

Рекомбинантные ботулотоксины как новый этап развития ботулинотерапии. Возможности и перспективы применения в неврологической практике

Шихкеримов Р.К., Истомина Е.В.

ГБУЗ «Городская поликлиника № 166 Департамента здравоохранения города Москвы», Москва
Россия, 115551, Москва, Домодедовская ул., 9

В настоящее время известно восемь природных серотипов ботулинического нейротоксина (БНТ-А-Г, -Х). Механизм действия всех серотипов БНТ заключается в пресинаптической блокаде транспортных белков SNARE (Soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor [NSF] Attachment Protein Receptor), в результате которой нарушается выброс ацетилхолина в синаптическую щель и происходит блок нервно-мышечной передачи.

Каждый серотип ботулотоксина селективно связывается со «своим» рецептором пресинаптической мембраны и вызывает расщепление «своего» SNARE-белка. Эти различия определяют нейрональную специфичность и активность ботулотоксинов, что приводит к их уникальным фармакологическим свойствам, таким как активность, продолжительность действия и время до начала действия.

В мировой клинической практике разрешено применение только двух серотипов БНТ (А и В), однако в последние годы проводится большое количество исследований эффективности и безопасности применения других серотипов БНТ (Е, С, F), разрабатываются технологии, позволяющие изменить их природные свойства.

Одним из показаний для применения ботулинотерапии в неврологии является коррекция постинсультной спастичности. В настоящее время с этой целью применяют БНТ-А, клиническое улучшение после инъекций которого наступает через 2 нед, терапевтический эффект сохраняется в течение 3 мес, а далее симптомы спастичности вновь нарастают, что ухудшает качество жизни пациентов и снижает возможности медицинской реабилитации. Применение с этой целью быстродействующих рекомбинантных ботулотоксинов могло бы помочь преодолеть данный недостаток терапии БНТ-А.

Также в настоящее время при поддержке компании IPSEN проводится исследование LANTIMA по оценке профиля безопасности и уровня эффективности применения модифицированного рекомбинантного ботулинического токсина типа АВ в лечении спастичности верхних конечностей у взрослых.

Ключевые слова: ботулинический токсин; серотипы ботулотоксина; рекомбинантные ботулотоксины; ботулинотерапия; постинсультная спастичность.

Контакты: Рафиз Каирович Шихкеримов; rodoss72@gmail.com

Для ссылки: Шихкеримов РК, Истомина ЕВ. Рекомбинантные ботулотоксины как новый этап развития ботулинотерапии. Возможности и перспективы применения в неврологической практике. Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2022;14(6):103-109. DOI: 10.14412/2074-2711-2022-6-103-109

Recombinant botulinum toxin as a new stage in the development of botulinum toxin therapy.

Possibilities and perspectives of use in neurological practice

Shikhkerimov R.K., Istomina E.V.

*City polyclinic № 166, Moscow Healthcare Department, Moscow
9, Domodedovskaya St., Moscow 115551, Russia*

Currently, eight natural serotypes of botulinum neurotoxin (BNT-A-G, -X) are known. The mechanism of action of all BNT serotypes is presynaptic blockade of SNARE transport proteins (Soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor [NSF] Attachment Protein Receptor), as a result of which the release of acetylcholine into the synaptic cleft is disrupted and neuromuscular transmission is blocked.

Each botulinum toxin serotype selectively binds to its own presynaptic membrane receptor and causes cleavage of its own SNARE protein. These differences determine the neuronal specificity and activity of botulinum toxins, which leads to their unique pharmacological properties, such as activity, duration of action, and time to onset of action.

In the international clinical practice, only two BNT serotypes (A and B) are allowed to be used, however, in recent years, a large number of studies on the efficacy and safety of other BNT serotypes (E, C, F) have been carried out, and technologies for changing their natural properties have been developed.

One of the indications for the use of botulinum therapy in neurology is the correction of post-stroke spasticity. Currently, BNT-A is used for this purpose, clinical improvement after its injection occurs after 2 weeks, the therapeutic effect persists for 3 months, and then the symptoms of spasticity increase again, which worsens the patient's quality of life and reduces the possibility of medical rehabilitation. The use of fast-acting recombinant botulinum toxins for this purpose could help overcome this disadvantage of BNT-A therapy.

Currently the LANTIMA study, supported by IPSEN company, is going on to evaluate the safety profile and level of efficacy of modified recombinant botulinum toxin type AB in the treatment of upper limb spasticity in adults.

Keywords: botulinum toxin; botulinum toxin serotypes; recombinant botulinum toxins; botulinum therapy; post-stroke spasticity.

Contact: Rafiz Kairovich Shikhkerimov; rodoss72@gmail.com

For reference: Shikhkerimov RK, Istomina EV. Recombinant botulinum toxin as a new stage in the development of botulinum toxin therapy. Possibilities and perspectives of use in neurological practice. *Nevrologiya, neiropsikhiatriya, psikhosomatika* = *Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*. 2022;14(6):103–109. DOI: 10.14412/2074-2711-2022-6-103-109

Механизмы действия ботулотоксина на нервно-мышечную передачу

Препараты ботулинического нейротоксина (БНТ) используются в клинической практике в качестве универсального и многоцелевого терапевтического средства в течение последних 30 лет [1, 2]. БНТ — это нейротоксин белковой природы, вырабатываемый бактериями *Clostridium botulinum* [3]. Алан Скотт и Эдвард Шанц были первыми учеными, применившими ботулотоксин в терапевтических целях для лечения косоглазия у людей [4]. В настоящее время известно по крайней мере восемь серотипов ботулинического нейротоксина (БНТ-A–G, -X) и более 40 подтипов [5, 6]. Все БНТ имеют три структурных домена: домены связывания и транслокации, расположенные в тяжелой цепи молекулы массой 100 кДа, и каталитический домен, расположенный в легкой цепи массой 50 кДа. Цепи связаны между собой дисульфидным мостиком [7].

Механизм действия всех серотипов БНТ заключается в блокаде транспортных белков, которые обеспечивают присоединение везикул, содержащих нейромедиатор, к пресинаптической мембране. В результате этой блокады нарушается выброс ацетилхолина в синаптическую щель. Это блокирует нервно-мышечную передачу и вызывает локальную химическую денервацию мышцы [8].

В норме слияние синаптических везикул, содержащих ацетилхолин, с клеточной мембраной нейрона происходит при участии группы белков, называемых SNARE (soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor [NSF] attachment protein receptor). В комплекс SNARE входят три белка: VAMP (Vesicle Associated Membrane Protein — ассоциированный с везикулами мембранный белок синаптобревин), SNAP-25 (Synaptosomal-Associated Protein, 25 kDa — синаптосомально-связанный белок с молекулярной массой 25 кДа) и синтаксин. VAMP накапливается на синаптических пузырьках, SNAP-25 находится на пресинаптической мембране, а синтаксин объединяет их, соединяя везикулу с мембраной [9].

БНТ действуют посредством четырехступенчатого механизма:

- 1) связывание со специфическими рецепторами на поверхности нейронов-мишеней;
- 2) интернализация связанного токсина посредством эндоцитоза в нейроны;
- 3) рН-индуцированная транслокация легкой цепи (каталитического домена) в цитозоль клетки;
- 4) расщепление одного из трех SNARE-белков, что блокирует высвобождение ацетилхолина и приводит к вялому параличу [10–12].

Уникальность действия разных типов БНТ связана с тем, что каждый серотип БНТ вызывает расщепление

своего SNARE-белка: БНТ-A и БНТ-E расщепляют белок SNAP-25, а БНТ-B, -D, -F и -G расщепляют белок VAMP. БНТ-C расщепляет SNAP-25 и синтаксин. Недавно открытый серотип БНТ-X расщепляет широкий спектр VAMP-белков [11, 13]. Также каждый серотип БНТ специфически связывается со своим рецептором — ганглиозидом пресинаптической мембраны нейрона, что обеспечивает первоначальную фиксацию токсина на поверхности клетки перед его проникновением в цитоплазму: БНТ-A, -B, -C и -F связываются с трисialogанглиозидом 1b (GT1b), дисialogанглиозидом 1a и 1b (GD1a и GD1b). БНТ-E связывается с GT1b и GD1a, БНТ-D — с фосфатидилэтаноламином, а БНТ-G распознает все ганглиозиды [14].

Далее, также селективно, происходит связь различных серотипов БНТ с белком везикул: БНТ-A, -E и -F связываются с синаптическим везикулярным протеином SV2 [15, 16], а БНТ-B, -C, -D и -G используют синаптотагмины I и II (Syt I–II) [17]. Эти различия определяют нейрональную специфичность и активность ботулотоксинов и приводят к их уникальным фармакологическим свойствам, таким как активность, продолжительность действия и время до начала действия [18].

Эффект ботулотоксина не является постоянным и имеет различную продолжительность действия для разных серотипов БНТ (от 4 нед для серотипа E до 6 мес для серотипа A). Есть предположения, что это связано с тем, что у разных серотипов БНТ легкая цепь связывается с разными типами белков, которые имеют различную чувствительность к убиквитин-зависимому протеолизу, и это вызывает различный по стойкости эффект действия БНТ [19]. Кроме того, стабильность действия БНТ-A связана с наличием в его легкой цепи двух лейциновых остатков. Данную теорию подтверждает тот факт, что при мутации дилейцина резко снижается ингибирование экзоцитоза в нейронах, в то время как генетическое слияние легкой цепи БНТ-E с ферментативно неактивным мутантом БНТ-A приводит к образованию нового белка, который вызывает мощное и стойкое расщепление белка SNAP-25 [20]. Восстановление передачи нервного импульса происходит постепенно по мере восстановления нервно-мышечного соединения (из-за окончания процесса расщепления белков) и образования новых нервных терминалей [4, 12].

Применение ботулотоксинов в клинической практике

Несмотря на то что уже открыто около 40 серотипов БНТ, только два из них — A и B — были одобрены для клинического применения в США Управлением по санитар-

ному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (Food and Drug Administration, FDA): onabotulinumtoxin A (Botox®), abobotulinumtoxin A (Dysport®), incobotulinumtoxin A (Xeomin®) и rimabotulinumtoxin B (Myobloc®) [21]. БНТ-В используется очень ограниченно, так как для достижения аналогичных БНТ-А результатов требуется повышенная доза препарата, что связано с низким сродством БНТ-В к синаптоагмину [4]. БНТ-А был одобрен FDA для лечения косоглазия, блефароспазма и гемифациального спазма еще в 1989 г., затем были утверждены показания для лечения цервикальной дистонии, коррекции межбровных складок лица, лечения подмышечного гипергидроза, хронической мигрени и для косметического применения [4, 22]. В последние годы появились новые показания в отношении применения БНТ для купирования невропатической и послеоперационной боли, мигрени, гиперактивного мочевого пузыря [22, 23].

На территории Российской Федерации зарегистрированы только препараты ботулинического токсина типа А. Среди новейших показаний для применения БНТ-А можно выделить введенное в 2020 г.: «симптоматическое лечение фокальной спастичности верхней конечности у детей в возрасте 2 лет и старше, независимо от ее этиологии», а также введенное в мае 2022 г.: «лечение недержания мочи с помощью abobotulinumtoxin A у взрослых пациентов с нейрогенной гиперактивностью детрузора (нейрогенный мочевой пузырь) в результате повреждения спинного мозга (травматического или нетравматического характера) или рассеянного склероза». Это имеет большое клиническое значение, поскольку известно, что недержание мочи, возникающее в связи с гиперактивностью мочевого пузыря, оказывает значительное отрицательное влияние на качество жизни данных пациентов [24].

Одним из показаний к применению ботулинотерапии в неврологии является коррекция постинсультной спастичности. Двигательные нарушения после перенесенного инсульта значительно ограничивают возможности самообслуживания и передвижения пациентов, дезадаптируют их социально и тяжелым бременем ложатся на плечи родственников. Не только снижение мышечной силы, но и, иногда даже в большей степени, спастическое повышение мышечного тонуса снижает функциональные возможности и затрудняет восстановление моторной функции парализованной конечности [25]. Гипертонус мышцы характеризуется чрезмерной стимуляцией мышечного сокращения вследствие избыточного количества ацетилхолина в синаптической щели, поэтому инъекции БНТ типа А являются терапией первой линии при фокальной и мультифокальной спастичности у взрослых [26, 27].

Стоит отметить, что исследования эффективности воздействия инъекций ботулотоксина на спастический парез продолжаются. Так, в настоящее время в Австралии и Новой Зеландии проводится большое рандомизированное контролируемое клиническое исследование по изучению эффективности воздействия БНТ на спастичность и функцию парализованной нижней конечности (подвижность, ходьба, повседневная активность), а также на качество жизни пациентов с перенесенным инсультом. Результаты исследования ожидаются в 2026 г. [28].

Клинические исследования применения различных серотипов ботулотоксина

До недавнего времени все коммерчески доступные препараты ботулинического токсина получали из нативных бактериальных хозяев — *Clostridium botulinum*. Серотипы БНТ имеют разный антигенный состав и свои уникальные клинические показания, поэтому не могут быть взаимозаменяемыми. Кроме широко используемого в практике БНТ-А, другие серотипы БНТ используются пока только в рамках клинических исследований на ограниченных группах добровольцев.

Итальянские исследователи R. Eleorga и соавт. [29] провели исследование эффективности действия БНТ-В, -С и -F в сравнении с БНТ-А. Двенадцать здоровых добровольцев (семь мужчин и пять женщин) получали инъекции ботулотоксина А, В, С и F или плацебо в мышцу, отводящую мизинец руки. Сравнительное действие ботулотоксинов оценивалось клинически и нейрофизиологически: оценивали изменение составной амплитуды моторного ответа при повторной чрескожной стимуляции двигательного нерва [Compound Muscle Action Potential (CMAP) — SCAN], данные интерференционной электромиографии и анализ потенциалов действия двигательных единиц (ПДЕ) на 2, 4, 6 и 8-й неделе после введения препарата. Результаты исследования показали, что максимальный нервно-мышечный блок для всех серотипов был достигнут на 2-й неделе после введения препарата. Восстановление мышечного ответа по данным CMAP выглядело одинаковым для БНТ-А, -В и -С, в то время как при применении БНТ-F показано более быстрое восстановление. При анализе ПДЕ и данных интерференционной миографии незначительные изменения были выявлены уже на 2-й неделе для всех серотипов, кроме БНТ-F, при котором изменения ПДЕ на 2-й неделе превышали изменения ПДЕ на 4-й неделе. Таким образом, проведенное исследование показало, что при введении БНТ-F имеет место более ранний спраунтинг нейронов и полное восстановление к 8-й неделе. Другие серотипы имели более медленный профиль восстановления нервно-мышечной передачи.

Также на 42 добровольцах проводились исследования действия серотипа БНТ-E для коррекции межбровных складок [30]. Исследование показало, что начало клинического эффекта БНТ-E наступало в течение 24 ч и продолжалось от 14 до 30 дней в зависимости от дозы препарата. Частота нежелательных явлений была низкой, наиболее распространенным из них была головная боль от легкой до умеренной степени. Таким образом, БНТ-E имеет хорошие перспективы для применения в тех случаях, когда желательны быстрое начало и короткая продолжительность эффекта [30].

Рекомбинантные ботулотоксины

Расширение сферы применения природных серотипов ботулотоксина, установление структурной основы их активности открыли возможности для создания токсина на молекулярном уровне. Технология рекомбинантного производства ботулинических токсинов включает генерацию фрагментов доменов, происходящих из ботулинических токсинов (домены связывания и транслокации), создание новых ботулинических токсинов с улучшенными

характеристиками и повышенным терапевтическим потенциалом [31].

Как уже отмечалось выше, в связи с низким сродством к синаптотагмину применение БНТ-В требует более высоких доз, что может усиливать побочные эффекты. Поскольку проведенные клинические исследования БНТ-В позволяют предположить, что он может иметь определенные преимущества перед БНТ-А при лечении таких состояний, как слюнотечение, гипергидроз, и других заболеваний, не связанных с двигательными нарушениями [24], в настоящее время проводятся работы по модификации молекулы БНТ-В с целью повышения аффинности связывания ее с Syt-II [32].

Серотип F включает большое количество подсеротипов и демонстрирует большее разнообразие последовательностей, чем любой другой серотип БНТ [33]. Комбинация различных подсеротипов БНТ-F в одном препарате позволяет повысить его эффективность, сохраняя профиль безопасности нативного препарата [34].

Нейрональная специфичность различных серотипов ботулотоксина не позволяет сравнивать клиническую эффективность нативных препаратов БНТ. Недавно с помощью рекомбинантных технологий были получены высокоочищенные препараты БНТ-A—F, которые позволяют использовать их в качестве эталонных материалов в клинических исследованиях, сравнивающих действие различных серотипов БНТ [35].

Но, пожалуй, самым интересным представляется создание рекомбинантных искусственно созданных ботулотоксинов с использованием нативной аминокислотной последовательности, экспрессируемой в *Escherichia coli*. Простота генетических манипуляций, низкая стоимость, быстрый рост и количество предыдущих исследований сделали *E. coli* одним из наиболее широко используемых видов микроорганизмов для получения рекомбинантных белков [31, 36, 37]. Исследования рекомбинантного БНТ-A (рБНТ-A) *in vitro* и *in vivo* на мышах подтвердили его биохимическую и функциональную сопоставимость с нативным препаратом БНТ-A [38, 39].

Еще одним перспективным направлением последних лет в биофармакологии является создание таргетных ингибиторов секреции (Targeted secretion inhibitors, TSI). Они представляют собой рекомбинантные белки, включающие специфические компоненты ботулотоксинов с узконаправленным действием, что позволяет преодолеть ограничения современных продуктов БНТ и открыть новые клинические возможности, в частности при лечении хронической боли [40].

Рекомбинантные токсины в лечении спастичности

Наибольший научно-практический интерес представляют исследования компании IPSEN, в процессе которых впервые на добровольцах был применен созданный с использованием рекомбинантных технологий ботулотоксин E. В 2019 г. были опубликованы результаты I фазы двойного слепого плацебоконтролируемого исследования EudraCT: 2016–002609-20, проведенного в исследовательском центре в Великобритании [41]. Участниками исследования были здоровые мужчины в возрасте 18–49 лет, ранее не получавшие ботулотоксин (любой серотип) в течение

последних 6 мес, у которых до участия в исследовании амплитуда моторного ответа с *m. extensor digitorum brevis* (от пика до пика) составляла ≥ 5 мВ. Была проведена сравнительная оценка действия рекомбинантного БНТ-E (рБНТ-E) (Ipsen Biopharm Ltd, Великобритания) 0,04–3,6 нг на короткий разгибатель пальцев здоровых мужчин в сравнении с БНТ-A (Dysport, Ipsen Biopharm Ltd, Великобритания) 20, 40 или 70 ЕД. Результаты оценивались клинически и с помощью электрофизиологических методов. Рекомбинантный ботулинический токсин вводили в короткий разгибатель большого пальца стопы под контролем ультразвука. Целью исследования было сравнение эффективности и безопасности вводимых препаратов, а также оценка продолжительности действия препарата. Для оценки эффективности оценивались: ингибирование СМАР в различные моменты времени после инъекции в процентах по отношению к исходному уровню; в какой дозе препарата достигалось максимальное ингибирование мышечного ответа; время начала действия и время достижения максимального эффекта БНТ на мышцу; влияние дозы БНТ на продолжительность эффекта (период между началом и временем восстановления). Также изучали оценку потенциальной локальной диффузии рБНТ-E и БНТ-A в соседние мышцы и продукцию предполагаемых антител против рБНТ-E в анализах крови. Оценка безопасности включала: мониторинг нежелательных явлений, изменения лабораторных показателей по сравнению с исходным уровнем, изменения на электрокардиограмме, клинические симптомы.

Проведенное исследование показало, что все изучаемые дозы БНТ-E в исследованном диапазоне (до 3,6 нг) хорошо переносились, а побочные эффекты в виде боли в конечности и парестезий были отмечены только у двух пациентов. Также не было выявлено значимых изменений при исследовании клинко-лабораторных параметров, основных показателей жизнедеятельности, физического осмотра или данных электрокардиографии. Все образцы сыворотки были отрицательными на наличие связывающих антител к рБНТ-E.

Время до начала действия у рБНТ-E составляло 1–2 дня, в отличие от БНТ-A (1–7 дней). Также различалось время достижения максимального ингибирования мышечного ответа (при всех дозах рБНТ-E максимальный эффект был достигнут примерно в течение 1 нед, в то время как для достижения максимального эффекта БНТ-A потребовалось 2–6 нед и продолжительность эффекта зависела от дозы препарата (была короче при более высоких дозах). Для обоих серотипов максимальное снижение мышечного ответа имело дозозависимый эффект, но средняя продолжительность эффекта ингибирования СМАР была короче для рБНТ-E и составила в среднем 50 дней.

Полученные результаты проведенного исследования открывают новые возможности для достижения быстрого клинического эффекта у пациентов с косоглазием, цервикальной дистонией, а также у взрослых или детей со спастическими парезами. Это очень важно, так как быстрое снижение мышечного тонуса у пациентов после перенесенного инсульта позволит быстрее начать реабилитацию, получить более раннее улучшение функции парализованных конечностей и в конечном итоге вывести ре-

абилитацию пациентов со спастичностью на более высокий уровень.

В настоящее время для снижения мышечного тонуса в парализованных конечностях применяют БНТ-А, клиническое улучшение после инъекций которого наступает через 2 нед, терапевтический эффект препарата сохраняется в течение 3 мес, а далее симптомы спастичности обычно вновь нарастают перед следующей инъекцией [27, 42], что снижает возможности медицинской реабилитации. В 2019 г. во Франции, Германии, Италии, Великобритании и США через Cagenuity (онлайн-сообщество пациентов) был проведен опрос пациентов со спастичностью, который показал, что ранее существовавшие симптомы вновь появляются между сессиями БНТ-А у 83% респондентов в среднем через 89,4 дня. У пациентов вновь возникали мышечные спазмы (у 64% респондентов), скованность или ригидность мышц (у 40%) и боль в конечностях (у 20%). Более половины (52%) респондентов заявили, что потеряли уверенность в себе, 46% пережили депрессию, а 41% испытывали недостаток сна из-за вновь возникших симптомов спастичности. Респонденты в целом были удовлетворены своим графиком инъекций, но 72% сказали, что предпочли бы более длительное сохранение действия препарата с менее частыми инъекциями [43].

Применение в терапии пациентов со спастичностью рекомбинантного ботулотоксина Е, имеющего очень быстрое начало действия (в течение 24–48 ч), может помочь преодолеть данный недостаток терапии БНТ-А. Это особенно важно для стационарного этапа реабилитации пациентов после перенесенного инсульта, так как сроки госпитализации обычно ограничены. Также благодаря раннему началу действия и продолжительности действия от 2 до 6 нед этот быстродействующий токсин потенциально может дать клиницистам возможность лечить такие заболевания, как косоглазие, применяться в лечении ран.

В настоящее время компаний IPSEN проводится многоцентровое двойное слепое рандомизированное пла-

цебоконтролируемое исследование LANTIMA по оценке безопасности и эффективности применения различных доз препарата PN10200 (модифицированный рекомбинантный ботулинический токсин типа АВ) при лечении спастичности верхних конечностей у взрослых. В исследовании принимают участие пациенты от 18 до 70 лет со спастическим гемипарезом после инсульта или черепно-мозговой травмы, не получавшие БНТ позднее чем за 4 мес до начала исследования, имеющие ≥ 2 баллов по Модифицированной шкале спастичности Эшворта (MAS) и не имеющие фиксированных контрактур. Одними из основных параметров изучения являются время начала возникновения эффекта, сроки достижения его наивысшего уровня и продолжительность действия [44].

LANT A и АВ являются первыми в своем классе модифицированными рекомбинантными токсинами, которые потенциально будут иметь более длительную продолжительность действия (по крайней мере 6–9 мес) по сравнению с другими природными токсинами типа БНТ-А при сопоставимом профиле безопасности. Модификация БНТ-АВ позволит объединить наиболее выгодные особенности двух клинически используемых серотипов А и В. Предполагается, что данный препарат будет вводиться 1–2 раза в год, что обеспечит большую удовлетворенность пациентов лечением, а также будет способствовать оптимизации затрат ресурсов здравоохранения [44].

Заключение

В заключение хотелось бы обратить особое внимание на то, что новейшие технологии создания ботулинических токсинов методом искусственной комбинации нативных аминокислотных последовательностей открывают широкие возможности в будущем для синтеза таких рекомбинантных молекул БНТ, которые бы имели заданные фармакологические характеристики скорости, степени и продолжительности эффекта, так необходимые в клинической практике при различных заболеваниях и состояниях, подлежащих ботулинотерапии.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Dressler D. Botulinum toxin drugs: brief history and outlook. *J Neural Transm (Vienna)*. 2016 Mar;123(3):277-9. doi: 10.1007/s00702-015-1478-1. Epub 2015 Nov 11.
- Jankovic J. Botulinum toxin: State of the art. *Mov Disord*. 2017 Aug;32(8):1131-8. doi: 10.1002/mds.27072. Epub 2017 Jun 22.
- Супотницкий МВ. Микроорганизмы, токсины и эпидемии. Москва: Вузовская книга; 2000. Доступно по ссылке: <https://www.supotnitskiy.ru/book/book1-1-5.htm> (дата обращения 10.08.2022). [Supotnitskiy MV. *Mikroorganizmy, toksiny i jepidemii* [Microorganisms, toxins and epidemics]. Moscow: Vuzovskaya kniga; 2000. Available from: <https://www.supotnitskiy.ru/book/book1-1-5.htm> (accessed 10.08.2022) (In Russ.).]
- Chen S. Clinical Uses of Botulinum Neurotoxins: Current Indications, Limitations and Future Developments. *Toxins*. 2012;4(10):913-39. doi: 10.3390/toxins4100913
- Peck MW, Smith TJ, Anniballi F, et al. Historical Perspectives and Guidelines for Botulinum Neurotoxin Subtype Nomenclature. *Toxins* (Basel). 2017;9(1):38. doi: 10.3390/toxins9010038
- Masuyer G, Zhang S, Barkho S, et al. Structural characterisation of the catalytic domain of botulinum neurotoxin X-high activity and unique substrate specificity. *Sci Rep*. 2018 Mar 14;8(1):4518. doi: 10.1038/s41598-018-22842-4
- Rossetto O, Pirazzini M, Montecucco C. Botulinum neurotoxins: genetic, structural and mechanistic insights. *Nat Rev Microbiol*. 2014;12(8):535-49. doi: 10.1038/nrmicro3295
- Орлова ОР. Возможности и перспективы использования ботулотоксина в клинической практике. *Русский медицинский журнал*. 2006;14(23):3-10. Доступно по ссылке: <https://paininfo.ru/articles/rmj/788.html> (дата обращения 10.08.2022). [Orlova OR. Opportunities and prospects for the use of botulinum toxin in clinical practice. *Russkij medicinskij zhurnal*. 2006;14(23):3-10. Available from: <https://paininfo.ru/articles/rmj/788.html> (accessed 10.08.2022) (In Russ.).]
- Mtui EP, Gruener G, Dockery P. Fitzgerald's Clinical Neuroanatomy and Neuroscience. Philadelphia, PA: Elsevier; 2016. P. 85-101.
- Dolly JO, Lawrence GW, Meng J, et al. Neuro-exocytosis: botulinum toxins as inhibitory probes and versatile therapeutics. *Curr Opin Pharmacol*. 2009;9(3):326-35. doi: 10.1016/j.coph.2009.03.004
- Montecucco C, Papini E, Schiavo G. Bacterial protein toxins penetrate cells via a four-step mechanism. *FEBS Lett*. 1994;346(1):92-8. doi: 10.1016/0014-5793(94)00449-8

12. Dressler D. Pharmakologie der Botulinumtoxinmedikamente [Pharmacology of botulinum toxin drugs]. *HNO*. 2012 Jun;60(6):496-502 (In Germ.). doi: 10.1007/s00106-012-2494-1
13. Schiavo G, Matteoli M, Montecucco C. Neurotoxins affecting neuroexocytosis. *Physiol Rev*. 2000 Apr;80(2):717-66. doi: 10.1152/physrev.2000.80.2.717
14. Binz T, Rummel A. Cell entry strategy of clostridial neurotoxins. *J Neurochem*. 2009 Jun;109(6):1584-95. doi: 10.1111/j.1471-4159.2009.06093.x. Epub 2009 Apr 28.
15. Dong M, Yeh F, Tepp WH, et al. SV2 is the protein receptor for botulinum neurotoxin A. *Science*. 2006 Apr 28;312(5773):592-6. doi: 10.1126/science.1123654. Epub 2006 Mar 16.
16. Pirazzini M, Rossetto O, Eleopra R, et al. Botulinum Neurotoxins: Biology, Pharmacology, and Toxicology. *Pharmacol Rev*. 2017;69(2):200-35. doi: 10.1124/pr.116.012658
17. Dong M, Richards DA, Goodnough MC, et al. Synaptotagmins I and II mediate entry of botulinum neurotoxin B into cells. *J Cell Biol*. 2003;162(7):1293-303. doi: 10.1083/jcb.200305098
18. Donald S, Elliott M, Gray B, et al. A comparison of biological activity of commercially available purified native botulinum neurotoxin serotypes A1 to F1 *in vitro*, *ex vivo*, and *in vivo*. *Pharmacol Res Perspect*. 2018;6(6):e00446. doi: 10.1002/prp2.446
19. Tsai YC, Maditz R, Kuo CL, et al. Targeting botulinum neurotoxin persistence by the ubiquitin-proteasome system. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010;107(38):16554-9. doi: 10.1073/pnas.1008302107
20. Wang J, Zurawski TH, Meng J, et al. A dileucine in the protease of botulinum toxin A underlies its long-lived neuromuscular paralysis: transfer of longevity to a novel potential therapeutic. *J Biol Chem*. 2011;286(8):6375-85. doi: 10.1074/jbc.M110.181784
21. Артеменко АР, Куренков АЛ. Ботулинический токсин: вчера, сегодня, завтра. *Нервно-мышечные болезни*. 2013;(2):6-19. Доступно по ссылке: <https://nmb.abvpress.ru/jour/article/view/44/40> (дата обращения 10.08.2022).
- [Artemenko AR, Kurenkov AL. Botulinum toxin: yesterday, today, tomorrow. *Nervno-myshechnyye bolezni = Neuromuscular Diseases*. 2013;(2):6-19. Available from: <https://nmb.abvpress.ru/jour/article/view/44/40> (accessed 10.08.2022) (In Russ.)].
22. Fonfria E, Maignel J, Lezmi S, et al. The Expanding Therapeutic Utility of Botulinum Neurotoxins. *Toxins (Basel)*. 2018;10(5):208. doi: 10.3390/toxins10050208
23. Bentivoglio AR, Del Grande A, Petracca M, et al. Clinical differences between botulinum neurotoxin type A and B. *Toxicon*. 2015;107(Pt A):77-84. doi: 10.1016/j.toxicon.2015.08.001
24. Ginsberg D. The epidemiology and pathophysiology of neurogenic bladder. *Am J Manag Care*. 2013;19(10 Suppl):s191-6.
25. Королев АА. К вопросу о ботулинотерапии постинсультного спастического пареза: механизмы действия ботулотоксина, алгоритм восстановительного лечения. *Лечащий врач*. 2012;(2):78-84. Доступно по ссылке: <https://www.lvrach.ru/2012/02/15435355> (дата обращения 10.08.2022).
- [Korolev AA. On the issue of botulinum therapy for post-stroke spastic paresis: mechanisms of action of botulinum toxin, algorithm for restorative treatment. *Lechashij vrach*. 2012;(2):78-84. Available from: <https://www.lvrach.ru/2012/02/15435355> (accessed 10.08.2022) (In Russ.)].
26. Spasticity in adults: management using botulinum toxin. National guidelines. London: RCP; 2018. Available from: <https://www.kcl.ac.uk/cicelysaunders/attachments/spasticity-in-adults-managment-using-botulinum-toxin.pdf>
27. Ишемический инсульт и транзиторная ишемическая атака у взрослых. Клинические рекомендации. Москва: Минздрав России; 2021. Доступно по ссылке: https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/171_2 (дата обращения 10.08.2022).
- [Ischemic stroke and transient ischemic attack in adults. Clinical guidelines. Moscow: Ministry of Health of Russia; 2021. Available from: https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/171_2 (accessed 10.08.2022) (In Russ.)].
28. Datta Gupta A, Visvanathan R, Cameron I, et al. Efficacy of botulinum toxin in modifying spasticity to improve walking and quality of life in post-stroke lower limb spasticity — a randomized double-blind placebo controlled study. *BMC Neurol*. 2019;19(1):96. doi: 10.1186/s12883-019-1325-3
29. Eleopra R, Rinaldo S, Montecucco C, et al. Clinical duration of action of different botulinum toxin types in humans. *Toxicon*. 2020;179:84-91. doi: 10.1016/j.toxicon.2020.02.020
30. Yoelin SG, Dhawan SS, Vitarella D, et al. Safety and Efficacy of EB-001, a Novel Type E Botulinum Toxin, in Subjects with Glabellar Frown Lines: Results of a Phase 2, Randomized, Placebo-Controlled, Ascending-Dose Study. *Plast Reconstr Surg*. 2018;142(6):847e-855e. doi: 10.1097/PRS.0000000000005029
31. Webb RP. Engineering of Botulinum Neurotoxins for Biomedical Applications. *Toxins (Basel)*. 2018;10(6):231. doi: 10.3390/toxins10060231
32. Tao L, Peng L, Berntsson RP, et al. Engineered botulinum neurotoxin B with improved efficacy for targeting human receptors. *Nat Commun*. 2017;8(1):53. doi: 10.1038/s41467-017-00064-y
33. Raphael BH, Choudoir MJ, Luquez C, et al. Sequence diversity of genes encoding botulinum neurotoxin type F. *Appl Environ Microbiol*. 2010;76(14):4805-12. doi: 10.1128/aem.03109-09
34. Burgin D, Perier C, Hackett G, et al. New Modified Recombinant Botulinum Neurotoxin Type F with Enhanced Potency. *Toxins (Basel)*. 2021;13(12):834. doi: 10.3390/toxins13120834
35. Weisemann J, Krez N, Fiebig U, et al. Generation and Characterization of Six Recombinant Botulinum Neurotoxins as Reference Material to Serve in an International Proficiency Test. *Toxins (Basel)*. 2015;7(12):5035-54. doi: 10.3390/toxins7124861
36. Rasetti-Escargueil C, Popoff MR. Engineering Botulinum Neurotoxins for Enhanced Therapeutic Applications and Vaccine Development. *Toxins (Basel)*. 2020 Dec 22;13(1):1. doi: 10.3390/toxins13010001
37. Fonfria E, Elliott M, Beard M, et al. Engineering Botulinum Toxins to Improve and Expand Targeting and SNARE Cleavage Activity. *Toxins (Basel)*. 2018 Jul 4;10(7):278. doi: 10.3390/toxins10070278
38. Hooker A, Palan S, Beard M. Recombinant botulinum neurotoxin serotype A1 (SXN102342): Protein engineering and process development. *Toxicon*. 2016;123:40. doi: 10.1016/j.toxicon.2016.11.113
39. Perier C, Martin V, Cornet S, et al. Recombinant botulinum neurotoxin serotype A1 *in vivo* characterization. *Pharmacol Res Perspect*. 2021;9(5):e00857. doi: 10.1002/prp2.857
40. Keith F, John C. Targeted secretion inhibitors-innovative protein therapeutics. *Toxins (Basel)*. 2010 Dec;2(12):2795-815. doi: 10.3390/toxins2122795. Epub 2010 Dec 3.
41. Pons L, Vilain C, Volteau M, et al. Safety and pharmacodynamics of a novel recombinant botulinum toxin E (rBoNT-E): Results of a phase 1 study in healthy male subjects compared with abobotulinumtoxinA (Dysport®). *J Neurol Sci*. 2019;407:116516. doi: 10.1016/j.jns.2019.116516
42. Eleopra R, Tugnoli V, Rossetto O, et al. Different time courses of recovery after poisoning with botulinum neurotoxin serotypes A and E in humans. *Neurosci Lett*. 1998 Nov 13;256(3):135-8. doi: 10.1016/s0304-3940(98)00775-7
43. Jacinto J, Varriale P, Pain E, et al. Patient Perspectives on the Therapeutic Profile of Botulinum Neurotoxin Type A in Spasticity. *Front Neurol*. 2020 May 7;11:388. doi: 10.3389/fneur.2020.00388. Erratum in: *Front Neurol*. 2020 Dec 17;11:629181.
44. A Study to Assess the Safety and Efficacy of IPN10200 of in Adult Participants with Upper Limb Spasticity (LANTIMA). Available from: <https://clinicaltrials.gov>

Поступила/отрецензирована/принята к печати
Received/Reviewed/Accepted
03.08.2022/26.10.2022/28.10.2022

Заявление о конфликте интересов/Conflict of Interest Statement

Статья спонсируется компанией «ИПСЕН». Конфликт интересов не повлиял на результаты исследования. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать. Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.

This article has been supported by IPSEN Pharma. The conflict of interest has not affected the results of the investigation. The authors are solely responsible for submitting the final version of the manuscript for publication. All the authors have participated in developing the concept of the article and in writing the manuscript. The final version of the manuscript has been approved by all the authors.

Шихкеримов Р.К. <https://orcid.org/0000-0002-3422-5967>

Истомина Е.В. <https://orcid.org/0000-0002-1004-7000>