsaicin for treatment of detrusor hyperreflexia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1994;

57:169-73.

30. Cruz F, Guimaraes M, Silva C, Reis M. Suppression of bladder hyperreflexia by intravesical resiniferatoxin. *Lancet* 1997; 350:640-1.
31. Schurch B, Stohrer M, Kramer G, Schmid DM, Gaul G, Hauri D. Botulinum-A toxin for treating detrusor hyperreflexia in spinal cord injured patients: a new alternative to anticholinergic drugs? Preliminary results. *J Urol* 2000; 164(3 Pt 1):692-7.
32. Schurch B, Schmid DM, Stohrer M. Treatment of neurogenic incontinence with botulinum toxin A. *N Engl J Med* 2000; 342:665.
33. Dickson EC, Shevky R. Studies on manner in which the toxin of clostridium botulinum acts upon the body. I. The effect upon the autonomic nervous system. *J Exp Med* 1923; 37:711-31.
34. Annese V, Basciani M, Borrelli O, Leandro G, Simone P, Andriulli A. Intraspinal injection of botulinum toxin is effective in long-term treatment of esophageal achalasia. *Muscle Nerve* 1998; 21:1540-2.
35. Naumann M, Flachenecker P, Brocker EB, Toyka KV, Reiners K. Botulinum toxin for palmar hyperhidrosis. *Lancet* 1997; 349:252.
36. Naumann M, Zellner M, Toyka KV, Reiners K. Treatment of gustatory sweating with botulinum toxin. *Ann Neurol* 1997; 42:973-5.
37. Carpenter FG. Motor responses of the response of the urinary bladder and skeletal muscle in botulinum toxin intoxicated rats. *J Physiol* 1967; 1988:1-11.
38. Reitz A, von Tobel J, Stöhrer M, Kramer G, et al. European experience of 184 cases treated with botulinum-A toxin injections into the detrusor muscle for neurogenic incontinence. *Neurourol Urodyn* 2002; 21:427-8.
39. Schulte-Baukloh H, Michael T, Schober J, Stolze T, Knispel HH. Efficacy of botulinum-A toxin in children with detrusor hyperreflexia due to myelomeningocele: preliminary results. *Urology* 2002; 59:325-7, discussion 327-8.
40. Wyndaele JJ, Van Dromme SA. Muscular weakness as side effect of botulinum toxin injection for neurogenic detrusor overactivity. *Spinal Cord* 2002; 40:599-600.
41. Borodic GE, Ferrante R, Pearce LB, Smith K. Histologic assessment of dose-related diffusion and muscle fiber response after therapeutic botulinum A toxin injections. *Mov Disord* 1994; 9:31-9.
42. Gross J, Kramer G, Schurch B, Stöhrer M. Repeat injections of botulinum-A toxin in patients with neurogenic lower urinary tract dysfunction do not cause increased drug tolerance. *Neurourol Urodyn* 2002; 21:386-7.
43. Schiavo G, Rossetto O, Catsicas S, et al. Identification of the nerve terminal targets of botulinum neurotoxin serotypes A, D, and E. *J Biol Chem* 1993; 268:23784-7.
44. Schiavo G, Benfenati F, Poulain B, et al. Tetanus and botulinum-B neurotoxins block neurotransmitter release by proteolytic cleavage of synaptobrevin. *Nature* 1992; 359:832-5.
45. Blasi J, Chapman ER, Yamasaki S, Binz T, Niemann H, Jahn R. Botulinum neurotoxin C1 blocks neurotransmitter release by means of cleaving HPC-1/syntaxin. *Embo J* 1993; 12:4821-8.
46. Schiavo G, Shone CC, Rossetto O, Alexander FC, Montecucco C. Botulinum neurotoxin serotype F is a zinc endopeptidase specific for VAMP/synaptobrevin. *J Biol Chem* 1993; 268:11516-9.

