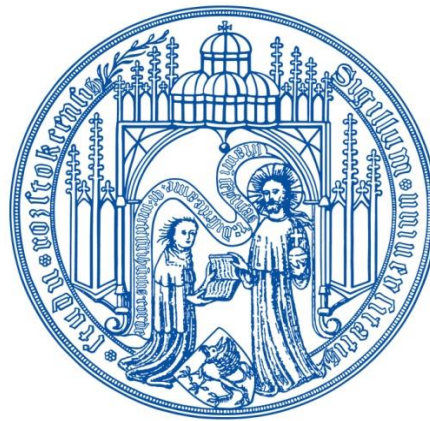


Universitätsmedizin Rostock
Klinik und Poliklinik für Neurologie
Direktor: Prof. Dr. med. Alexander Storch
Stellv. Klinikdirektor: Prof. Dr. med. Uwe Walter

Häufigkeit und Risikofaktoren des antikörperinduzierten sekundären Therapieversagens der Botulinumtoxin-Therapie



Inauguraldissertation
zur Erlangung des akademischen Grades Doktor der Medizin der medizinischen Fakultät der
Universität Rostock

vorgelegt von Christopher Lorenz Mühlenhoff,
geb. am 26.12.1990 in Trier

1. Gutachter:

**Prof. Dr. med. Uwe Walter, Stellv. Direktor der Klinik und Poliklinik für Neurologie,
Universitätsmedizin Rostock**

2. Gutachter:

**Prof. Dr. rer. nat. Burkhard Hinz, Direktor des Instituts für Pharmakologie und
Toxikologie, Universitätsmedizin Rostock**

3. Gutachter:

Prof. Dr. med. Philipp Albrecht, Klinik für Neurologie, Universitätsklinikum Düsseldorf

Jahr der Einreichung: 2021

Jahr der Verteidigung: 2022

Für meine Mutter, ohne die ich nie Medizin studiert hätte

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	7
1.1 <i>Botulinumtoxin</i>	7
1.1.1 Geschichtliche Aspekte	7
1.1.2 Klinik des Botulismus	8
1.1.3 Molekülstruktur	9
1.1.4 Pathomechanismus	11
1.1.5 Antikörperbildung	13
1.1.6 Testverfahren	14
1.1.6.1 Klinische Testverfahren	14
1.1.6.2 Laborbasierte Testverfahren	15
1.1.7 Anwendungsgebiete	16
1.1.8 Präparate	19
1.1.9 Wirkdauer der Präparate	22
1.1.10 Dosierung der Präparate	23
1.1.11 Immunogenität der Präparate	24
1.1.12 Nebenwirkungen	24
1.1.13 Klinische Anwendung der Injektion	25
1.2 <i>Therapieversagen</i>	26
1.2.1 Definition	26
1.2.2 Einteilung	26
1.2.3 Ursachen	26
1.2.4 Therapieabbruch	29
1.3 <i>Dystonie</i>	29
1.3.1 Definition	29
1.3.2 Klassifikation	30
1.3.2.1 Fokale Dystonien	31
1.3.2.1.1 Zervikale Dystonie	31
1.3.2.1.2 Blepharospasmus	34
1.3.2.1.3 Spasmodische Dysphonie	34
1.3.2.1.4 Graphospasmus	34
1.3.2.2 Segmentale Dystonien	35
1.3.2.2.1 Oromandibuläre Dystonie	35
1.3.2.2.2 Meige-Syndrom	35

1.3.2.3 Spasmus hemifacialis	35
1.3.3 Therapie der Dystonie	36
1.4 <i>Spastik</i>	37
1.4.1 Definition	37
1.4.2 Ursachen.....	38
1.4.3 Symptome.....	38
1.4.4 Klassifikation	40
1.4.5 Therapie.....	40
2 Fragestellung.....	43
3 Material und Methoden	44
3.1 Behandlungsablauf an der Neurologischen Universitätsklinik Rostock	44
3.2 Studiendesign	44
3.3 Datentabelle.....	45
3.4 Patientenkollektiv	46
3.5 Botulinumtoxin.....	49
3.6 Antikörpernachweis/ nAK-sTV	49
3.7 Statistische Analyseverfahren	50
4 Ergebnisse	52
4.1 Deskriptive Statistik	52
4.2 Vergleich der diagnostischen und therapeutischen Subgruppen.....	55
4.3 Risikofaktoren für ein nAK-sTV	57
4.4 Analyse der Präparat-, „Wechselgruppe“	61
5 Diskussion	63
6 Fazit	70
7 Danksagung.....	70
8 Thesen.....	71
9 Verzeichnisse.....	73
9.1 Abbildungsverzeichnis	73
9.2 Tabellenverzeichnis:.....	74
9.3 Literaturverzeichnis:.....	74
10 Anhang	89
10.1 Lebenslauf	89
10.2 Eidesstattliche Erklärung.....	91

Abkürzungsverzeichnis

Abo-BoNT: AbobotulinumtoxinA = Dysport[®]

AK: Antikörper

AUC: Area under the curve

BFMDRS: Burke-Fahn-Marsden Dystonia Rating Scale

BoNT-A: Botulinum-Neurotoxin Typ A

BoNT-B: Botulinum-Neurotoxin Typ B

BoNT: Botulinum-Neurotoxin

BSP: Blepharospasmus

CD: Zervikale Dystonie

DU: Dosiseinheiten

EDB-Test: Extensor-digitorum-brevis-Test

ELISA: Enzym-linked Immunosorbent Assay

HFS: Spasmus hemifacialis

HUGO: Human Genom Organization

Inco-BoNT: IncobotulinumtoxinA = Xeomin[®]

kDa: Kilodalton

LD50: Mittlere letale Dosis

MHDA: Maus-Hemidiaphragma-Assay

MLT: Maus-Letalitätstest

MU: Mouse Units = Mauseinheiten

nAK-sTV: Antikörpervermitteltes komplettes sekundäres Therapieversagen

nAK-TV: Antikörpervermitteltes Therapieversagen

nAK: Botulinumtoxin neutralisierende Antikörper

nDE: Normierte Dosiseinheiten

ODT: Andere Formen der Dystonie

Ona-BoNT: OnabotulinumtoxinA = Botox[®]

PZ: Paralysezeit (bei dem MHDA)

Rima-BoNT: RimabotulinumtoxinB = NeuroBloc[®]/Myobloc[™]

SNAP25: Synaptosomal-associated protein of 25 kDa

SNARE: Soluble N-ethylmaleimide-sensitive-factor attachment receptor

SPAS: Spastik

sTV: Sekundäres Therapieversagen

SV2: Synaptisches Vesikel-Glykoprotein 2

TV: Therapieversagen

VAMP: Vesicle-associated membrane protein= Synaptobrevin

1 Einleitung

Zur besseren Lesbarkeit des Textes wird im Folgenden für die Bezeichnung von Personen die jeweils männliche, grammatikalische Form gewählt. Gemeint sind damit jedoch Personen weiblichen, männlichen oder diversen Geschlechts.

1.1 Botulinumtoxin

1.1.1 Geschichtliche Aspekte

Die Entwicklung des Botulinum-Neurotoxins (BoNT) vom Gift zum Therapeutikum ist geprägt durch Meilensteine medizinischer Entwicklungen der letzten Jahrhunderte [1].

Der Zusammenhang zwischen verdorbenem Fleisch und den Symptomen des Botulismus fiel bereits im 10. Jahrhundert auf. Zeitweise führte dies sogar zu einem Verbot der Herstellung von Blutwurst durch Kaiser Leo VI von Byzantium [2].

Im Jahr 1817 beschrieb der Arzt und Physiker Julius C. Kerner die 1793 vermehrt im Süden Deutschlands auftretenden Fälle mit dem typischen Symptomkomplex nach dem Verzehr geräucherter Blutwürste. Dieser wurde später als Botulismus bezeichnet [1].

In einer 1820 publizierten Studie beschrieb Kerner die Wirkung des, aufgrund des damals vermuteten tierischen Ursprungs im Fettgewebe, als „Fettgift“ bezeichneten Stoffes. Darunter waren unter anderem Symptome wie schlaffe Paresen der Muskulatur, sistierende Darm- und Drüsentätigkeit, sowie Sodbrennen, Erbrechen, Diarrhö und Bradykardie [3].

In Tier- und Eigenversuchen beschrieb Kerner in den Folgejahren weitere Symptome im Hinblick auf die Aufnahme des in der Wurst enthaltenen „Fettgiftes“, welches er vom lateinischen Wort für Wurst, „botulus“, abgeleitet als Botulismus bezeichnete [3, 4].

Im Jahre 1897 gelang Émile Pierre-Marie van Ermengem, welcher ein Schüler Robert Kochs war, die Isolierung eines anaeroben Erregers aus verdorbenen Nahrungsmitteln, den er „Bacillus botulinus“ nannte, womit er Kerner's Hypothese eines aus tierischem Fett stammenden „Fettgiftes“ widerlegte [5].

Zur Zeit des zweiten Weltkrieges zeigte auch die aufblühende Waffenindustrie Interesse am BoNT und förderte die weitere Erforschung und Produktion, wodurch es für eine breite klinische Erforschung durch Edward J. Schantz zugänglich wurde [6, 7].

Die physiologische Wirkung des BoNT auf die präsynaptischen Acetylcholinrezeptoren beschrieb Arnold Burgen 1949 [8]. Genauere Einsichten in die molekulare Physiologie des BoNT lieferten verschiedene Wissenschaftler nach 1970 [9–12].

Im Jahre 1965 konnte Drachman eine Parese und Atrophie in Hühnermuskeln nach Injektion mit BoNT nachweisen [13]. Davon angetrieben erforschte der Ophthalmologe Alan B. Scott Anfang der 1970er Jahre erstmals die Wirkung des Mittels zu therapeutischen Zwecken, indem er die lokale intramuskuläre Injektion zur Behandlung des Strabismus in Tierexperimenten einsetzte [14].

Im Anschluss erfolgte 1977 durch die amerikanische Food and Drug Administration (FDA) die Zulassung des BoNT zu therapeutischen Zwecken. Dadurch wurde 1980 die erste erfolgreiche Therapie des Strabismus durch die Anwendung des Toxins ermöglicht [7, 15].

Dies war der Startschuss für weitere zahlreiche Therapieindikationen, wie beispielsweise die 1984 von Bartley R. Fruch beschriebene Therapie des Blepharospasmus mit BoNT [16].

Weitere Indikationsgebiete sowie Studien folgten bis heute (siehe Tabelle 2 und 3 unter Abschnitt 1.1.7).

1.1.2 Klinik des Botulismus

Das klinische Bild des Botulismus wird durch das Toxin des obligat anaeroben, sporenbildenden, und somit äußerst resistenten Bakteriums „Clostridium botulinum“ hervorgerufen. Dieses produziert verschiedene Serotypen des BoNT. Für den menschlichen Organismus sind vor allem Typ A (BoNT-A) und B (BoNT-B) von Bedeutung. Seltener kommt es zu Fällen von Botulismus durch BoNT-Typen, die von den Spezies „Clostridium baratii“ (Typ F) und „Clostridium butyricum“ (Typ E) produziert werden [5, 17, 18].

Das Toxin gilt als eines der potentesten Gifte überhaupt. Laut Scott 1981 liegt die mittlere letale Dosis (LD50) bei Menschen, abgeschätzt auf Grundlage von Versuchen an Affen mittels intraorbitaler Injektion, bei 2000 Nanogramm BoNT-A [18–20].

Der Botulismus lässt sich auf Grundlage des bakteriellen Besiedlungsmusters klassifizieren. Dabei unterscheidet man zwischen dem Nahrungsmittelbotulismus, welcher heute meist über Konserven oder geräucherte Nahrung ausgelöst wird, dem Wundbotulismus, dem durch eine Darmbesiedlung ausgelösten Neugeborenenbotulismus sowie einem intestinalen Botulismus bei Erwachsenen [18, 21].

Die dabei auftretenden Symptome sind in Tabelle 1 dargestellt. Dabei lassen sich grob neurologische und gastrointestinale Symptome unterscheiden [22, 23].

Tabelle 1*Symptomatik des Botulismus (editiert nach [22, 23])*

Symptomatik	Häufigkeit (in %)
Dysphagie	96
Mundtrockenheit	93
Doppelbilder /verschwommenes Sehen	91
Dysphagie	84
Obstipation	73
Absteigende Arm- und Beinparese	70
Akkommodationsstörung	65
Übelkeit	64
Dyspnoe	60
Erbrechen	59
Mydriasis	44
Abdominelle Krämpfe	42
Nystagmus	22
Parästhesien	14
Vigilanzstörung	10
<i>Weitere: Ptosis, schlaffe N.-facialis-Parese beidseits, fehlender Schluckreflex, Hypo- bis Areflexie</i>	

Die Wirkung des Toxins hält Wochen bis Monate an, hinterlässt jedoch in der Regel danach keine bleibenden Schäden. Therapeutisch stehen in Europa Antitoxine für die Typen A, B und E zur Verfügung [18].

Die Wirkung aller BoNT-Typen beruht auf einer Hemmung der präsynaptischen Acetylcholin-Freisetzung, welche im Folgenden genauer erläutert wird [24].

1.1.3 Molekülstruktur

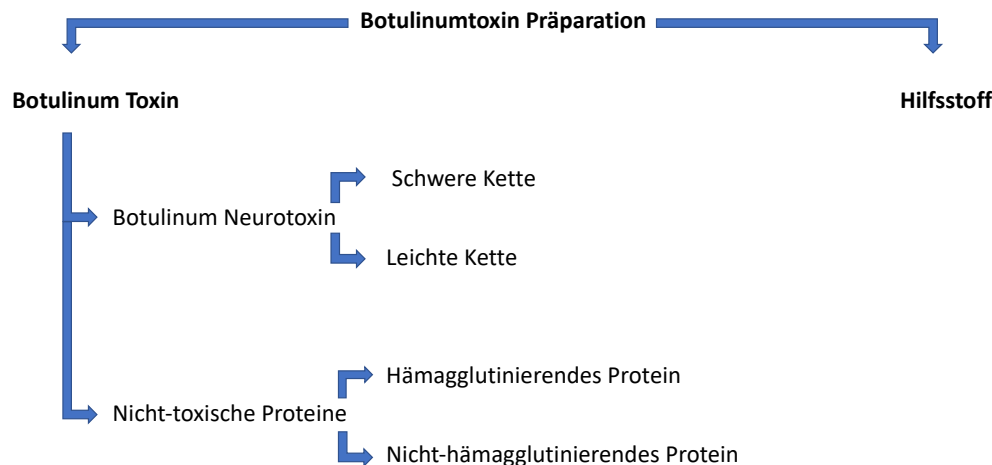
Es werden sieben Typen des BoNT (A, B, C, D, E, F und G) mit jeweils weiteren Subtypen unterschieden [25, 26]. Ein achter Typ H wird postuliert, dieser ist noch Gegenstand aktueller Forschung [27, 28]. Des Weiteren wird ein Typ X vermutet [29]. In Bezug auf die Dreidimensionalität der Molekülstruktur scheinen sich die BoNT-Typen A, B, C, D und G zu ähneln, während Typen F und E untereinander Ähnlichkeiten aufweisen [30].

In der klinischen Therapie werden derzeit BoNT-A und BoNT-B eingesetzt [31]. Die entsprechenden Präparate bestehen aus dem BoNT-Anteil und Hilfsstoffen (pH-Puffersystem und humanes Serum-Albumin). Das BoNT setzt sich aus einem toxischen und einem nicht toxischen Anteil zusammen, welcher hämagglutinierend oder nicht hämagglutinierend sein kann (sog. Komplexproteine). Das BoNT-Molekül selbst besteht aus einer leichten und schweren Kette, deren physiologische Wirkung nachfolgend genauer erläutert wird. Lediglich

bei dem BoNT-A-Präparat Xeomin® (IncobotulinumtoxinA) konnte die nicht toxische Komplexprotein-Komponente bei der Herstellung abgespalten werden, sodass das BoNT-A als isolierte und monomere Form vorliegt [32].

Abbildung 1

Zusammensetzung der therapeutischen BoNT-Präparationen (editiert nach [32])



Gebildet wird das BoNT-A zunächst als Einzelstrang-Polypeptid mit einem Molekulargewicht von ca. 150 Kilodalton (kDa). Erst am Wirkort wird es durch Proteolyse in eine leichte (ca. 50 kDa) und schwere Kette (ca. 100 kDa) gespalten und somit aktiv. Beide Ketten sind vor der Aufspaltung durch Disulfidbrücken und nicht kovalente Van-der-Waal'sche Wechselwirkungen miteinander verbunden [30, 32, 33].

Die schwere Kette spielt dabei mit ihrem C-terminalen Ende aufgrund von Rezeptoren für Ganglioside eine entscheidende Rolle in der Aufnahme des Toxinmoleküls in die cholinergen Neurone, während ihr N-terminales Ende, durch das saure Milieu im Inneren der durch die Endozytose entstandenen Vesikel Ionenkanäle in Doppellipidschichten bildet, um somit der leichten Kette zu ermöglichen, die Membran zu durchqueren und ihre Wirkung im Zytosol zu entfalten. Dabei fungiert die leichte Kette als Metalloprotease und verhindert die Spaltung bestimmter Proteine und dadurch die Freisetzung von Acetylcholin in den synaptischen Spalt [30, 34–37]. Im Weiteren wird genauer auf den zugrundeliegenden Pathomechanismus eingegangen.

1.1.4 Pathomechanismus

Die biologischen Effekte des BoNT beruhen auf einer Hemmung der synaptischen Ausschüttung des Neurotransmitters Acetylcholin und damit auf einer Blockierung der cholinergen Synapsen. Diese finden sich sowohl an der neuromuskulären Endplatte als auch im autonomen Nervensystem (postganglionäre cholinerge Synapse). Somit ist das BoNT sowohl in der Lage, eine neuromuskuläre Übertragung zu unterbinden, als auch die autonom gesteuerte Schweiß-, Tränen- und Speicheldrüsen-Sekretion zu inaktivieren [38].

Dabei unterscheidet man drei wichtige Schritte des Wirkmechanismus, welche vereinfacht auch in Abbildung 2 dargestellt werden:

- 1) Bindung und Internalisierung des BoNT durch Endozytose.
- 2) Translokation des BoNT in das Zytosol der Präsynapse.
- 3) Enzymatische Spaltung der Zielproteine durch das BoNT [9, 10, 34].

Nach der lokalen Injektion des BoNT verteilt es sich zunächst in der extrazellulären Flüssigkeit und gelangt von dort auch in das lymphatische und zum Teil in das Blutssystem [39]. Dabei kann das Toxin die Blut-Hirn Schranke nicht überwinden, so dass es zu keiner zentralnervösen Wirkung kommt [40].

Das C-terminale Ende der schweren Kette des BoNT bindet zunächst an ein Polygangliosid an der präsynaptischen Membran. Im Anschluss folgt die Bindung, in Abhängigkeit vom BoNT-Typ, an ein Protein, welches sowohl an der präsynaptischen Membran als auch nach Endozytose innerhalb des endozytierten Vesikels zu finden ist. Dabei bindet das klinisch relevante BoNT-A an das sogenannte „synaptische Vesikelprotein 2“ (SV2), während das BoNT-B an das sogenannte „Synaptogamin“ bindet [30, 41, 42].

Im Anschluss folgt die Endozytose des Toxins in Vesikeln. Durch den niedrigen pH-Wert innerhalb der Vesikeln, welcher durch eine adenosintriphosphat-abhängige Pumpe entsteht, und die daraus resultierende Konformationsänderung des Toxins kommt es unter Mitwirkung des N-terminalen Endes der schweren Kette zu einer Translokation der leichten Kette in das Zytosol. Dieser Vorgang kann auch durch Fusion der Vesikeln mit dem Endosom entstehen [9, 10, 30].

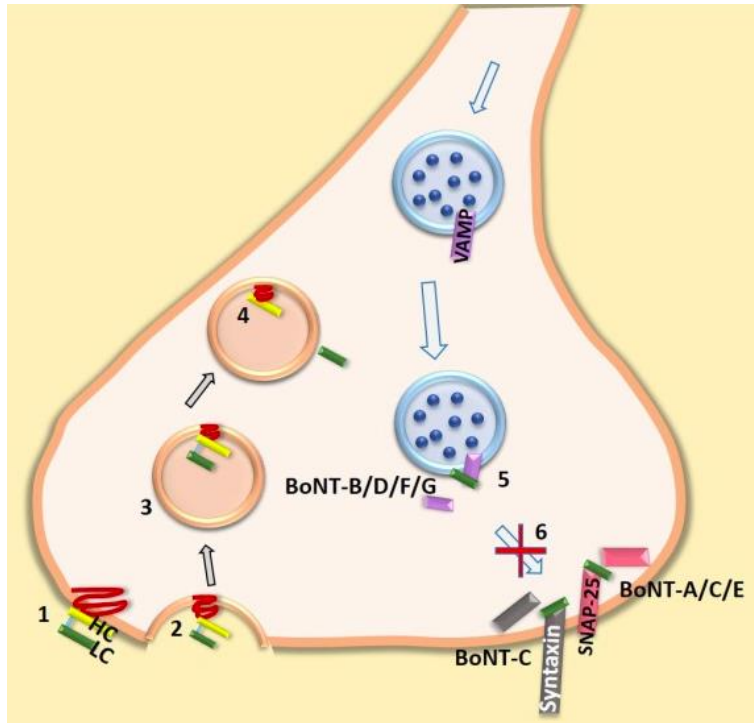
Die als Endoprotease wirkende leichte Kette spaltet im letzten Schritt enzymatisch die an der Freisetzung der acetylcholin-beladenen Vesikeln beteiligten Fusionsproteine, welche als SNARE's („soluble N-ethylmaleimide-sensitive fusion attachment protein-25 receptors“) bezeichnet werden [43–45]. Das genaue Zielprotein dieser Spaltung ist vom jeweiligen BoNT-Typ abhängig. So wirken die Typen B, D, F und G an einem Membranprotein, welches als VAMP („vesicle associated membran protein“) oder auch Synaptobrevin bezeichnet wird

[11, 46], während die Typen C (dieses wirkt zusätzlich am Syntaxin [30, 44, 45]), A und E ihre Wirkung am SNAP-25 („soluble N-ethylmaleimide-sensitive fusion attachment protein of 25 kDa“) entfalten [47–49]. Dies verhindert die kalzium-abhängige Ausschüttung des Neurotransmitters in den synaptischen Spalt und somit die Stimulation der Postsynapse. Man bezeichnet diese durch das BoNT vermittelte Blockade auch als „chemische Denervierung“ [50–52].

Die Wirkung des BoNT lässt in der Regel, in Abhängigkeit von der Dosierung und dem verwendeten Präparat, beobachtbar nach etwa 2-6 Monaten nach. Dabei lassen sich zwei Phasen der Regeneration unterscheiden. Zunächst erfolgt nach etwa 7 Tagen eine Re-Innervation, auch als „axiales Sprouting“ bezeichnet, durch eine Aussprossung von Axonen an den chemisch blockierten Nervenenden. Die darauf folgende Regenerationsphase ist durch eine Resynthese des gespaltenen SNARE-Proteins sowie dessen Transport in die primäre Präsynapse und durch das anschließende Schrumpfen der sekundären axonalen Aussprossungen gekennzeichnet [53–55].

Abbildung 2

Schematische Darstellung der BoNT-Wirkung (Abbildung entnommen aus [258])



LC: light chain = leichte Kette

HC: heavy chain = schwere Kette

BoNT: Botulinumtoxin

VAMP: Vesicle- associated membrane protein, Synaptobrevin

SNARE: Soluble N-ethylmaleimide-sensitive-factor attachment receptor

SNAP-25: Synaptosomal-associated protein of 25 kDa

Anmerkung: Das Toxin besteht aus einer schweren (HC) und leichten Kette (LC). Dabei bindet die schwere Kette an die Protein- und Gangliosid-Rezeptoren (1). Dies bewirkt eine Endozytose (2, 3). Unter der sauren Umgebung im Endosom bewirkt diese eine Konformationsänderung und ermöglicht damit eine Membraninsertion der schweren und leichten Kette mit Translokation in das Zytosol der Zelle (4). Dort wird die Disulfidbrücke zwischen der leichten und schweren Kette gebrochen, was zu einer Freisetzung der leichten Kette ins Zytosol führt. Die leichte Kette des BoNT B/ D/ F/ G spaltet spezifisch das Protein VAMP, BoNT A/ C/ E hingegen das SNAP-25, wohingegen das BoNT C zusätzlich auch das Syntaxin auf der Plasmamembran spaltet. Somit wird die Fusion der Vesikel und folglich die Neurotransmitter Freisetzung verhindert. Hierbei nicht abgebildet ist die Rolle der SNARE's, welche den Transport von Rezeptor- und Kanal-Proteinen zur Membran vermittelt.

1.1.5 Antikörperbildung

Wie bereits zuvor erläutert, besteht das BoNT sowohl aus dem toxischen Proteinanteil als auch aus zahlreichen nichttoxischen Proteinen. Grundsätzlich weisen alle diese Proteine eine immunogene Potenz auf und tragen daher zu einer Antikörperentwicklung durch die Aktivierung von B- und T-Lymphozyten des Empfängers bei [56–58]. Insbesondere scheint dabei das 33 kDa große Protein Hn-33 eine Hauptrolle zu spielen. Studien konnten eine erhöhte Immunreaktivität von BoNT-A-Komplexen in Verbindung mit Hn-33 belegen [59].

Bei den induzierten Antikörpern unterscheidet man zwischen den das BoNT neutralisierenden und den nicht neutralisierenden Antikörpern, wobei letztere nur an die nicht toxischen Komponenten binden bzw. nur eine geringe Affinität besitzen [60, 61]. Die Wirkung neutralisierender Antikörper kann sich prinzipiell in allen drei Schritten des Pathomechanismus entfalten. So verhindern „Sc-AK“ die Bindung des BoNT an die Zelle sowie dessen Internalisierung, „LK-AK“ dessen eigentliche enzymatische Aktivität, während „Sn-AK“ die Translokation blockieren [57]. Letzteren wird die höchste neutralisierende Potenz zugesprochen [60, 62].

Interessanterweise zeigte sich, dass Patienten mit neutralisierenden Antikörpern (nAK), die dennoch auf die BoNT-Therapie ansprechen, durch „Switch“-Phänomene, also den Immunglobulinklassenwechsel von IgM (nicht protektiv) zu IgG (protektiv), erst im Verlauf ein durch nAK bedingtes vollständiges sekundäres Therapieversagen (nAK-sTV) entwickeln können. Dies erklärt ggf. eine Latenz zwischen dem initialen Nachweis von nAK und einem erst später folgenden nAK-sTV [56].

1.1.6 Testverfahren

Durch die Zunahme der Bedeutung des BoNT als Therapeutikum bedarf es einer sicheren Möglichkeit der Detektion von nAK. Von besonderem Interesse sind dabei Testverfahren, die einen hochsensitiven Nachweis gewährleisten. Andererseits ist die Spezifität solcher Tests bei vielen Verfahren limitiert [63].

1.1.6.1 Klinische Testverfahren

1) Extensor-digitorum-brevis-Test:

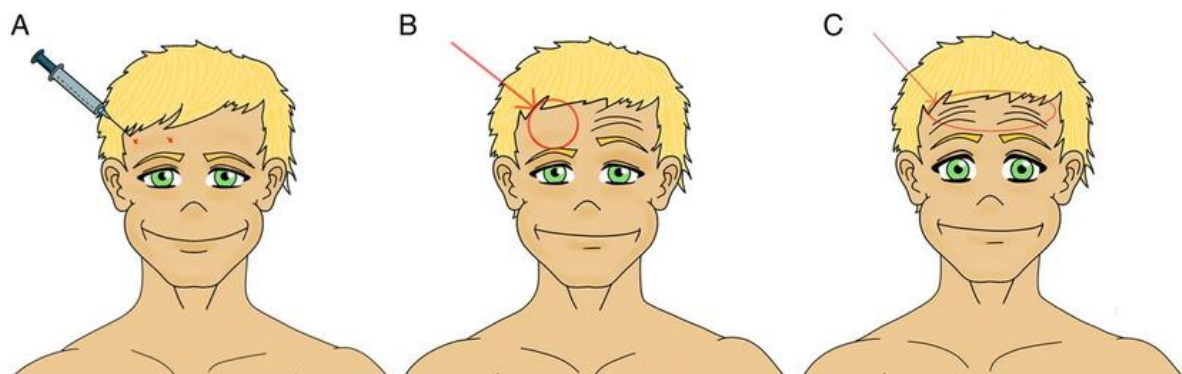
Der Extensor-digitorum-brevis-Test (EDB-Test) bietet die Möglichkeit einer nAK-Testung am Patienten selbst. Dabei wird eine bestimmte Dosis BoNT in den M. extensor digitorum brevis injiziert und vor Injektion sowie nach 2-3 Wochen mittels Elektromyografie (EMG) das durch Stimulation des N. peroneus induzierte Muskelsummenaktionspotential gemessen. Bei Vorliegen relevanter Titer von nAK reduziert sich die Amplitude des Muskelsummenaktionspotentials um weniger als 50 % [64, 65]. Damit gelingt ein qualitativer nAK-Nachweis mit einer Sensitivität von 80 % und einer Spezifität von 94 % [35, 66].

2) Frontalis-Test:

Bei diesem Testverfahren wird eine definierte BoNT-Dosis in den Musculus frontalis verabreicht und die klinische Wirkung 2 - 3 Wochen später beurteilt. Bei erhaltener Wirkung des BoNT ist das Hochziehen der Augenbraue im Seitenvergleich asymmetrisch; bei Vorliegen signifikanter nAK-Titer hingegen symmetrisch. Zur Sicherstellung beziehungsweise Minimierung der Fehlerquote dieses Tests dienen Vergleichsvideos und Vergleichsfotos [67].

Abbildung 3

Musculus-frontalis-Test (Abbildung entnommen aus [67])



- A) Einseitige Injektion des BoNT in den Musculus frontalis
- B) Keine Resistenz: Lähmung des Muskels und damit Unfähigkeit/ Asymmetrie beim Anheben der ipsilateralen Augenbraue
- C) Resistenz: Keine Lähmungserscheinung

3) Sternocleidomastoideus-Test:

Das Funktionsprinzip ähnelt dem des EDB-Tests. Mittels EMG wird das Muskelsummenaktionspotential vergleichend gemessen [68].

4) Sudomotor- und Ninhydrin-Test:

Dieser dient dem Nachweis einer BoNT-Wirkung bzw. nAK-Wirkung anhand der Schweißproduktion [69, 70].

1.1.6.2 Laborbasierte Testverfahren

1) Maus-Hemidiaphragma-Assay (MHDA):

Bei dem MHDA handelt es sich um das sensitivste Testverfahren zur Bestimmung des nAK-Titers. Der MHDA erreicht eine Detektionsgrenze von nAK-Titern $<0,3$ mU/ml. Somit eignet er sich besonders gut zur Bestimmung niedriger Titer [63, 71]. Ein weiterer Vorteil besteht in der Nachweisbarkeit von nAK nicht nur gegen BoNT-A, sondern auch gegen BoNT-B [72].

Die Funktionsweise dieses Tests beruht auf der elektrischen Stimulierung einer Zwerchfellhälfte, die einer Maus in Form einer Hemidiaphragma-Nervus-phrenicus Präparation entnommen und in ein Puffermedium innerhalb eines speziellen Halte- und Messsystems eingesetzt wurde [61, 71, 73]. Dabei werden die Amplitude der isometrischen Kontraktion und die Zeit bis zum Erreichen der halbmaximalen Kontraktionsamplitude (halbmaximale Paralysezeit, hPZ) nach Zugabe eines mit BoNT inkubierten Patientenserums bestimmt [74]. Aufgrund des linearen Zusammenhangs zwischen dem nAK-Titer und der hPZ kann, durch Vergleich mit einer zuvor erstellten Kalibrierkurve (für Standard-Pferdeserum-Antitoxinlösungen), eine quantitative Aussage über den nAK-Titer im Patientenserum getroffen werden. Wie leicht nachzuvollziehen ist, geht eine höhere nAK-Konzentration im Patientenserum mit einem späteren Eintritt der Paralyse des Zwerchfells einher [74].

Im Vergleich zum Maus-Letalitätstest (MLT, siehe unten) weist der MHDA eine 25-fach höhere Sensitivität auf. Die Detektionsschwelle des MHDA ist im Vergleich zum „Enzym-linked Immunosorbent Assay“ (ELISA) ca. 300-fach niedriger [61, 63, 73]. Zur korrekten Durchführung des MHDA sind jedoch eine spezielle Schulung des Personals, die zertifizierte

Haltung und Nutzung entsprechender Versuchstiere sowie die Etablierung geeigneter Kalibriermethoden von Nöten [73, 75].

2) Maus-Letalitätstest:

Der MLT nutzt zum nAK-Nachweis die Bestimmung der LD50. Dabei wird die Überlebensanzahl einer Mauspopulation nach intraperitonealer Injektion von verschiedenen BoNT-Dosen nach 96 Minuten bestimmt und im Falle des Mausprotektionstests mit einer Population verglichen, welche ein BoNT-inkubiertes Patientenserum (mit ggf. darin enthaltenen nAK) injiziert wurde [63, 76, 77].

3) Enzym-linked Immunosorbent Assay (ELISA):

Dieses Verfahren weist BoNT-Antikörper nach, kann aber nicht zwischen nAK und nicht neutralisierenden Antikörpern unterscheiden [61, 75].

4) Endopeptidase-Test:

Dieser Test beschreibt ein In-vitro-Verfahren, welches sich die dosisabhängige Inhibition der zinkabhängigen Endopeptidase zu Nutze macht [51].

5) Immunopräzipitationsassay (IPA):

Dabei handelt es sich um ein biochemisches Verfahren zur Detektion einer BoNT-Antikörper-Bildung; auch dieses kann nicht zwischen nAK und nicht neutralisierenden Antikörpern unterscheiden [78].

1.1.7 Anwendungsgebiete

Die beiden etablierten medizinischen Anwendungsbereiche von BoNT sind die Behandlung der Überfunktion von exokrinen Drüsen sowie die Behandlung hyperaktiver Muskeln [21, 79, 80]. Letztere liegt im Fokus dieser Arbeit. In einer der ersten randomisierten doppelblinden, plazebokontrollierten Studien zur therapeutischen BoNT-Anwendung konnten Tsui et al. 1986 die Effektivität bei spasmodischem Torticollis belegen [81]. Es folgten weitere kontrollierte Studien, wie in Tabelle 2 ersichtlich.

Tabelle 2

Überblick über die ersten randomisierten, doppelblinden, placebo-kontrollierten Studien mit BoNT bei Bewegungsstörungen (editiert nach [259])

Bewegungsstörung	Autor	Jahr
Zervikale Dystonie	Tsui et al.[260]	1986
Blepharospasmus	Jankovic und Orman [261]	1987
Spasmus hemifacialis	Yoshimura et al.[262]	1992
Tätigkeitsassoziierte Dystonie	Cole et al [104]	1995
Essentieller Tremor	Jankovic und Schwartz [263]	1996
Motorische Tics	Marras et al.[264]	2001
Ruhetremor	Shivam et al [265]	2016

Heute zählen neben den neurologischen Indikationsfeldern (vor allem die zervikale Dystonie, Hemispasmus facialis und Blepharospasmus) auch Krankheitsbilder in der Inneren Medizin, Pädiatrie, Chirurgie, Urologie, HNO, Augenheilkunde und Dermatologie zu den Anwendungsgebieten [82–84]. Eine bedeutende Anwendung ist die Behandlung der glandulären Hyperaktivität (z.B. axilläre Hyperhidrose, Hypersalivation) [85]. Auch die kosmetische Behandlung von fazialen Hautfalten stellt heute eine quantitativ bedeutende Anwendung dar. Diese fiel zuerst als Nebeneffekt bei der Therapie des Blepharospasmus auf, bei welcher eine Reduktion der Stirnfalten auftrat [86, 87]. Schließlich bewirkte die Behandlung von Stirnfalten mit BoNT auch eine Verminderung von Migräneattacken und erweiterte nach entsprechenden Zulassungsstudien das Indikationsgebiet [88]. Heute findet das BoNT ein breites Anwendungsgebiet.

Tabelle 3

Klinische Anwendungsgebiete von BoNT (editiert nach [82, 83])

Ophthalmologische Bewegungsstörungen	Strabismus Abduzensparese Blepharospasmus Nystagmus Endokrine Orbitopathie Protektive Ptosis Entropium
Nicht-dystone unwillkürliche Bewegungsstörungen	Spasmus hemifacialis Kongenitale Muskelkrämpfe

	Tremor Tics Myoklonien Myokymie
Zervikale Dystonie	Torticollis spasmodicus Laterocollis Antecollis Retrocollis
Andere fokale Dystonien	Extremitätendystonie (z.B. Fußdystonie) Schreibkrampf Spastische Dystonie Temporomandibuläre Dystonie Pharyngeale Dystonie Palatinaler Tremor Faziale Synkinesie Faziale Asymmetrie
Spastische Bewegungsstörungen	ZNS- Trauma Schlaganfall Multiple Sklerose Zerebralparese
Hydrationsstörungen	Primäre axilläre Hyperhidrose Frey-Syndrom Krokodilstränen Sialorrhoe Allergische oder idiopathische Rhinitis
Hyperaktivität der glatten Muskulatur	Detrusor-Sphincter-Dyssynergie Achalasie Analfissur Diffuser ösophagealer Spasmus Relaxationsstörung des oberen Ösophagus Krikopharyngeale Dystonie Dysfunktion des Sphinkter Oddi Kindliche hypertrophe Pylorusstenose Postoperativer Pylorospasmus Ösophageale Divertikulitis Hyperreflektive Blase Urethrismus Neoblase Vaginismus
Chronische Kopfschmerzen	Migräne Spannungskopfschmerz Tinnitus
Muskuloskeletale Schmerzen	Chronische Rückenschmerzen Myofaziale Schmerzen und Spasmen Zervikogene Kopfschmerzen
Kosmetische Anwendung	Faltenbehandlung Ästhetische Medizin

Zu den Kontraindikationen zählen Erkrankungen der neuromuskulären Erregungsübertragung (Myasthenia gravis, Lambert-Eaton-Myasthenie, ALS, Myopathien etc.) [32, 35, 89, 90, 91], Schwangerschaft und Stillzeit (allerdings gibt es bislang keine Hinweise auf eine Teratogenität des BoNT-A [92–94]), bekannte Allergien auf das Toxin oder Albumin [32, 90, 91] sowie wiederholte lokale Entzündungen der Einstichstelle [91]. Eine gleichzeitige Antikoagulation stellt bei geeigneten Injektionskanülen und kontrolliertem Gerinnungsstatus keine absolute Kontraindikation dar [32].

Zu den relativen Kontraindikationen zählt die Kombination der BoNT-Therapie mit verschiedenen potenziell muskelaktivitätswirksamen Medikamenten wie z.B. Aminoglykosiden, Penicillaminen, Chloroquinen, Kalzium-Kanal-Blockern und Hydroxychloroquinen [91].

1.1.8 Präparate

Bei den in Deutschland zugelassenen Präparaten handelt es sich um Botox[®], Dysport[®] und Xeomin[®] (alle BoNT-A) sowie Neurobloc[®] (BoNT-B) [32]. Tabelle 4 zeigt eine Übersicht über die Eigenschaften der einzelnen Präparate.

Tabelle 4

Eigenschaften verschiedener therapeutischer BoNT-Toxin-Präparationen

(modifiziert nach [32, 96])

Eigenschaften verschiedener therapeutischer Botulinum-Toxin-Präparationen				
	Ona-BoNT	Abo-BoNT	Inco-BoNT	Rima-BoNT
<i>Handelsname</i>	Botox	Dysport	Xeomin	Neurobloc
<i>Subtyp</i>	A	A	A	B
<i>Erstzulassung</i>	1989	1991	2005	2000
<i>Zielproteine</i>	SNAP-25	SNAP-25	SNAP-25	VAMP
<i>Hersteller</i>	Allergan, Inc Irvine, CA USA	Ipsen Ltd. Slough, Berks UK	Merz Pharmaceuticals Frankfurt/ M Deutschland	Elan Plc. Dublin Irland
<i>Biologische Aktivität</i>	100 MU-A/Amp.	500 MU-I/ Amp.	100 MU-M/ Amp.	1,0/2,5/10,0 kMU-E/ Amp.
<i>Biologische Aktivität in Relation zu Botox</i>	1	1/3	1	1/40
<i>Größe der Botulinum-Toxin-Komponente</i>	900 kD	900 kD	150 kD	600 kD
<i>Spezifische biologische Aktivität</i>	20 MU-A/ng NC-B	100 MU-I/ng NC-D	167 MU-M/ng BoNT	100 MU-E/ng NC-N
<i>Korrigierte* spezifische biologische Aktivität</i>	60 MU-EV/ng BoNT	100 MU-EV/ng BoNT	167 MU-EV/ng BoNT	5 MU-EV/ng BoNT
<i>Immunogenität</i>	Altes Präparat: 5-17 % Neues Präparat: 0,2-3,6 %	0,9 – 3,6 %	0 – 0,5 %	18 – 42,4 %

Ona-BoNT: Onabotulinumtoxin
 Abo-BoNT: Abobotulinumtoxin
 Inco-BoNT: Incobotulinumtoxin
 Rima-BoNT: Rimabotulinumtoxin
 MU-A: Mauseinheit im Allergan- Mausletalitätsassay
 MU-E: Mauseinheit im Elan- Mausletalitätsassay
 MU-I: Mauseinheit im Ipsen- Mausletalitätsassay
 MU-M: Mauseinheit im Merz- Mausletalitätsassay
 MU-EV: Äquivalenz-Mauseinheit (1 MU-EV = 1 MU-A = 1 MU-M = 3 MU-I = 40 MU-E)
 *: Korrigiert für verschiedene Herstellerangaben der biologischen Aktivität für verschiedene Zusammensetzungen der BoNT-Komponenten.

Anmerkung: Vistabel, Azzalure und Bocouture sind ästhetische Therapeutika, die jeweils den oben genannten Wirkstoffen entsprechen und auf die in dieser Arbeit nicht genauer eingegangen wird.

Botox[®] wurde zunächst unter dem Handelsnamen „Oculinum“ bis 1992 vertrieben. Das seit 1998 in den USA (seit 1999 in Europa) von der Firma Allergan vertriebene neue Botox[®] besitzt, im Gegensatz zu dem bis dahin hergestellten alten Botox[®], durch höhere Aufreinigung und fünffacher Reduktion der Proteinlast, einen geringeren Anteil an inaktiven, potenziell immunologisch aktiven Proteinen (bis zu 90 %) und führt somit zu einer deutlich geringeren Antikörperbildung. Jankovic et al. konnten 2003 eine etwa sechsmal höhere Wahrscheinlichkeit für die Bildung von nAK bei dem ursprünglich hergestellten Präparat feststellen [95, 96]. Neurobloc[®] ist in den USA aus rechtlichen Gründen als Myobloc[™] erhältlich [32].

Im Folgenden sind die jeweiligen zugelassenen Indikationsgebiete der Präparate dargestellt:

1) *Botulinumtoxin Typ A:*

- A) **Botox[®] (OnabotulinumtoxinA):** Spasmus hemifacialis, Blepharospasmus, zervikale Dystonie (Torticollis spasmodicus), fokale Spastizität (Spitzfußstellung infolge infantiler Zerebralparese und Lebensalter von mindestens 2 Jahren und Spastizität des Handgelenks und der Hand infolge eines Schlaganfalls im Erwachsenenalter), primäre axilläre Hyperhidrose mit Einbußen von Lebensqualität, Harninkontinenz bei Erwachsenen auf Grundlage einer neurogenen Detrusorhyperaktivität, chronische Migräne unter bestimmten Kriterien [97–99].
- B) **Dysport[®] (AbobotulinumtoxinA):** Spasmus hemifacialis, Blepharospasmus, fokale Dystonie, zervikale Dystonie (Torticollis spasmodicus), Armspastik nach Schlaganfall [97, 99].
- C) **Xeomin (IncobotulinumtoxinA):** Zervikale Dystonie mit vor allem rotatorischer Komponente (Torticollis spasmodicus), Blepharospasmus, Spastizität der oberen

Extremität (dabei hat Xeomin im Vergleich zu Botox® und Dysport® eine Ätiologie unabhängige Zulassung und somit ein breiteres Anwendungsfeld) [97], Hypersalivation [100].

2) *Botulinumtoxin Typ B:*

A) **Neurobloc®/Myobloc™ (RimabotulinumtoxinB):** Zervikale Dystonie [97, 99].

Neben dem kostenerstattungsfähigen Einsatz des BoNT gibt es eine Reihe von Indikationen als zulassungsüberschreitende Anwendung (Off-Label-Use) [101]:

1) **Dystonie-Erkrankungen:**

Weitere Formen der fokalen Dystonie (außer der bereits Zugelassenen) und segmentalen Dystonie zur symptomatischen Therapie:

- Oromandibuläre / Linguale Dystonie [97, 98].
- Tätigkeitsassoziierte Dystonien (Schreibkrampf, Musikerdystonie etc.) [97, 102–104].
- Rumpfdystonie [105, 106].
- Bezüglich der generalisierten, halbseitigen oder multifokalen Dystonie ist ein Schwerpunkt bei der Auswahl der zu therapierenden Muskeln zu setzen, die dann den oben genannten Indikationen entsprechen.

Für die Therapie der spasmodische Dysphonie (mit Dysport® und Botox®) sowie für dem Schreibkrampf (mit BoNT-A) erteilte der gemeinsame Bundesausschuss 2013 bzw. 2020 eine Genehmigung als ergänzende Arzneimittelrichtlinie für die zulassungsüberschreitende Verordnung inklusive der Anerkennung des bestimmungsgemäßen Gebrauchs einzelner pharmazeutischer Unternehmen [107, 108].

2) **Spastik:**

Neben der bereits erwähnten Therapiezulassung bei Arm- bzw. Beinspastik nach einem Schlaganfall bzw. aufgrund einer infantilen Zerebralparese ist analog dazu auch die Armspastik anderer Ursache (Hirnhautentzündung, Schädel-Hirn-Traumata, Multiple Sklerose etc.) mit BoNT-A evidenzbasiert behandelbar [109–116].

3) **Hyperaktive Blasenmuskulatur:**

BoNT-A wird hierbei sowohl bei dem Krankheitsbild der hyperaktiven Harnblase als Alternative oder Ergänzung zur anticholinergen medikamentösen Therapie [117, 118], als

auch im Rahmen einer Detrusor-Sphinkter-Dyssynergie bzw. Detrusor-Spastik als Alternative zur chirurgischen Sphinkterotomie verwendet [117].

4) Drüsensekretion:

Eine übermäßige Sekretion der unterschiedlichen Drüsen kann effektiv durch lokale BoNT-Injektion vermindert werden. Dazu gehört die Behandlung der übermäßigen Produktion der Speicheldrüsen (Hypersalivation), Tränendrüsen (Hyperlakrimation) und Schweißdrüsen (Hyperhidrose). Dabei spielen die Schwere der Erkrankung, das jeweilige individuelle Leiden und die Resistenz gegenüber alternativen Therapieverfahren bei der Indikationsstellung eine entscheidende Rolle [119–123].

5) Sonstige:

Da das BoNT generell eine Abschwächung der Muskelkontraktion bewirkt, ist es im Einzelfall auch in anderen Indikationen als sinnvoll zu erachten (z.B. Handtremor) [117, 124–128] (siehe Tabelle 2 in Abschnitt 1.1.7).

1.1.9 Wirkdauer der Präparate

Klinisch tritt die Wirkung des BoNT innerhalb von vier bis sieben Tagen mit objektiv klinisch sichtbarem Effekt ein [129]. Bereits 24 Stunden nach der Injektion kann ein beginnender therapeutischer Effekt vom Patienten bemerkt werden. Dies ist jedoch von der Art der Diagnose und dem Ausprägungsgrad abhängig [99]. Das Maximum der BoNT-Wirkung wird nach etwa einem Monat erreicht. Die dann allmählich nachlassende Wirkung hält dabei im Allgemeinen etwa drei bis vier Monate an [129, 130], wobei dies ebenfalls in Abhängigkeit zur jeweiligen Erkrankung betrachtet werden muss. So ist z.B. die durchschnittliche Wirkdauer bei der Therapie der primären axillären Hyperhidrose länger (im Schnitt sind nur zwei bis drei Sitzungen pro Jahr nötig) und scheint sogar nach den ersten Behandlungseinheiten zuzunehmen [131–133]. Bei dem vegetativ-parasympathisch bedingten gustatorischen Schwitzen hält die Wirkung sogar im Mittel über 17 Monate an [134].

Die zeitliche Begrenzung der Wirkung beruht auf den schon zuvor beschriebenen Regenerationsprozessen des axonalen Aussprossung und der anschließenden Resynthese der SNARE-Proteine [53–55].

1.1.10 Dosierung der Präparate

Die empfohlene Höchstdosis unterscheidet sich je nach BoNT-Präparat aufgrund der oben genannten Eigenschaften [135–137]. Macht der Therapieverlauf einen Wechsel des BoNT-Präparates nötig, so muss neben der Berücksichtigung individueller Gegebenheiten des Patienten (z.B. sekundäre Muskelatrophie, Änderung der an der Dystonie beteiligten Muskeln [136, 138]) auch mit einem Umrechnungsfaktor zur Ermittlung der Äquivalenzdosis gearbeitet werden [32]. Für die Höchstdosierungen liegen Empfehlungen vor.

Tabelle 5

Übersicht BoNT-Präparate (editiert nach [32, 99, 135–137])

Präparat	Empfohlene Höchstmenge pro Injektionsserie bei Erwachsenen
Botox	400-600 Units/Sitzung
Xeomin	400- 600 Units/ Sitzung
Dysport	1000 (Optimum) – 2000 Units / Sitzung (Bein) 500 (Optimum) – 1500 Units/ Sitzung (Arm)
Neurobloc	10.000 Units/ Sitzung

Eine Abweichung von diesen ist individuell zu entscheiden. Die benötigte BoNT-Dosis ist im Wesentlichen von der Größe der zu injizierenden Muskulatur, der Ausprägung der Erkrankung (Schweregrad und Dauer) sowie der Erfahrung aus vorherigen Injektionen abhängig [99, 136]. Dabei wird die biologische Aktivität in Mauseinheiten (=MU) angegeben. Sie entspricht in Mäuseversuchen der LD50 (halbmaximale Sterberate) bei intraperitonealer Gabe des Präparates, das heißt die Gewichtsmenge, bei der in standardisierten Versuchen mit Mäusen die Hälfte der Versuchstiere nicht überleben. Die Mauseinheiten der jeweiligen Präparate können jedoch aufgrund der präparateabhängig unterschiedlichen Gewichtsmengen des BoNT-Proteinkomplexes und der herstellerabhängig unterschiedlichen Mausletalitätsassays nicht direkt miteinander verglichen werden. Daher sind Umrechnungsfaktoren, basierend auf klinischen Vergleichsstudien, gebräuchlich. Diesbezüglich findet man in der Literatur und Forschung unterschiedliche Angaben. So findet sich häufig ein Umrechnungsfaktor von Botox® zu Dysport® von 1:2 bis 1:2,5 MU. Die Wirkung einer MU von Xeomin® ist bei den meisten Autoren etwa identisch mit der des Botox® (1:1). Ebenfalls kann die Wirkungsstärke der verschiedenen BoNT-Typen nicht direkt verglichen werden. So findet man in der Literatur diesbezüglich Umrechnungsfaktoren zwischen Neurobloc® und Botox® von 50:1 MU bis 150:1 MU. Blitzer et al. konnten 2005 für die spasmodische Dysphonie eine optimale Konversionsrate von 52,3:1 MU detektieren. Zu

bedenken ist, dass die autonome Wirkstärke sich anders verhält als die motorische. BoNT-B wird eine relativ stärkere autonome Wirkung als BoNT-A zugesprochen [32, 64, 139, 139–144].

1.1.11 Immunogenität der Präparate

Die Immunogenität der verschiedenen BoNT-Präparate und somit die Neigung zur Bildung von nAK, scheint unterschiedlich zu sein. Bellows und Jankovic (2019) sowie Fabbri (2016) untersuchten dies mittels Metaanalysen aus 61 Studien mit insgesamt 8525 Patienten, welche mit BoNT über mehrere Indikationsbereiche hinweg therapiert wurden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 (siehe Abschnitt 1.1.8) unter Immunogenität ersichtlich. Es wird deutlich, dass die Rate der Antikörperbildung der jeweiligen Präparate sich deutlich unterscheidet. Dabei ist hervorzuheben, dass die Präsenz von Antikörpern nicht zwangsläufig zu einem Verlust der klinischen Wirkung im Sinne eines nAK-sTV führt [96, 145].

1.1.12 Nebenwirkungen

Die BoNT-Präparate zeichnen sich bei großer therapeutischer Breite durch ein äußerst günstiges Nebenwirkungsprofil aus [32, 84]. Naumann und Jancovic konnten 2004 zeigen, dass Nebenwirkungen bei der Therapie mit BoNT-A im Vergleich zu Placebo bei richtiger Anwendung der empfohlenen Dosis nicht häufiger auftreten [146]. Dennoch sind in der Literatur spezifische Nebenwirkungen beschrieben. So können diese in folgende Gruppierungen unterteilt werden [32, 84]:

- 1) *Lokale Nebenwirkungen:* Durch Diffusion in das Nachbargewebe ausgelöste Wirkung (z.B. Diffusion des Toxins in den Musculus levator palpebrae bei der Behandlung des Blepharospasmus, welche bei 1-3 % zu einer Ptosis führen kann)
- 2) *Systemische Nebenwirkungen:* Wirkung auf injektionsferne Strukturen durch Transport in der Blutbahn in Abhängigkeit von der Dosis und des therapeutischen Fensters [84].
- 3) *Obligate Nebenwirkungen:* Bezeichnet durch das Therapieprinzip selbst ausgelöste Nebenwirkungen (z.B.: durch das Toxin ausgelöste unerwünschte Schwäche der Muskulatur).

Dabei unterscheiden sich die verschiedenen BoNT-A-Präparate kaum in ihrem Nebenwirkungsprofil [32]. BoNT-B-Präparate scheinen allerdings häufiger bereits in niedriger und mittlerer Dosierung mit systemischen Nebenwirkungen in Verbindung zu stehen [139]. Daher liegt es nahe, Neurobloc® bei Patienten, die bereits Beeinträchtigungen

des autonomen Nervensystems haben oder unter gleichzeitiger Therapie mit Anticholinergika stehen, nicht einzusetzen [32]. Obligate und lokale Nebenwirkungen scheinen hingegen in ähnlicher Häufigkeit bei BoNT-A und BoNT-B aufzutreten [139].

Die Häufigkeit des Auftretens der Nebenwirkungen ist abhängig von der Dosis, dem Injektionsvolumen, der Injektionstechnik, dem Zielgewebe und dem benachbarten Gewebe, vermutlich auch von der Anzahl sowie der Auswahl der injizierten Muskeln [32, 147–149].

Nebenwirkungen treten typischerweise in einem definierten zeitlichen Rahmen auf. So beginnen sie in der Regel eine Woche nach der Injektion des Toxins und dauern etwa zwei bis drei Wochen an [32]. Sowohl die Latenz bis zum Auftreten der Nebenwirkungen als auch die Dauer dieser (etwa ein bis zwei Wochen) sind im Vergleich zur erwünschten therapeutischen Wirkung des BoNT kürzer [150].

Eine zentralnervöse Wirkung von BoNT-A und BoNT-B tritt bei richtiger Anwendung nicht auf, da die Blut-Hirn-Schranke nicht überwunden werden kann [32].

Die Beeinflussung von Renshaw-Zellen konnte lediglich bei direkter intraspinaler Applikation beobachtbar nachgewiesen werden [151].

Zu den dosisabhängigen systemischen Nebenwirkungen von BoNT zählen Mundtrockenheit, Schluckstörungen, Lid- und Augenmuskelparesen, Akkommodationsstörungen, Augenrötungen, Schleimhautirritationen der Nase und des Genitalbereichs [139]. Dosisunabhängige systemische Nebenwirkungen sind milde Übelkeit, fieberhafte grippeähnliche Reaktionen und Allergien gegen BoNT-Bestandteile. Zu den dosiabhängigen lokalen Nebenwirkungen zählen die vorübergehende Paralyse benachbarter Muskulatur (so ist z.B. eine Ptosis bei Blepharospasmus-Behandlung durch Diffusion des BoNT in den benachbarten M. levator palpebrae bei ca. 1-3 % beschrieben) sowie die Dysphagie mit Aspirationsgefahr (z.B. bei BoNT-Injektion in laterale Halsmuskeln). Dosisunabhängige lokale Nebenwirkungen sind milder Injektionsschmerz, lokale Rötung, Hämatome und vorübergehende Sensibilitätsstörungen [91].

1.1.13 Klinische Anwendung der Injektion

Das BoNT-Präparat wird mittels Injektionskanüle in das jeweilige Zielgewebe eingebracht. Um ein optimales Wirkungsergebnis zu erzielen, werden im Allgemeinen, in Abhängigkeit von der Größe des Muskels und der Formation der Endplattenregion, ein bis drei Injektionspunkte pro Muskel empfohlen. Auch eine Injektion unter Elektrostimulation, Ultraschall- oder Computertomographie-Kontrolle ist möglich und kann auf diese Weise zu einer zielgenaueren Applikation beitragen.

Speziell bei der Behandlung der Spastik kann durch Bewegungsübungen nach der BoNT-Injektion eine Verbesserung der Wirkung durch eine Beschleunigung der BoNT-Verteilung an den aktiven Synapsen erreicht werden [99]. Zur besseren Planung bei der Behandlung der zervikalen Dystonie ist eine genaue Beobachtung der dystonen Kopfposition in Ruhe sowie bei aktiver und passiver Bewegung notwendig [152].

1.2 Therapieversagen

1.2.1 Definition

Unter Therapieversagen (TV) versteht man eine nicht hinreichende klinische Verbesserung im Verlauf der Behandlung. Diese kann sowohl durch das subjektive Gefühl des Patienten, als auch durch die Einschätzung des behandelnden Arztes deutlich werden. Die Ursachen bzw. Einteilung eines Therapieversagens sind verschiedenster Natur und werden im Folgenden erläutert [31, 150].

1.2.2 Einteilung

Ein TV lässt sich nach verschiedenen Gesichtspunkten einteilen [31, 150]:

- a) Primäres vs. sekundäres TV: Während sich bei einem primären TV der unzureichende Erfolg bereits nach der ersten Injektion manifestiert, ist die Behandlung beim sekundären TV initial erfolgreich, zeigt aber im Verlauf der Behandlung einen Wirkverlust bei mindestens drei aufeinanderfolgenden Injektionsserien.
- b) Temporäres vs. definitives TV: Bei einem temporären TV sind nur einzelne Injektionsserien als erfolglos einzustufen, während bei einem definitiven TV auch wiederholte Injektionen keine Wirkung zeigen.
- c) Partielles vs. komplettes TV: Während bei einem kompletten TV sowohl erwünschte, als auch unerwünschte Effekte in Form von Nebenwirkungen, ausbleiben, sind bei einem partiellen TV nur Teilaspekte der Therapie als nicht hinreichend einzustufen, wie beispielsweise eine Wirkstärkenreduktion oder eine verkürzte Wirkdauer.
- d) Subjektives vs. objektives TV: Das subjektive TV bezeichnet ein Versagen aus Sicht des Patienten, während das objektive TV durch den behandelnden Arzt bestätigt bzw. diagnostiziert wird.

1.2.3 Ursachen

Zu den bisher bekannten bzw. zum Teil vermuteten Ursachen eines primären Therapieversagens zählen folgende:

- Fehlerhafte Indikation zur Behandlung mit BoNT. So kann beispielsweise eine (für die BoNT-Anwendung kontraindizierende) Myasthenia gravis zu Beginn, aufgrund der initialen Schwäche der Augenmuskulatur, mit einem mittels BoNT therapierbaren Blepharospasmus verwechselt werden [75, 153–155].
- Eine inkorrekte Injektionstechnik und damit verbunden auch eine eingeschränkte Erfahrung des Behandlers [31, 156].
- Die falsche Auswahl der zu injizierenden Muskulatur [31, 154, 155]. Die richtige Auswahl bereitet aufgrund der Komplexität des klinischen Krankheitsbildes (z.B. bei einer Kombination mehrere Unterformen der zervikalen Dystonie) teilweise Schwierigkeiten. Eine kinetische Analyse mit dem Ziel der Objektivierbarkeit der aktiven Muskeln und damit eine Optimierung der Muskelauswahl sowie eine gleichzeitige Minimierung der BoNT-Dosis konnte dieses Problem in neueren Studien reduzieren [156].
- Klinische Varianten einer Erkrankung mit verminderter BoNT-Sensitivität, wie zum Beispiel die Anterocollis-Variante der zervikalen Dystonie [31].
- Ein Abklingen des Placeboeffektes und damit einhergehend ein subjektives TV. Gerade zu Beginn der BoNT-Therapie werden die ersten Injektionsserien oft als sehr wirkungsvoll empfunden. Im Laufe der Therapie tritt manchmal eine Ernüchterung seitens des Patienten auf, was zu einer depressiven Verstimmung und zum subjektiven TV führen kann [31, 157, 158].
- Eine zu geringe Dosierung des Toxins [155].
- Veränderung des Musters der hyperaktiven Muskulatur [159, 160].
- Technische Probleme im Hinblick auf die sachgerechte Lagerung und Kühlung der Präparate mit resultierender Inaktivierung des BoNT [154].
- Mutationen im SNARE-Komplex und damit verbunden eine geringere Wirkung des BoNT wurden vermutet, jedoch in aktuelleren Studien widerlegt [155].
- Eventuell ein Vorbestehen von nAK infolge einer chronischen BoNT-Exposition bei kindlichem Botulismus oder durch Kreuzreaktionen des Toxins [154].

Als Ursachen eines sekundären Therapieversagens sind prinzipiell auch die zuvor genannten denkbar, jedoch spielt hier die Bildung von nAK die Hauptrolle [161, 162]. Bereits gut belegte Risikofaktoren für die Bildung von nAK sind die folgenden:

- Eine hohe BoNT-Dosis pro Sitzung [89, 152]. Für die Relevanz der (lebenszeitlichen) kumulativen BoNT-Dosis existieren widersprüchliche Angaben [163, 164].

- Ein kurzes Zeitintervall zwischen den Therapiesitzungen (Injektionsintervall) [89, 152].
- Eine geringere spezifische biologische Aktivität eines BoNT-Präparates. Dabei spielt vermutlich auch die individuelle Immunreaktivität eine Rolle [152].
- Der BoNT-Typ scheint ebenfalls eine Rolle zu spielen. So wurde für BoNT-B ein höheres Risiko einer Antikörperbildung im Vergleich zu BoNT-A postuliert [165].

Kein Zusammenhang wird bislang mit der Art der Diagnose, dem Patientenalter sowie der Behandlungsdauer gesehen [152, 163].

Die erste Beschreibung eines nAK-sTV gelang Zuber 1993, der bei 96 Patienten, die mit Dysport® behandelt wurden, in 3 % der Fälle nAK nachwies. In einer Studie von Greene entwickelten 4,35 % der Patienten mit zervikaler Dystonie unter Therapie mit Botox® nAK. Duane wies bei 15 von 96 Patienten mit einer zervikalen Dystonie ein sekundäres TV nach (15,3 %), von denen bei 10 Patienten nAK nachgewiesen wurden. Bei Jankovic und Schwarz 1995 zeigen 20 von 54 Patienten mit sekundärem TV eine nAK-Bildung (4,1 % der beobachteten Patienten zeigten generell ein sekundäres TV). In der Studie von Benecke und Dressler 2007 waren es 2,5 % [89]. In einer 2019 publizierten Studie wurden bei 13,9 % der mit BoNT behandelten Patienten positive nAK-Titer nachgewiesen [163].

Gründe für diese schwankenden Zahlen sind zum einen die schwierige Erhebbarkeit der wahren Anzahl der Therapieversager aufgrund der vom Behandler abhängigen klinischen Definition des sekundären TV und zum Anderen die unterschiedlichen Verfahren der Antikörpertestung [152].

Wie bereits zuvor erwähnt, soll an dieser Stelle zur richtigen Einordnung eines nAK-sTV erneut darauf hingewiesen werden, dass eine Antikörperbildung mit Nachweis eines positiven nAK-Titers nicht zwangsläufig zu einem klinisch relevanten TV führen muss [96].

Eine besondere Stellung in diesem Sinne könnte dem Präparat Xeomin® zukommen, da es vermutlich eine niedrigere Antigenität aufgrund des Fehlens von Komplexproteinen aufweist [166].

Der Einsatz von BoNT-B galt zunächst als sinnvolle Alternative bei einem nAK-sTV von BoNT-A. Dieser Vorteil ist, wie sich inzwischen gezeigt hat, jedoch nur zeitlich begrenzt [166]. Bei einem Wechsel von BoNT-A nach dessen nAK-sTV hin zu BoNT-B entwickelte sich nach durchschnittlich fünf Injektionssitzungen, trotz anfänglichen Effektes, bei 86 % der Patienten ebenfalls ein nAK-sTV, welches auch bei Verdoppelung der BoNT-B-Dosis nicht mehr zu verhindern war [154]. Dabei spielt vermutlich eine Kreuzimmunität zwischen den

Serotypen eine Rolle [166].

Eine Studie von Lange et al. 2009, in der bei 44,5 % der Patienten mit sekundärem TV nAK mittels MHDA nachgewiesen wurden, verdeutlichte jedoch, dass auch andere Ursachen eine Rolle spielen. So wies die Studie bei einer Unterform von Patienten mit gesichtsbetonten Syndromen sogar nur bei ca. 20 % der sekundären Therapieversager nAK nach [73].

1.1.4 Therapieabbruch

Die Gründe für einen Abbruch der Therapie mit BoNT können sehr vielfältig sein. Eine 2018 publizierte Studie von Jinnah et al. konnte bei etwa 1/3 der untersuchten Patienten mit zervikaler Dystonie einen Therapieabbruch registrieren. Dabei erwies sich das Ausbleiben eines Effektes, meist durch primäres (18,4 %) oder sekundäres (13,6 %) TV, als häufigster Grund. Andere Gründe waren das Auftreten von Nebenwirkungen, eine unrealistische Erwartungshaltung, hohe Therapiekosten oder andere Unannehmlichkeiten, die während der Therapie auftraten [157].

1.3 Dystonie

1.3.1 Definition

Die Dystonie bezeichnet eine neurologische Bewegungsstörung, bei welcher es zu oft ununterbrochenen und unwillkürlichen Muskelkontraktionen in einer Körperregion in Form von sich wiederholenden Verdrehbewegungen oder einer schmerzhaften Fehlhaltung kommt. Sie zählt zu den extrapyramidalen Bewegungsstörungen [167]. Der Begriff der „Dystonie“ hat dabei eine mehrfache Bedeutung, insofern er als eigenständige Krankheit (z.B. idiopathische Torsionsdystonie), als ein Symptom einer Erkrankung (z.B. „Off-Dystonie“ bei Parkinsonpatienten) oder aber auch als sekundäres klinisches Syndrom (symptomatische Dystonie) verstanden werden kann [97, 99]. Dabei können grundsätzlich alle quergestreiften Muskeln betroffen sein. Pathophysiologisch ist das dystone Syndrom nur teilweise verstanden. Es wird von einer Fehlfunktion der Basalganglien und der klassischen funktionellen Basalganglienschleifen (mit Kortex, Thalamus, Hirnstammkernen, Rückenmark) ausgegangen, wobei neuere Erkenntnisse auf eine Mitbeteiligung weiterer Strukturen, wie beispielsweise des Kleinhirns, hinweisen [167]. Anhand von klinischen Beobachtungen an vier betroffenen Kindern beschrieb Oppenheimer 1911 erstmals die autosomal-dominant erbliche „Dystonia musculorum“, die heute als Variante der

idiopathischen generalisierten Dystonie klassifiziert ist [97, 168]. Die Prävalenz der Dystonien beträgt etwa 40/100.000 Einwohner [97].

1.3.2 Klassifikation

Die Dystonie lässt sich einteilen nach:

- 1) Anatomischer Lokalisation
- 2) Alter bei Beginn der Erkrankung
- 3) Ursache

Unter anatomischen Gesichtspunkten unterteilt man die Dystonie in eine *fokale, segmentale, multifokale, generalisierte* und *Hemi-Dystonie*.

Die fokale Dystonie betrifft nur eine eng begrenzte Körperregion. Hierzu zählen unter anderem die am häufigsten vorkommende zervikale Dystonie, der Blepharospasmus und der Schreibkrampf.

Von der segmentalen Dystonie spricht man bei einem Befall von zwei oder mehr benachbarten Körperregionen (hierzu zählt zum Beispiel das Meige-Syndrom), während die multifokale Dystonie zwei oder mehr nicht benachbarte Körperregionen betrifft.

Die generalisierte Dystonie betrifft die Beinmuskulatur (auf beiden Seiten oder auf einer Seite zuzüglich der Rumpfmuskulatur) und mindestens einen anderen Bereich des Körpers, während bei der Hemidystonie eine Körperseite (Arm und Bein) betroffen ist.

Bezüglich des Alters bei Beginn der Erkrankung lässt sich die Dystonie in eine „Early-onset“-Dystonie (Beginn bis einschließlich zum 26. Lebensjahr) und eine „Late-onset“-Dystonie (Beginn ab dem 27. Lebensjahr) unterteilen. Dabei besteht auch ein Zusammenhang zur anatomischen Lokalisation. So manifestiert sich die frühe Form der Dystonie meist zunächst an Arm oder Bein, die späte Form vor allem in der Nacken- und kranialen Muskulatur (ein Beginn in den Beinen ist selten). Diese Einteilung hat unter anderem auch eine prognostische Bedeutung. Dabei geht eine „Early-onset“-Dystonie oftmals in eine generalisierte Form über (in etwa 50 % der Fälle), wohingegen die „Late-onset“-Dystonie eher dazu neigt, fokal oder segmental zu bleiben [169].

Ursächlich lässt sich das dystone Syndrom in eine primäre (idiopathische, hereditäre) und sekundäre (symptomatische) Form unterteilen. Während bei der primären Form keine hirnnorganischen oder metabolischen Ursachen zu eruieren sind, sondern teilweise von einer genetischen Besonderheit in bestimmten Genloci ausgegangen wird, ist bei der sekundären (symptomatischen) Form eine hirnnorganische Erkrankung identifizierbar. Dazu zählen unter anderem strukturelle Läsionen, metabolische Störungen und hereditäre neurologische

Systemerkrankungen (mit neurodegenerativen Veränderungen). Des Weiteren werden die Dystonia-plus-Syndrome, bei welcher die Dystoniesymptome mit dem Parkinson-Syndrom oder mit einem Myoklonus auftreten (L-Dopa-sensitive Dystonie bzw. Myoklonus-Dystonie), und die heredodegenerativen Erkrankungen, in denen die Dystonie als Symptom einer Erkrankung zu sehen ist (z.B. bei Morbus Wilson oder Gangliosiderosen), abgegrenzt [99, 169]. Im Folgenden wird auf einige Formen der Dystonie genauer eingegangen.

1.3.2.1 Fokale Dystonien

Die Gruppe der fokalen (und segmentalen) Dystonien bildet mit über 80 % die häufigste Form [99]. Sie lässt sich wiederum in Subgruppen einteilen, wobei im weiteren Verlauf auf die für diese Arbeit relevanten Formen eingegangen wird:

1.3.2.1.1 Zervikale Dystonie

Die zervikale Dystonie (CD) ist die häufigste Dystonie mit einer geschätzten Prävalenz von 5,7/100.000 Einwohner in Europa [170], wobei Frauen statistisch häufiger betroffen sind als Männer [170]. Sie zählt zu den hyperkinetischen Bewegungsstörungen mit einem pathologisch erhöhten Tonus der zervikokraniellen Muskulatur [89, 171] in Form von unwillkürlichen, unkontrollierbaren Kontraktionen der Kopf- und Nackenmuskulatur [170]. Die Ursache ist vor allem idiopathischer Natur (primäre Dystonie), wobei auch raumfordernde oder entzündliche Hirnprozesse eine (sekundäre) zervikale Dystonie auslösen können [172].

Hereditäre Faktoren tragen zur Prädisposition der CD bei. So wurde in der Arbeit von Schmidt und Klein 2010 eine erbliche familiäre Disposition mit autosomal-dominantem bzw. autosomal-rezessivem Vererbungsmuster identifiziert. Das Klassifikationsschema HUGO (Human Genome Organization/ Genome Database Nomenclature) dient der Veröffentlichung der bisher bekannten betroffenen Genloci, welche unter der Bezeichnung „DYT“ aufgeführt werden [173].

Die statistische Wahrscheinlichkeit der Erstmanifestation der CD ist um das 41. Lebensjahr am höchsten. Die CD kann sich sowohl in einem kurzen als auch einem mehrere Monate andauernden Zeitraum entwickeln. Dabei zeigen sich anfänglich oftmals Symptome wie Kopffzittern oder Nackenverspannungen [89].

Klinisch lässt sich die CD nach ihrem Erscheinungsbild in verschiedene Formen unterteilen, die sich an der Abweichungsrichtung des Kopfes und Halses orientiert. Im Folgenden sind die einfachen Formen der CD aufgeführt [99, 152, 170]:

- 1) **Tortikollis/Tortikaput:** Bewegung der Muskelgruppen des Kopfes, welche die Halswirbelsäule (Tortikollis: z.B. M. levator scapulae, M. semispinalis cervicis) bzw. den Schädel und/ oder den ersten Halswirbel (Tortikaput: z.B. M. splenius capitis, M. trapezius, M. semispinalis capitis, M. sternocleidomastoideus, M. obliquus capitis inferior) drehen [152].
- 2) **Laterokollis/Laterokaput:** Neigung des Halses bzw. des Kopfes ipsilateral zur Seite mit Beteiligung der Muskelgruppen, welche die Halswirbelsäule zur Seite ziehen (Laterokollis: z.B. M. levator scapulae) bzw. die am Kopf und dem ersten Halswirbel ansetzen oder entspringen (Laterokaput: z.B. M. sternocleidomastoideus, M. longissimus capitis) [99].
- 3) **Anterokollis/Anterokaput:** Neigung des Halses bzw. des Kopfes nach vorne mit Beteiligung der beiderseitigen Muskelgruppen, welche lediglich die Halswirbelsäule (Anterokollis: z.B. Mm. scaleni, M. levator scapulae) bzw. ausschließlich den Kopf (Anterokaput: z.B. supra- und infrahyoidale Muskulatur, M. longus capitis) nach vorne und unten ziehen [99].
- 4) **Retrokollis/Reotrokaput:** Neigung des Halses bzw. des Kopfes nach hinten mit Beteiligung der beiderseitigen Muskelgruppen, welche lediglich die Halswirbelsäule (Retrokollis: z.B. M. semispinalis cervicis) bzw. ausschließlich den Kopf (Retrokaput: z.B. M. splenius capitis) nach hinten und unten ziehen [99].

Meist findet sich eine Kombination aus zwei oder mehreren Formen [152] . Als Folge der hyperkinetischen Bewegungsstörung treten bei 68-75 % der Patienten nicht nur Fehlhaltungen, sondern auch Schmerzen im Bereich der Schulter und des Nackens sowie Spannungskopfschmerzen auf [174]. Eine genauere Darstellung ist in Abbildung 4 und 5 ersichtlich.

Abbildung 4

Schematische Darstellung der zervikalen und kranialen Dystonie

(Abbildung entnommen aus [99])

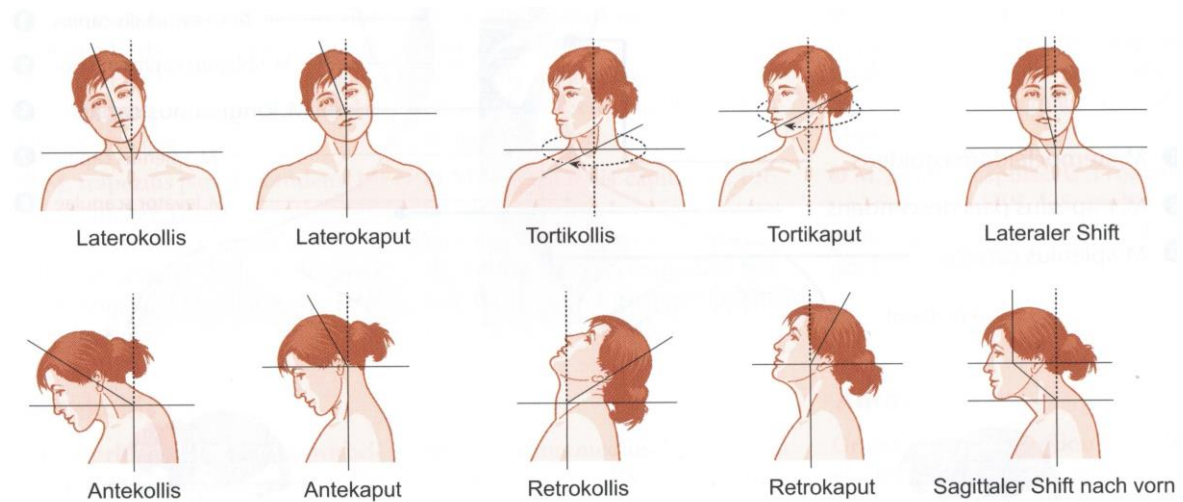
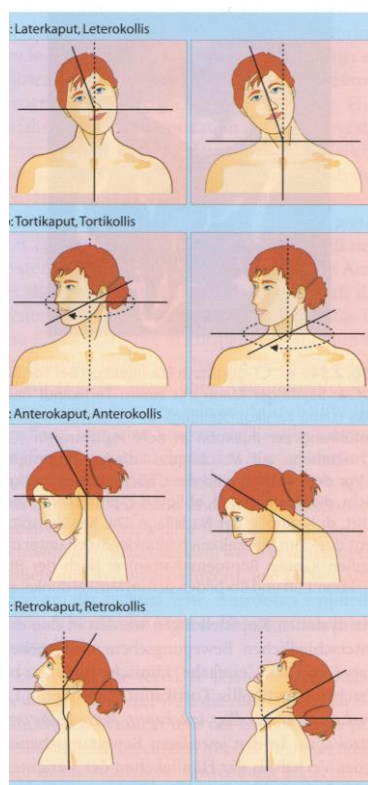


Abbildung 5

Vereinfachte schematische Darstellung der zervikalen und kranialen Dystonie

(Abbildung entnommen aus [99])



1.3.2.1.2 Blepharospasmus

Der Blepharospasmus (BSP) ist gekennzeichnet durch eine dystone Hyperaktivität vorwiegend des M. orbicularis oculi, welche zu Lidkrämpfen führt. Er tritt gehäuft bei Frauen im mittleren und höheren Lebensalter, durchschnittlich im 55. Lebensjahr, auf. Dabei beginnt er meist mit gehäuften Lidschlägen und einem Fremdkörpergefühl, welche in verschiedenen Situationen wie z.B. bei emotionaler Belastung, im Freien oder bei hellem Licht, auftreten. Klinisch unterscheidet man eine tonische, eine klonische, eine palpebrale und eine einseitige Form. Mittels sensorischer Tricks kann der Spasmus kurzzeitig unterbrochen werden („Geste antagonistique“). So bringen beispielsweise Lachen, Kauen, Sprechen oder Gähnen kurzzeitig Abhilfe. Ähnliche Tricks zur zeitlich begrenzten Unterbrechung der Fehlstellungen gibt es auch bei anderen fokalen, generalisierten oder segmentalen Dystonien. Eine Verwechslung des BSP mit anderen muskulären Augenerkrankungen, wie der Myasthenia gravis, ist nicht selten [31, 99].

1.3.2.1.3 Spasmodische Dysphonie

Die spasmodische Dysphonie oder auch laryngeale Dystonie, gehört zur Gruppe der aktionsinduzierten Dystonien. Bereits 1871 wurde das Krankheitsbild als „spastische Form der nervösen Heiserkeit“ beschrieben. Dabei unterscheidet man, je nach betroffenem Muskel (Mm. vocales, Mm. cricoarytenoidei), zwischen einem Adduktortyp (über 90 %), bei welcher es klinisch zu einem angestrengten Sprechen mit gepresster Stimme bis hin zum Sprachverlust kommen kann, und einem Abduktortyp, der durch eine Flüsterstimme gekennzeichnet ist. Sie kann als fokale Dystonieform, in Kombination mit anderen Dystonien und auch symptomatisch, z.B. nach einer Neuroleptikatherapie, auftreten [99].

1.3.2.1.4 Graphospasmus

Der Graphospasmus (Schreibkrampf) zählt zur Gruppe der tätigkeitsassoziierten Handdystonien. Dabei unterscheidet man zwischen dem einfachen Graphospasmus, welcher sich nur beim Schreiben zeigt, dem dystonen Graphospasmus, der sowohl beim Schreiben als auch in Ruhe auftritt, und dem progredienten Graphospasmus, welcher zu Beginn als einfacher Graphospasmus imponiert, im Verlauf aber auch bei weiteren manuellen Tätigkeiten deutlich wird. Betroffen sein können die Fingerbeuger, sowie Handgelenkstrecker und –beuger [99].

1.3.2.2 Segmentale Dystonien

Zur Gruppe der segmentalen Dystonien gehören unter anderem die oromandibuläre Dystonie und das Meige-Syndrom, welche im Folgenden erläutert werden.

1.3.2.2.1 Oromandibuläre Dystonie

Bei der oromandibulären Dystonie sind die Kau-, Zungen- und untere Gesichtsmuskulatur betroffen. Sie lässt sich phänomenologisch in verschiedene Gruppen einteilen. Dabei kann es zum Beispiel zu Kontraktionen der Gesichtsmuskulatur oder unwillkürlichem Öffnen oder Schließen des Kiefergelenks kommen [99].

Tabelle 6

Phänomenologische Einteilung der oromandibulären Dystonien (editiert nach [99])

Oromandibuläre Dystonie	
1.	Faziale Dystonie (nur mimische Muskulatur der unteren Gesichtshälfte betroffen)
2.	Dystonie der Unterkiefermuskulatur
2.a.	Kieferschlusstyp
2.b.	Kieferöffnungstyp
2.c.	Kieferdeviationstyp (seitliche Verschiebung des Unterkiefers: isoliert, mit Kieferöffnung oder -schluss)
3.	Zungendystonie (können isoliert oder mit 2.a. bis 2.c. auftreten)
3.a.	Dystonien der externen Zungenmuskulatur
3.b.	Dystonien der Zungenbinnenmuskulatur
4.	Meige-Syndrom (Kombination der oromandibulären Dystonie mit Blepharospasmus)

1.3.2.2.2 Meige-Syndrom

Kombination von oromandibulärer Dystonie und Blepharospasmus, welche nach dem Erstbeschreiber Henry Meige (1910) benannt wurde [99].

1.3.2.3 Spasmus hemifacialis

Das Krankheitsbild des Spasmus hemifacialis (HFS) zählt im engeren Sinne nicht zu den dystonen Syndromen, hat jedoch aus differentialdiagnostischen Gründen und aufgrund der Behandelbarkeit mit BoNT-Präparaten für diese Arbeit ebenfalls eine wichtige Bedeutung.

Der HFS ist klinisch durch eine Verkrampfung der vom Nervus facialis innervierten Muskulatur (ein oder mehrere Muskeln, ein- oder seltener beidseitig) gekennzeichnet, die sowohl kurzzeitig, als auch länger anhaltend sein kann. Gegebenenfalls können auch spasmus-synchrone Ohrgeräusche durch eine Beteiligung des Musculus stapedius auftreten.

Bei einer Beteiligung des Musculus orbicularis oculi ist eine Differenzierung von HFS und Blepharospasmus gelegentlich schwierig. Ursächlich für den HFS ist am häufigsten eine Kompression des Fazialisnervs am Hirnstammaustritt durch eine elongierte Arterie oder durch raumfordernde Prozesse [99, 175].

1.3.3 Therapie der Dystonie

Grundsätzlich ist das Therapieziel der Dystonie eine Symptomreduktion mit Korrektur der abnormalen Körperhaltung. Dies hat eine Funktionsverbesserung und somit eine Erhöhung der Lebensqualität zum Ziel [166].

Tritt die Dystonie bereits im Kindes- und Jugendalter auf, sollte zunächst ein L-Dopa-Behandlungsversuch unternommen werden, da neben der dopa-sensitiven Dystonie (Segawa-Syndrom) auch einige sekundäre Dystonieformen in geringerem Maße auf diese Therapie ansprechen. Bei Beginn im Erwachsenenalter oberhalb des 26. Lebensjahres ist eine L-Dopa-Therapie meist nicht lohnenswert (lediglich bei gleichzeitigem Vorliegen eines Parkinson-Syndroms) [97]. Des Weiteren sollten Differentialdiagnosen, wie beispielsweise der Morbus Wilson, ausgeschlossen werden, da diese ggf. einer spezifischen Therapie bedürfen [166, 176]. Auch eine spontane Remission der Dystonie kann bei bis zu 15 % der Patienten auftreten [166].

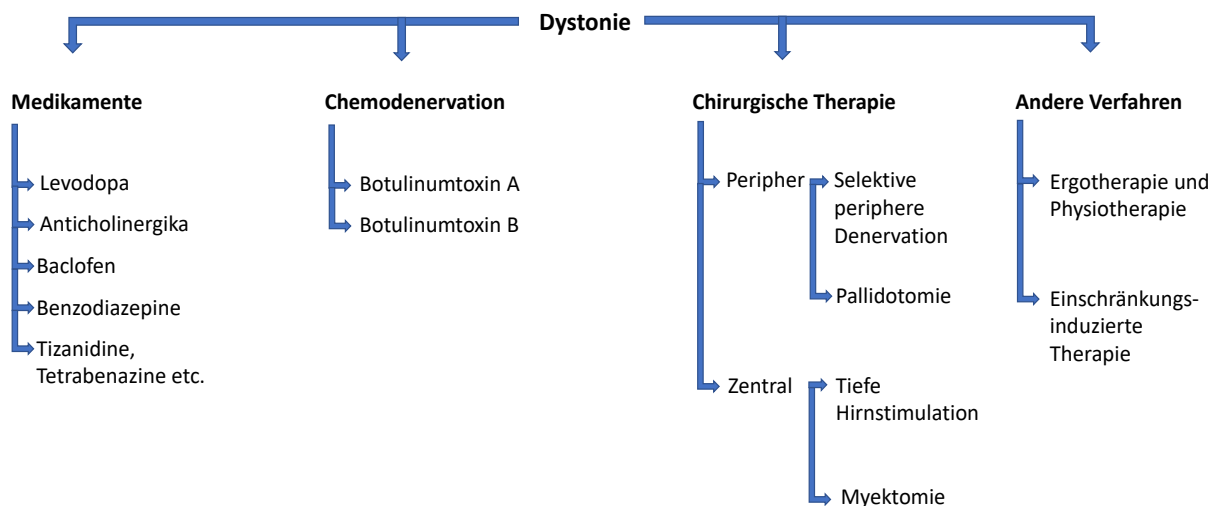
Sowohl physikalische als auch medikamentöse Therapieansätze spielen bei der Behandlung eine Rolle. Orale Medikamente werden meist zu Beginn der Erkrankung eingesetzt. Hierbei kommen sowohl dopaminerge, antidopaminerge, anticholinerge Präparate, als auch Muskelrelaxantien bei jeweils spezifischen Subtypen der Dystonie zum Einsatz. Diese sind jedoch oftmals mit erheblichen Nebenwirkungen vergesellschaftet [166].

Eine neurochirurgische Therapieoption, die vor allem bei der primären Dystonie und schwer betroffenen Patienten mit segmentaler oder generalisierter Dystonie bei ausbleibenden Therapieeffekten eingesetzt wird, ist die tiefe Hirnstimulation des Globus pallidus internus. Dabei konnten Symptomverbesserungen von 39-51 %, gemessen an der Burke-Fahn-Marsden-Dystonia-Rating-Scale (BFMDRS), erzielt werden [177, 178]. Ein besonders gutes Ergebnis zeigt sich bei Patienten mit mobilen Dystonie-Formen, also unwillkürlich einschließenden oder ausfahrenden Bewegungen, wie zum Beispiel bei der myoklonischen Dystonie oder dem dystonen Tremor, sowie bei kurzem Krankheitsverlauf [178–180]. Als den Erfolg beeinflussend gelten Faktoren wie ein niedriges Alter bei Operation, das elektromagnetische Stimulationsvolumen, der präoperative BFMDRS-Score [181] sowie eine kurze Krankheitsdauer [182].

Eine entscheidende Rolle in der Therapie der dystonen Erkrankungen spielt die intramuskuläre Injektions-Behandlung mit BoNT-Präparaten, wie in den vorherigen Kapiteln bereits beschrieben [166]. Vor allem bei fokalen Dystonieformen ist die selektive chemische Denervierung einzelner betroffener Muskelgruppen mittels BoNT heute die Methode der Wahl. Während bei segmentaler und generalisierter Form die orale medikamentöse Behandlungsstrategie weiterhin eine große Rolle spielt, kann auch bei diesen die lokale BoNT-Injektionstherapie zur Behandlung besonders störender Fokalsymptome eingesetzt werden [97]. Eine Übersicht über das Therapiemanagement zeigt Abbildung 6.

Abbildung 6

Behandlungsmöglichkeiten der Dystonie (editiert nach [166])



1.4 Spastik

1.4.1 Definition

Gemäß Lance (1980) zählt die Spastik (SPAS) zur Gruppe der motorischen Bewegungsstörungen, die als Adaptationsprozess nach einer Schädigung von descendierenden motorischen Bahnen im zentralen Nervensystem entstehen [183–185]. Dabei kommt es zu einer bewegungsgeschwindigkeitsabhängigen Erhöhung des Muskeltonus sowie zu gesteigerten Muskeleigenreflexen, welche Ausdruck der Übererregbarkeit phasischer Dehnungsreflexe nach Schädigung des ersten Motoneurons sind [99, 184, 185]. Somit ist die Spastizität ein Symptom des so genannten „Upper-Motor-Neuron“-Syndroms, welche mit einer gewissen Latenz nach Schädigung des ersten Motoneurons auftritt. In Abhängigkeit von Ort und Art der Läsion sowie dem zeitlichen Verlauf entstehen individuelle

Symptome, die als Plus- und Minussymptome bezeichnet werden und nachfolgend weiter erläutert werden [186]. Neben gesteigerten Dehnungsreflexen spielt im zeitlichen Verlauf in Bezug auf die Ausprägung des klinischen Bildes auch eine Muskelverkürzung eine Rolle [99, 187].

Aktuellere Erkenntnisse haben die Definition der spastischen Tonus- und Bewegungsstörung um einige Komponenten erweitert, die nicht durch erhöhte Dehnungsreflexe zu erklären sind. Dazu zählen eine antagonistische Koaktivierung während der aktiven Willkürmotorik, der Verlust von selektiver Kontrolle einzelner Muskeln, strukturelle Veränderungen des Muskelgewebes und des umgebenden Gewebes mit konsekutiver Muskelatrophie und Bindegewebsvermehrung sowie verlangsamte Bewegungsabläufe durch ein verändertes zeitliches Zusammenspiel von Agonisten und Antagonisten [185, 188–191].

1.4.2 Ursachen

Die häufigste Ursache der Spastik ist der Schlaganfall, welcher laut Gesundheitsreport des Robert-Koch-Instituts aus dem Jahre 2015 mit einer Inzidenz von 117/100.000 Einwohner bei Frauen, und 127/100.000 Einwohner bei Männern (in den Jahren 2009 bis 2010 nach Daten des Erlanger Schlaganfallregisters) angegeben wird [192–194]. Aufgrund des demographischen Wandels und der damit verbundenen Zunahme der älteren Bevölkerung wird die Inzidenz des Schlaganfalls voraussichtlich weiter steigen [195]. Als Risikofaktor für die Entstehung einer „Post-stroke“-Spastizität gelten höhergradige Lähmungen sowie zusätzliche Sensibilitätsstörungen [196]. Im zeitlichen Verlauf zeigt sich in den ersten zwei Wochen nach einem Schlaganfall bei ca. 24 %, nach drei bis sechs Monaten bei bis zu 40 % und nach einem Jahr bei bis zu 38 % der Betroffenen eine Erhöhung des Muskeltonus [196–198]. Bei bis zu 13 % der Schlaganfallpatienten ist die Spastizität aufgrund der resultierenden passiven und aktiven Bewegungseinschränkungen behandlungsbedürftig [199].

Nach dem Schlaganfall sind die Multiple Sklerose, hypoxisch-ischämische Enzephalopathie sowie Kopfverletzungen, traumatische Rückenmarksverletzungen und die kindliche Zerebralparese häufige Ursachen der Spastik [99, 129, 191, 200].

1.4.3 Symptome

Die Spastik präsentiert sich klinisch im Wesentlichen als muskulärer Hypertonus und Einschränkung des Bewegungsausmaßes der betroffenen Extremität. Dabei setzt sich der Muskeltonus aus mehreren Komponenten zusammen: Einer neuromuskulären Komponente im Sinne eines reflektorisch erhöhten Widerstandes, einer viskoelastischen Komponente, d.h.

muskuläre Kontrakturen als Faktor der Spastik, welcher bei Hufschmidt und Mauritz bereits 1985 beschrieben wurde, und dem passiven Bindegewebswiderstand (Faszien, Gelenkkapsel) [99, 187, 189, 190].

Für die obere Extremität lassen sich fünf typische spastische Haltungsmuster unterscheiden, welche bei 90 % der Patienten nach Hirnschädigung vorliegen [201].

Abbildung 7

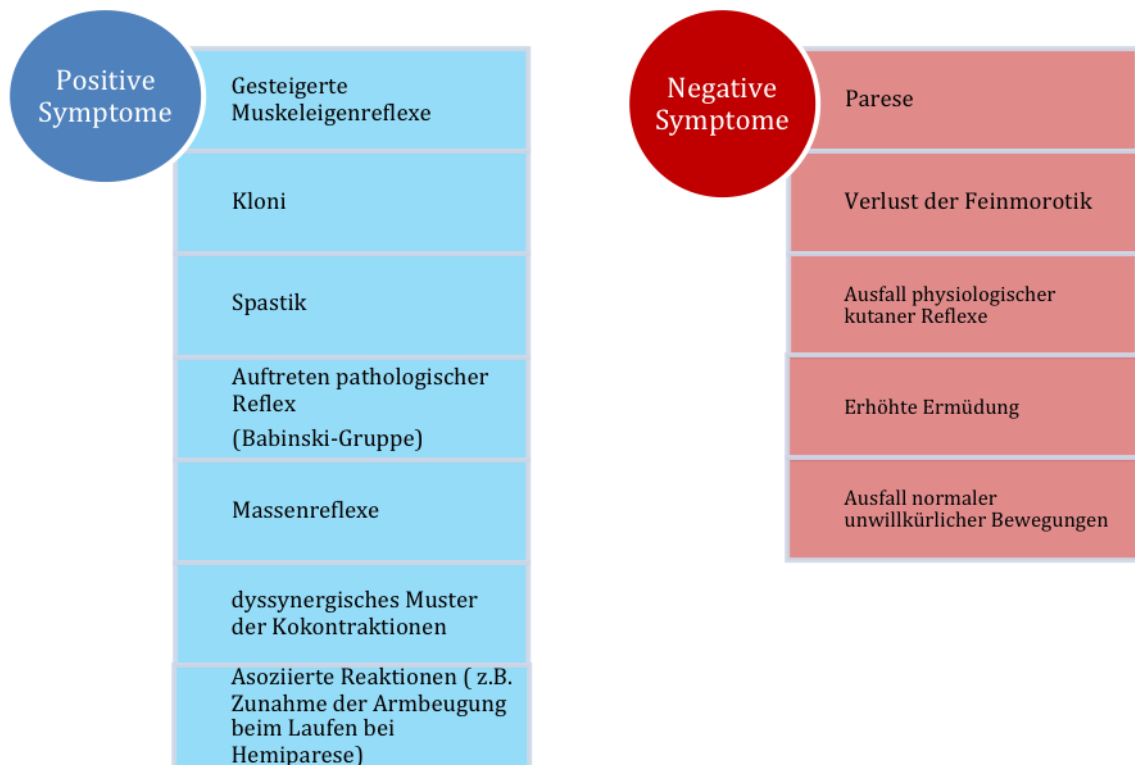
Spastische Haltungsmuster am Arm (Abbildung entnommen aus [99])

	I	II	III	IV	V
Schulter	Innenrotation/ Adduktion	Innenrotation/ Adduktion	Innenrotation/ Adduktion	Innenrotation/ Adduktion	Innenrotation/ Retroversion
Ellenbogen	Flexion	Flexion	Flexion	Flexion	Extension
Unterarm	Supination	Supination	Neutral	Pronation	Pronation
Handgelenk	Flexion	Extension	Neutral	Flexion	Flexion

Beim „Upper-Motor-Neuron“-Syndrom, also dem Syndrom des ersten motorischen Neurons, unterscheidet man zwischen Plus- und Minussymptomen bzw. positiven und negativen Symptomen, welche in der Abbildung 8 dargestellt sind und zu denen unter anderem auch die Spastik zählt [186].

Abbildung 8

Syndrom des ersten motorischen Neurons (Upper Neuron Syndrom) (editiert nach [99])



1.4.4 Klassifikation

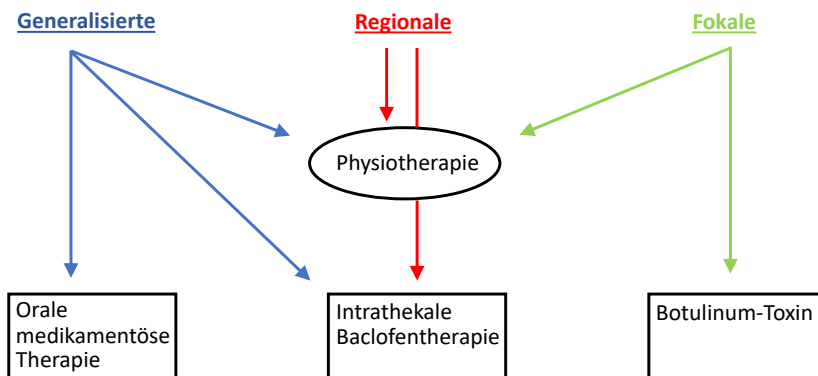
Anhand des Verteilungsmusters (Topik) lässt sich die Spastik in fünf Gruppen einteilen [202]. Bei einer *fokalen* Spastik sind ein oder zwei benachbarte Bewegungssegmente betroffen (z.B. spastische Faust). Ist hingegen eine Extremität mit mehreren Bewegungssegmenten betroffen, so spricht man von einer *segmentalen* Spastik (z.B. spastische Knie- und Hüftbeugung). Als *multisegmental* oder *multifokal* gelten Spastiken in unterschiedlichen Extremitäten (Arm- und Beinspastik) [202]. Die *generalisierte* Form manifestiert sich als Tetraspastik, wohingegen die Paraspastik der Gruppe der segmentalen Spastik zuzuordnen ist [116]. Sind je ein Arm und ein Bein derselben Körperseite betroffen, spricht man von einer *Hemispastik* [99, 202].

1.4.5 Therapie

Eine zwingende Indikation zur Behandlung der Spastik ist nicht in jedem Fall gegeben, sondern diese ergibt sich aus sinnvollen und realisierbaren Behandlungszielen (z.B. Verbesserung der Funktion und der Körperhaltung, Erleichterung der Körperhygiene bzw. der

Pflegesituation oder aber auch eine Besserung des Wohlbefindens einschließlich Schmerzlinderung und viele Weitere) [99]. Abbildung 9 zeigt den Stufenplan der Spastiktherapie. Dabei spielen mehrere Behandlungskonzepte eine Rolle.

Abbildung 9



1) Physiotherapie:

Eine unabdingbare Therapiesäule ist die Physiotherapie, die auch der Linderung von Schmerzen dient, welche durch das Ungleichgewicht der Muskulatur und durch biomechanische Gelenkveränderungen entstehen können [203]. Auch bei einer Muskelschwäche, welche oftmals zusätzlich zum spastisch erhöhtem Muskeltonus auftritt, ist die Physiotherapie hilfreich [204].

2) Orale Medikation:

Orale antispastische Mittel entfalten ihre Wirkung über eine Hemmung der Erregbarkeit von Motoneuronen bzw. spinalen Interneuronen. Nebenwirkungen, insbesondere eine Sedierung und unerwünschte Abnahme der Muskelkraft, treten dabei, in Abhängigkeit von der Dosis, relativ häufig auf, weshalb eine einschleichende Dosierung zu empfehlen ist [205–209]. Des Weiteren verbessern Antispastika nicht zwingend die Alltagsaktivität, da sie bei mobilen Patienten diese durch die Verstärkung der Paresen und Verminderung der Standstabilität verschlechtern können [116]. Bei erhöhtem spastischen Muskeltonus (z.B. im Rahmen einer Paraspastik) mit nur geringer oder keiner Restwillkürinnervation (z.B. der Beine) kann eine solche Therapie jedoch förderlich sein und zur Verbesserung der Funktionalität beitragen [99]. Auch zur Erleichterung der Pflegesituation kann bei immobilen Patienten mit generalisierter Spastik eine orale Medikation förderlich sein [116].

Die wichtigsten in Deutschland zugelassenen antispastisch wirkenden Medikamente sind derzeit Baclofen, Tizanidin, Benzodiazepine (v.a. Tetrazepam), Dantrolen, Tolperison und ein aus Cannabis-Derivaten bestehendes Spray (ausschließlich für die Spastik bei Multipler Sklerose zugelassen). Gabapentin und L-Dopa sind weitere antispastische Medikamente, die derzeit allerdings in Deutschland in dieser Indikation „Off-label“-Charakter haben [210–215].

3) Intrathekale Baclofentherapie:

Diese Art der Therapie kommt bei schwerer Tetra- oder Paraspastik der Beine in Betracht und sollte erst bei unzureichender Wirkung oraler Medikation in Erwägung gezogen werden, da sie zu Nebenwirkungen und zu schwerwiegenden Komplikationen bei bis zu 10 % der Fälle führen kann [216–218]. Dabei eignet sie sich besonders bei schwerer multisegmentaler oder generalisierter Form mit einschließender Tonuserhöhung. Etablierte Kontrakturen können damit nicht mehr beeinflusst werden [219].

4) Botulinumtoxin-Injektionen:

Bei der Spastik der oberen Extremität beruht die Wirkung des BoNT-A auf einer Verbesserung der passiven Beweglichkeit von betroffenen Gelenken bei einmaliger und wiederholter intramuskulärer Injektion. Auch zur verbesserten aktiven Beweglichkeit kann die BoNT-Injektion beitragen, vor allem in Kombination mit aktiven Trainingsmethoden. Gegenüber einer oralen Medikation scheint die Behandlung mit BoNT-A bei fokaler Spastik hinsichtlich der Nebenwirkungen und der Wirksamkeit überlegen zu sein [220–224].

Im Bereich der unteren Extremität, wie Spitzfuß, Hüft- und Kniespastik, konnte ebenfalls in Studien der Erfolg der BoNT-A-Therapie nachgewiesen werden [111, 225].

Auch zur Linderung von Schmerzen, einem häufigen Begleitsymptom der Spastik, trägt die BoNT-Behandlung bei [226–228].

Adjuvante Therapieformen wie Physiotherapie oder elektrische Muskelstimulation in Kombination mit BoNT-A-Therapie haben in mehreren Studien einen Vorteil ergeben [229–231], wohingegen sich bei anderen adjuvanten Therapien, wie zum Beispiel elastischen Tapeverbänden, kein Vorteil zur alleinigen BoNT-Behandlung gezeigt hat [232]. Somit erlaubt die aktuelle Studienlage keine eindeutige Empfehlung zur Kombination der BoNT-Behandlung mit jeglichen adjuvanten Therapieformen [116].

2 Fragestellung

Wie in der Einleitung erwähnt, sind bereits einige Risikofaktoren für ein nAK-sTV der BoNT-Behandlung identifiziert worden. Um eine weitere Optimierung der BoNT-Behandlung zu erreichen, ist es dennoch von Nöten, weitere Zusammenhänge mit dem nAK-sTV aufzudecken bzw. erneut zu prüfen, die über Erfolg und Misserfolg dieser Therapie entscheiden können. Die vorliegende Arbeit analysiert Risikofaktoren eines nAK-sTV bei einer Langzeit-BoNT-Therapie. Ziel ist es, weitere prädiktive Faktoren für die Entstehung eines nAK-sTV zu identifizieren sowie die bereits bekannten anhand umfassender Datenlage der Klinik und Poliklinik für Neurologie der Universitätsmedizin Rostock zu überprüfen.

Zu den für diese Arbeit relevanten Fragestellungen zählen folgende:

- Wie häufig werden nAK bei Patienten, die langjährig mit BoNT therapiert werden, nachgewiesen?
- Welche möglichen prädiktiven Faktoren spielen für eine nAK-Bildung eine Rolle?
- Wie häufig tritt ein antikörperinduziertes vollständiges sekundäres Therapieversagen (nAK-sTV) auf?
- Gibt es hierbei Unterschiede in Abhängigkeit von Geschlecht, dem Alter bei Beginn der Therapie, der Diagnose, dem Therapiezeitraum, der Anzahl der Behandlungssitzungen, der Behandleranzahl, der Auswahl und Anzahl der injizierten Muskulatur, dem Injektionsschema, der Dosierung, den Injektionsintervallen sowie von Präparatewechseln und ggf. dabei einer speziellen Sequenzabfolge?
- Welche weiteren Ursachen von Therapieversagen/ eines Abbruches der BoNT-Behandlung neben einem nAK-sTV konnten in welcher Häufigkeit ermittelt werden?
- Welche Behandlungsoptionen wurden nach nAK-sTV vollzogen?

3 Material und Methoden

3.1 Behandlungsablauf an der Neurologischen Universitätsklinik Rostock

An der Klinik und Poliklinik für Neurologie der Universitätsmedizin Rostock werden seit 1995 Patienten mit Dystonien und Spastik regelmäßig mit BoNT-Injektionen behandelt. Diese Spezialsprechstunde wurde durch einen der internationalen Pioniere in dieser Therapie, Prof. Dr. Reiner Benecke, seit seiner Berufung auf den Lehrstuhl für Neurologie in Rostock etabliert, und ab 1997 durch einen weiteren Pionier dieser Behandlung, Dr. Dirk Dressler (seit 2007 Professor und Leiter der Sektion für Bewegungsstörungen der Klinik und Poliklinik für Neurologie an der Medizinischen Hochschule Hannover), verstärkt. Dabei wurden pro Quartal durchschnittlich ca. 300 Patienten kontinuierlich mit ca. 1200 Vorstellungen pro Jahr in der neurologischen Ambulanz therapiert. Über die Jahre wurde ein strukturiertes Ausbildungskonzept an der Klinik etabliert, sodass bis heute alle BoNT-Injektionen durch Fachärzte erfolgen, welche durch den Arbeitskreis Botulinumtoxin der Deutschen Gesellschaft für Neurologie zertifiziert wurden. Somit kann ein einheitlich hohes Behandlungsniveau gewährleistet werden.

Ebenso besteht eine langjährige Studienerfahrung des hiesigen Zentrums im Bereich der neurologischen Botulinumtoxin-Anwendungen. Alle Behandlungen wurden regelmäßig schriftlich dokumentiert. Dazu wurde ein hausinterner Dokumentationsstandard durch den ehemaligen Direktor der Klinik und Poliklinik für Neurologie, Herrn Prof. Benecke, bereits 1995 etabliert und seither von allen Behandlern des Zentrums fortgeführt. Dieser beinhaltet das Datum der Behandlung, den Namen des behandelnden Arztes, das BoNT-Präparat, die Gesamt-Dosis pro Sitzung sowie die injizierten Muskeln einschließlich der in diese verabreichten Einzeldosen, die Wirkdauer und Effektivität der letzten Behandlung sowie das Auftreten, die Dauer und die Ausprägung von Nebenwirkungen, soweit zutreffend. Des Weiteren wurde das Ergebnis der Testung auf nAK mittels MHDA, wenn durchgeführt, dokumentiert. Sollte es zu einem Therapieabbruch gekommen sein, wurde der Grund für einen solchen in der Regel dokumentiert.

3.2 Studiendesign

Die dieser Promotion zugrundeliegende retrospektive Studie wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Universität Rostock genehmigt. Die Verwendung der persönlichen Daten und Informationen wurde von allen Patienten genehmigt. Die Studie beinhaltet auch Daten aus zwei am hiesigen Zentrum durchgeführten prospektiven, „Open-

label“-Studien zur Prävalenz von nAK in der Langzeittherapie der zervikalen Dystonie und der „Post-Stroke“-Spastik mit BoNT-A [233, 234].

3.3 Datentabelle

Grundlage dieser retrospektiven Studie war eine eigens dafür ausgearbeitete Datentabelle, die folgende Informationen enthielt:

- 1) **Patienteninformation:** Behandlungsdatum, Alter zu Beginn und Ende der Injektionen, Geschlecht, Vorbehandlungen.
- 2) **Diagnose:** Spastik und Dystonieformen (siehe Kapitel Patientenkollektiv).
- 3) **Behandler:** Dabei wurden acht verschiedene interne Behandler dokumentiert (sowie ggf. externe Behandler), wobei die Behandlung eines Patienten überwiegend durch ein und denselben behandelnden Arzt durchgeführt wurde.
- 4) **Präparat:** AbobotulinumtoxinA (Abo-BoNT= Dysport[®]), OnabotulinumtoxinA (Ona-BoNT= Botox[®]), IncobotulinumtoxinA (Inco-BoNT= Xeomin[®]), RimabotulinumtoxinB (Rima-BoNT= NeuroBloc[®]/Myobloc[™]).
- 5) **Dosis:** Gesamtdosis pro Sitzung, kumulative Jahresdosis und kumulative Dosis des gesamten Behandlungszeitraums.
- 6) **Muskulatur:** Anzahl sowie Angabe der injizierten Muskeln, Schema der Injektion und ggf. Wechsel des Injektionsschemas. Dabei bezieht sich der Wechsel des Injektionsschemas sowohl auf eine Änderung der injizierten Muskeln als auch auf eine Dosisänderung je Muskel.
- 7) **Behandlungsintervall:** Anzahl der Behandlungen pro Jahr und durchschnittliches Behandlungsintervall über den Gesamtzeitraum.
- 8) **Behandlungsergebnis:** Bestes, schlechtestes und durchschnittliches Behandlungsergebnis pro Behandlungsjahr. Um die Effektivität der Behandlung zu objektivieren, wurde ein metrisches Klassifikationssystem angewendet. Dabei galt folgendes:
4= Exzellenter Effekt/ kompletter Rückgang der Symptome
3= Guter Effekt/ sehr deutlich merkbare Besserung
2= Moderater Effekt/ merkbare Besserung
1= Geringer Effekt/ leichte Besserung
0= Kein Effekt/ Unveränderte Symptome
-1= Gegenteiliger Effekt/ Verschlechterung der Symptome
- 9) **Mögliche Ursachen für Verbesserung/ Verschlechterung:** Ebenso wurden mögliche Ursachen für eine klinische Verbesserung oder Verschlechterung der Therapie anhand der

Aktenlage identifiziert. Dabei wurde der Zusammenhang mit einer Dosis-, Präparat-, Behandler- oder Behandlungsschemaänderung sowie ggf. der Nachweis von nAK, eine Änderung des Behandlungsintervalls, eine zusätzliche Erkrankung oder psychosozialer Stress als dokumentierte Ursachen erfasst.

10) **Ursache für einen Behandlungsabbruch:** Sollte es im Verlauf der Therapie zu einem Therapieabbruch bis zum Ende des Jahres 2018 gekommen sein, wurde der Grund für diesen wie folgt klassifiziert:

- 1) Primäres Therapieversagen
- 2) Patientenwille bzw. kein zufriedenstellendes Ergebnis
- 3) Intolerable ausgeprägte Nebenwirkungen
- 4) Behandler praktiziert nicht mehr (Beendigung der Sprechstunde)
- 5) Zentrumswechsel des Patienten
- 6) Krankheit oder Tod des Patienten
- 7) Keine Kostenübernahme seitens der Krankenversicherung
- 8) Spontane oder mittels anderer Behandlungsformen aufgetretene Besserung
- 9) Operative Therapie
- 10) nAK-sTV
- 11) Unbekannte Ursache

3.4 Patientenkollektiv

Das Kollektiv umfasste Patienten, die im Zeitraum von 1995 bis 2015 an der Klinik und Poliklinik für Neurologie des Universitätsklinikums Rostock mit der klinischen Diagnose einer Dystonie oder Spastik erstmals eine BoNT-Behandlung erhielten. Erfasst und durchgesehen wurden dazu die Akten von 947 Patienten, davon konnten 471 in diese Studie aufgenommen werden, 476 wurden von der Studie ausgeschlossen (Details s.u.). Eingeteilt wurden diese anhand der Diagnose in fünf verschiedene Subgruppen:

- 1) Hemispasmus facialis (HFS, $n = 55$)
- 2) Blepharospasmus (BSP, $n = 24$)
- 3) Zervikale Dystonie (CD, $n = 255$)
- 4) Andere Dystonieformen (ODT, $n = 47$): Dazu zählen das Meige-Syndrom, sonstige oromandibuläre und oropharyngeale Dystonien, fokale und segmentale Dystonien der Extremitäten und die generalisierte Dystonie.
- 5) Spastik (SPAS, $n = 90$)

Als Einschlusskriterium galten dabei eine neurologische Indikation zur intramuskulären Behandlung mit BoNT und mindestens drei BoNT-Injektionen über einen Mindestzeitraum von sechs Monaten sowie die Verfügbarkeit der vollständigen standardisierten Dokumentation. Für den Fall, dass Patienten zuvor bereits in anderen Kliniken behandelt worden waren und aus diesen eine vollständige Dokumentation bezüglich Behandlungsdaten, BoNT-Dosis und -Präparat vorlag, wurden diese ebenfalls einbezogen. Unter Umständen wurden zusätzliche Informationen aus den vorliegenden Patientenakten, per Telefoninterview mit dem Patienten oder, wenn seitens der/des Patientin/en erlaubt, durch Rückfrage bei den vorbehandelnden Ärzten eingeholt.

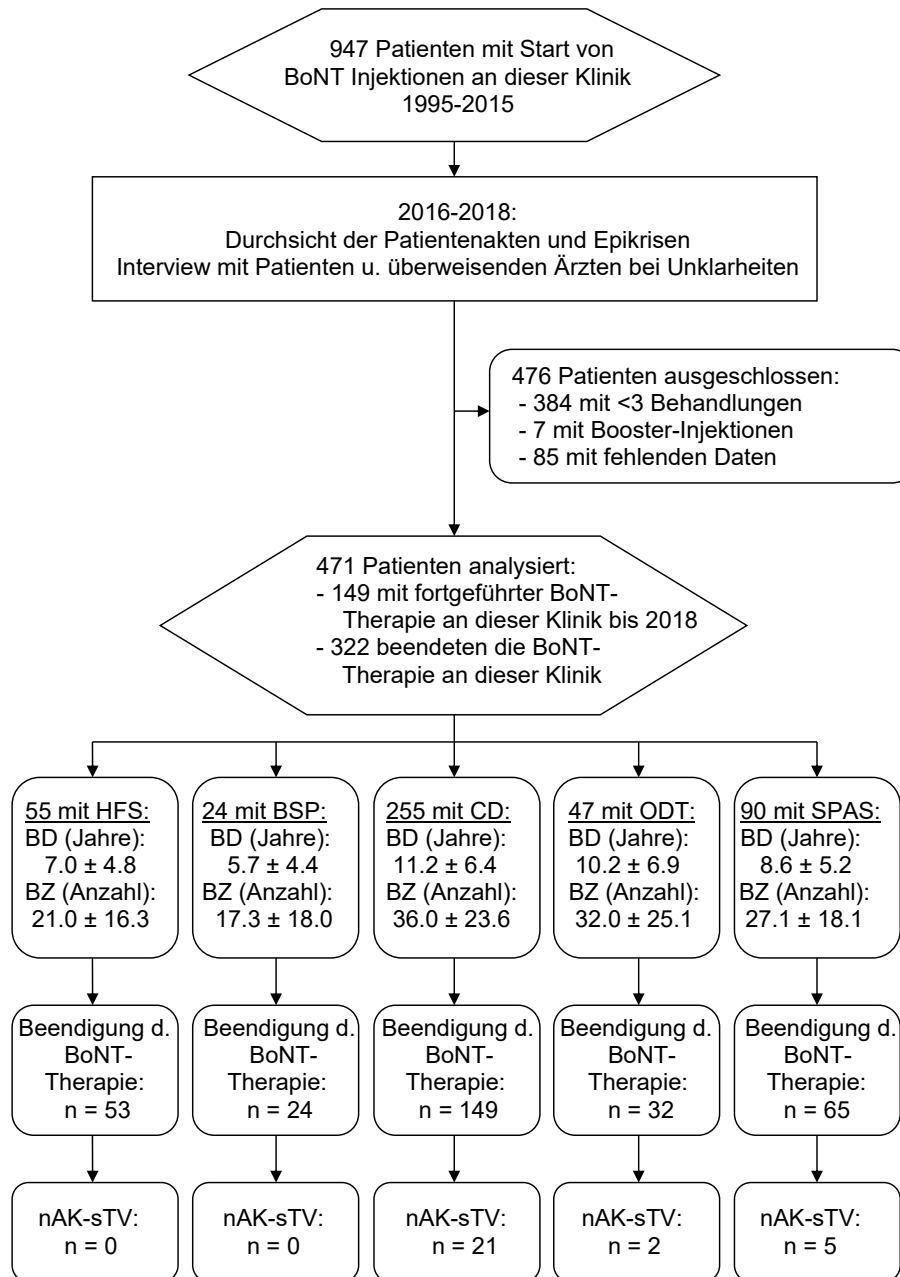
Aus der Analyse wurden Patienten aus den folgenden Gründen ausgeschlossen: Weniger als drei erfolgte BoNT-Behandlungen ($n = 384$), Gabe von Booster-Injektionen mit einem Intervall von weniger als drei Wochen zwischen zwei Injektionssitzungen ($n = 7$), unvollständige Dokumentation ($n = 85$). Bei der Analyse der Daten gesondert berücksichtigt (ggf. nur Teilanalyse von Daten) wurden Patienten mit Behandlung mit dem älteren Präparat des Ona-BoNT, da bei diesem nachweislich ein sechsfach erhöhtes Risiko für die Entstehung von neutralisierenden Antikörpern besteht [95] .

Da ein Präparatewechsel häufig die Folge eines bereits abnehmenden Effektes und somit nicht die eigentliche Ursache eines nAK-sTV ist, wurde anhand der ausführlichen Daten der Zeitpunkt identifiziert, an dem der Therapieeffekt erstmals abnahm, und dementsprechend das Patientenkollektiv in eine „Wechselgruppe“ bzw. „Nicht-Wechselgruppe“ unterteilt. Ein Präparatewechsel wurde somit nur dann als mögliche Ursache für ein nAK-sTV berücksichtigt, wenn er vor dem Zeitpunkt der ersten Effektabnahme stattfand.

Von den 471 in diese Studie eingeschlossenen Patienten waren zum Zeitpunkt der abschließenden Datenanalyse noch 149 in der neurologischen Ambulanz der Universitätsmedizin Rostock in Behandlung. Eine genauere Übersicht findet sich in Abbildung 10.

Abbildung 10

Studienflussdiagramm



BSP= Blepharospasmus; CD= Zervikale Dystonie; HFS= (hemifacial spasm) Hemispasmus facialis; nAK-sTV= Antikörpervermitteltes komplettes sekundäres therapieversagen; SPAS = Spastizität; ODT = Andere Dystonieformen (u.a. Meige-Syndrom, oromandibuläre Dystone etc.) TD = Behandlungsdauer; TC= Behandlungszyklen.

3.5 Botulinumtoxin

Bei den in dieser Studie eingesetzten Präparaten handelt es sich um AbobotulinumtoxinA (Abo-BoNT= Dysport®), OnabotulinumtoxinA (Ona-BoNT = Botox®), IncobotulinumtoxinA (Inco-BoNT = Xeomin®) und RimabotulinumtoxinB (Rima-BoNT = NeuroBloc®/Myobloc™).

Um eine interindividuelle Vergleichbarkeit zu gewährleisten, wurden in dieser Arbeit die Dosisangaben mittels etablierter Umrechnungsfaktoren vereinheitlicht (normierte Dosisseinheiten = nDE) [64, 142–144, 235]. Dabei wurde die Dosis von Abo-BoNT mit dem Faktor 1 und von Ona-BoNT bzw. Inco-BoNT mit dem Faktor 2 multipliziert. Die Dosis von Rima-BoNT wurde durch den Faktor 25 dividiert.

3.6 Antikörpernachweis/ nAK-sTV

Insgesamt wurden bei 173 Patienten Blutproben zur Bestimmung des nAK-Titers mittels MHDA entnommen. Dabei wurde bei 93 aufgrund eines abnehmenden Therapieeffektes eine Antikörperbildung vermutet, bei weiteren 80 Patienten erfolgte die Entnahme ohne Verdacht auf Wirkungsverlust im Rahmen prospektiver Studien [233, 234]. Es wurden dazu 10 ml Vollblut entnommen, das Serum zentrifugiert, separiert und bei – 220 Grad Celsius bis zu 12 Monate aufbewahrt. Der nAK-Titer wurde mittels des hochsensitiven MHDA bestimmt (siehe 1.1.6.2). Dabei gilt ein Titer von 0,3 bis 1 mU/ ml als niedrig, ein Titer von >1 bis 5 mU/ ml als moderat und ein Titer über 5 mU/ ml als hoch. Bei einem Titer von unter 0,3 mU/ ml wurde davon ausgegangen, dass keine nAK vorhanden sind.

Von einem nAK-sTV wurde in dieser Arbeit ausgegangen, wenn eine ausreichende Wirksamkeit der Behandlung bei mindestens einem Behandlungszyklus nachgewiesen wurde und im Anschluss über mindestens weitere zwei Behandlungszeitpunkte keine BoNT-Wirkung, weder eine therapeutische noch eine unerwünschte, ersichtlich wurde. Dies musste sowohl vom Patienten als auch vom Behandler so bewertet worden sein. Andere Ursachen für ein sekundäres Therapieversagen abseits der Antikörperbildung mussten ausgeschlossen werden. Des Weiteren musste mindestens eines der folgenden Kriterien erfüllt sein:

- 1) Positiver nAK-Titer im MHDA-Test
- 2) Fehlende BoNT-Wirkung im Frontalis- oder Extensor-digitorum-brevis-Test
- 3) Ausbleibender Effekt trotz Dosissteigerung von BoNT um mehr als 50 % gegenüber der zuvor über mehr als sechs Monate konstanten Dosierung mit konstant gutem Ergebnis vier bis sechs Wochen nach der letzten Behandlung.

Die sich bei einem nAK-sTV anschließenden Therapiestrategien wurden in dieser Arbeit ebenfalls analysiert.

3.7 Statistische Analyseverfahren

Die in dieser Arbeit verwendeten statistischen Tests werden im Folgenden dargelegt:

1) Deskriptive Statistik / ordinalskalierte Variablen:

Es wurden der Median sowie das untere (25. Perzentil) und obere (75. Perzentil) Quartil berechnet. Gruppenvergleiche von ordinalskalierten Daten wurden mit dem Mann-Whitney-*U*-Test durchgeführt.

2) Normalverteilte Variablen:

Es wurden der Mittelwert und die Standardabweichung angegeben. Gruppenvergleiche wurden mit dem *t*-Test für unabhängige Stichproben durchgeführt [236].

3) Kategoriale Daten:

Für kategoriale Daten wurden der Chi-Quadrat-Test bzw. der exakte Fisher-Test angewendet.

Der Chi-Quadrat Test prüft, ob die Stichprobenvarianz mit der Populationsvarianz übereinstimmt oder ob es Varianzunterschiede, unabhängig von der Richtung der Unterschiede, gibt [236].

Ein Vorteil des exakten Fisher-Tests ist, dass dieser keine Voraussetzungen an den Stichprobenumfang stellt und somit auch bei geringem Stichprobenumfang valide Daten erzeugt [238].

4) Bonferroni-Korrektur:

Dies ist ein statistisches Verfahren, um der Alphafehlerkumulierung (=Irrtumswahrscheinlichkeit falsch positiv = Fehler 1. Art) entgegenzuwirken [239].

Da in dieser Studie acht im Vorhinein festgelegte Variablen als potentielle Risikofaktoren für ein nAK-sTV analysiert werden sollten (Behandlungsdauer, Anzahl der Behandlungszyklen, Dosis pro Behandlung, kumulative Gesamtdosis, maximale Anzahl der injizierten Muskeln pro Sitzung, Muskelgruppe, Präparat bei jeglicher Anwendung, Präparat bei ausschließlicher Anwendung) wurde die Bonferroni-Korrektur angewendet ($p < 0,05/8$), sodass das Signifikanzniveau für univariate Analysen auf $p \leq 0,006$ festgelegt wurde.

5) „Receiver-Operating“-Charakteristik (ROC):

Für signifikante Skalenvariablen wurden ROC-Kurven berechnet, um die optimalen Grenzwerte (unter Benutzung des Youden-Index) zur Unterscheidung zwischen Patienten mit einem nAK-sTV und denen ohne nAK-sTV zu ermitteln.

6) Multivariate Regressionsanalyse:

Zur Ermittlung unabhängiger Risikofaktoren eines nAK-sTV wurde ein multivariates logistisches Regressionsmodell, das für mögliche Kovariaten kontrolliert, eingesetzt (schrittweiser Einschluss der in der univariaten Analyse signifikanten kategorialen Variablen).

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit dem Statistikprogramm SPSS (IBM, Armonk, NY), Version 22.0.

4 Ergebnisse

4.1 Deskriptive Statistik

Von 947 Patienten, die im Zeitraum von 1995 bis 2015 an der Klinik und Poliklinik für Neurologie der Universitätsklinik Rostock eine Behandlung begonnen haben, wurden 471 Patienten in diese Studie gemäß den Ein- und Ausschlusskriterien aufgenommen (siehe Abbildung 10 im Abschnitt 3.4). Erwähnenswert ist, dass bei keinem der aus der Analyse ausgeschlossenen Patienten ein sekundäres Therapieversagen vorlag. Die mittlere Behandlungsdauer der eingeschlossenen Patienten betrug $9,8 \pm 6,2$ Jahre (Spannweite 0,5 - 30 Jahre). Die mittlere Anzahl der Behandlungszyklen betrug $31,2 \pm 22,5$ (Spannweite 3-112). Die Behandlungstreue war dabei hoch (70,6 % ohne patientenseitigen Behandlungsabbruch). Ein nAK-sTV zeigte sich bei 28 der 471 Patienten (5,9 %). Davon wurden 24 mittels MHDA (niedriger Titer $n = 1$, moderater Titer $n = 18$, hoher Titer $n = 5$) und die restlichen vier mittels klinischer und elektrophysiologischer Kriterien belegt. Das nAK-sTV trat frühestens nach zwei Behandlungen auf. Dabei handelt es sich um zwei Patienten mit CD (ein Patient mit ausschließlicher Abo-BoNT-Therapie und ein Patient mit Ona-BoNT-, gefolgt von Abo-BoNT-Therapie). Die größte Latenz bis zum Auftreten eines nAK-sTV zeigte sich bei einem Patienten nach 103 Behandlungen.

Keiner der 49 Patienten, welche ausschließlich mit Inco-BoNT (Xeomin®) behandelt wurden (über 8.4 ± 4.2 [1-14] Behandlungsjahre), entwickelte ein nAK-sTV, wohingegen das nAK-sTV in einigen ausschließlich mit Abo-BoNT (Dysport®) bzw. ausschließlich mit Ona-BoNT (Botox®) therapierten Patienten auftrat.

Von den Patienten, bei denen es zu einem nAK-sTV kam, wurden 11 (39 %, 10 mit CD, 1 mit segmentaler Dystonie) anschließend erfolgreich mit einer tiefen Hirnstimulation behandelt. Die übrigen Patienten (12 mit CD, 4 mit HFS, 1 mit Tetraspastik) wurden anschließend nur noch mit oraler Medikation und/oder Physiotherapie behandelt.

Weitere demographische und behandlungsabhängige Daten sowie die Anzahl der nAK-positiven Patienten sind in Tabelle 7 ersichtlich.

Bei den Patienten, die bis zum Ende des Jahres 2018 die BoNT-Therapie in der neurologischen Ambulanz der Universitätsmedizin Rostock aus patientenseitigen Gründen abgebrochen haben ($n = 139$), zeigte sich die folgende Verteilung: primäres Therapieversagen ($n = 15$), nAK-sTV ($n = 28$), Wunsch des Patienten bzw. Unzufriedenheit trotz ärztlich dokumentierter BoNT-Wirkung ($n = 30$), intolerable Nebenwirkungen ($n = 25$), operative Therapie ($n = 1$), unbekannte Ursache ($n = 40$).

Tabelle 7

Behandlungsabhängige Daten und angegebene Gründe für ein Therapieversagen in den diagnostischen Subgruppen

	HFS	BSP	CD	ODT	SPAS
Anzahl (männlich/weiblich)	55 (39/16)	24 (16/8)	255 (169/86)	47 (33/14)	90 (43/47)
Alter bei Beginn der BoNT Therapie, Jahre, Mittelwert \pm SD	59.4 \pm 12.3	58.6 \pm 12.9	48.7 \pm 12.9	53.4 \pm 16.3	50.2 \pm 17.3
Behandlungsdauer, Jahre, Mittelwert \pm SD	7.0 \pm 4.8	5.7 \pm 4.4	11.2 \pm 6.4	10.2 \pm 6.9	8.6 \pm 5.2
Mediane Einzeldosis aller BoNT Präparate, nDE (Interquartilsabstand)	56 (44-67)	102 (80-126)	513 (400-642)	369 (140-600)	769 (570-1000)
Mediane Einzeldosis des Abo-BoNT, nDE (Interquartilsabstand)	57 (44-67)	102 (80-126)	650 (463-727)	396 (148-633)	1000 (683-1000)
Mediane Einzeldosis des Inco-BoNT, nDE (Interquartilsabstand)	63 (44-84)	55 (13-153)	400 (368-586)	416 (168-562)	707 (599-992)
Mediane Einzeldosis des Ona-BoNT, nDE (Interquartilsabstand)	51 (40-74)	86 (22-105)	400 (400-540)	170 (65-350)	631 (460-807)
Mediane Einzeldosis des Rima-BoNT, nDE (Interquartilsabstand)	38 (38-38)	-	446 (400-540)	193 (193-193)	-
Jemals mit Abo-BoNT behandelte Patienten, Anzahl (Prozent)	54 (98)	22 (92)	186 (74)	43 (91)	59 (66)
Jemals mit Inco-BoNT behandelte Patienten, Anzahl (Prozent)	6 (11)	4 (17)	131 (51)	12 (26)	47 (52)
Jemals mit Ona-BoNT behandelte Patienten, Anzahl (Prozent)	5 (9)	4 (17)	55 (22)	12 (26)	44 (49)
Jemals mit Rima-BoNT behandelte Patienten, Anzahl (Prozent)	1 (2)	0	18 (7)	1 (2)	0
Mit unterschiedlichen BoNT Präparaten behandelte Patienten, Anzahl (Prozent)	6 (11)	5 (21)	106 (42)	18 (38)	49 (54)
Patienten mit nachgewiesener neutralisierender AK Bildung, Anzahl (Prozent) ^a	1 (2) ^b	0 ^b	56 (22) ^c	5 (11) ^d	12 (13) ^e
Primäres Therapieversagen, Anzahl (Prozent)	0	1 (4.1)	7 (2.7)	3 (6.4)	4 (4.4)
Antikörpervermitteltes komplettes sekundäres Therapieversagen, Anzahl (Prozent)	0	0	21 (8.2)	2 (4.3)	5 (5.6)
Unzureichender Therapieeffekt, Anzahl (Prozent)	5 (9.1)	5 (20.8)	11 (4.3)	3 (6.4)	6 (6.7)
Intolerable Nebeneffekte, Anzahl (Prozent)	6 (10.9)	5 (20.8)	11 (4.3)	2 (4.3)	1 (1.1)
Progression der Erkrankung, Anzahl (Prozent)	0	0	0	1 (2.1)	0

^a: mittels hoch sensitivem MHDA nachgewiesene neutralisierende Antikörper

^b: Ein Patient wurde dabei auf neutralisierende Antikörper getestet

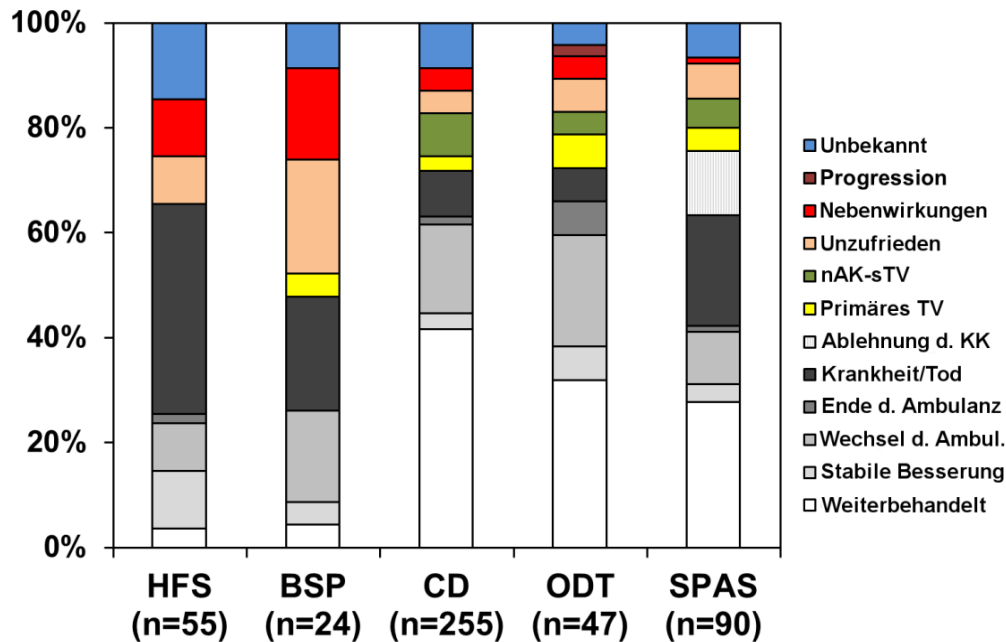
^c: 124 Patienten wurden dabei auf neutralisierende Antikörper getestet

^d: 6 Patienten wurden dabei auf neutralisierende Antikörper getestet

^e: 41 Patienten wurden dabei auf neutralisierende Antikörper getestet

Abbildung 11

Gründe für einen Behandlungsabbruch, sortiert nach Diagnose



Anmerkung: Daten von 471 Patienten mit einer mittleren BoNT-Behandlungsdauer von $9,8 \pm 6,2$ Jahren (Spanne: 0,5-30 Jahre) und einer mittleren Anzahl der Behandlungszyklen von $31,2 \pm 22,5$ (Spanne: 3-112).

Die grau dargestellten Anteile zeigen Patienten mit anhaltender Therapietreue, einschließlich derer, bei denen die Therapie aufgrund schwerer Krankheit oder Tod oder aus administrativen Gründen beendet wurde, bzw. die in andere Zentren gewechselt sind. Die Therapietreue der Patienten war dabei in allen Gruppen hoch (kombinierte Therapietreue 70,6 %).

Farblich dargestellt sind Patienten, die bis zum Ende des Jahres 2018 die Therapie mit BoNT an der neurologischen Ambulanz der Universitätsmedizin Rostock aufgrund eines primären oder sekundären Therapieversagens aus verschiedenen Gründen abgebrochen haben. Dabei zeigt sich über alle Untergruppen die folgende Verteilung: Primäres Therapieversagen (10,8 %), NAB-cSTF (20,1 %), Patientenwunsch/ kein dokumentiertes zufriedenstellendes Ergebnis (21,6 %), ausgeprägte Nebenwirkungen (18 %), Krankheitsverschlechterung mit Notwendigkeit einer operativen Therapie (0,7 %), unbekannte Ursache (28,8 %).

4.2 Vergleich der diagnostischen und therapeutischen Subgruppen

Ein Vergleich der Diagnose-Subgruppen zeigte, dass ein *nAK-sTV* häufiger bei Patienten mit CD als bei Patienten mit HFS auftrat (Fisher-Test, $p = 0,039$, Abbildung 12A). Der Unterschied im Vergleich zu den anderen Subgruppen war nicht signifikant (jeweils $p > 0,05$).

Es zeigte sich ein statistischer Trend i.S.e. häufigeren Auftretens von *nAK* bei Patienten mit CD im Vergleich zu Patienten mit SPAS ($p = 0,085$, Abbildung 12C). Vergleiche der Gruppen HFS, BSP und ODT erfolgten wegen der bei diesen geringen Testhäufigkeit auf *nAK* nicht.

Des Weiteren zeigte sich ein Trend eines häufigeren *nAK-sTV* bei Patienten, die ausschließlich mit Abo-BoNT (Dysport®) therapiert wurden, im Vergleich zu den ausschließlich mit Inco-BoNT (Xeomin®) therapierten (Abbildung 12B).

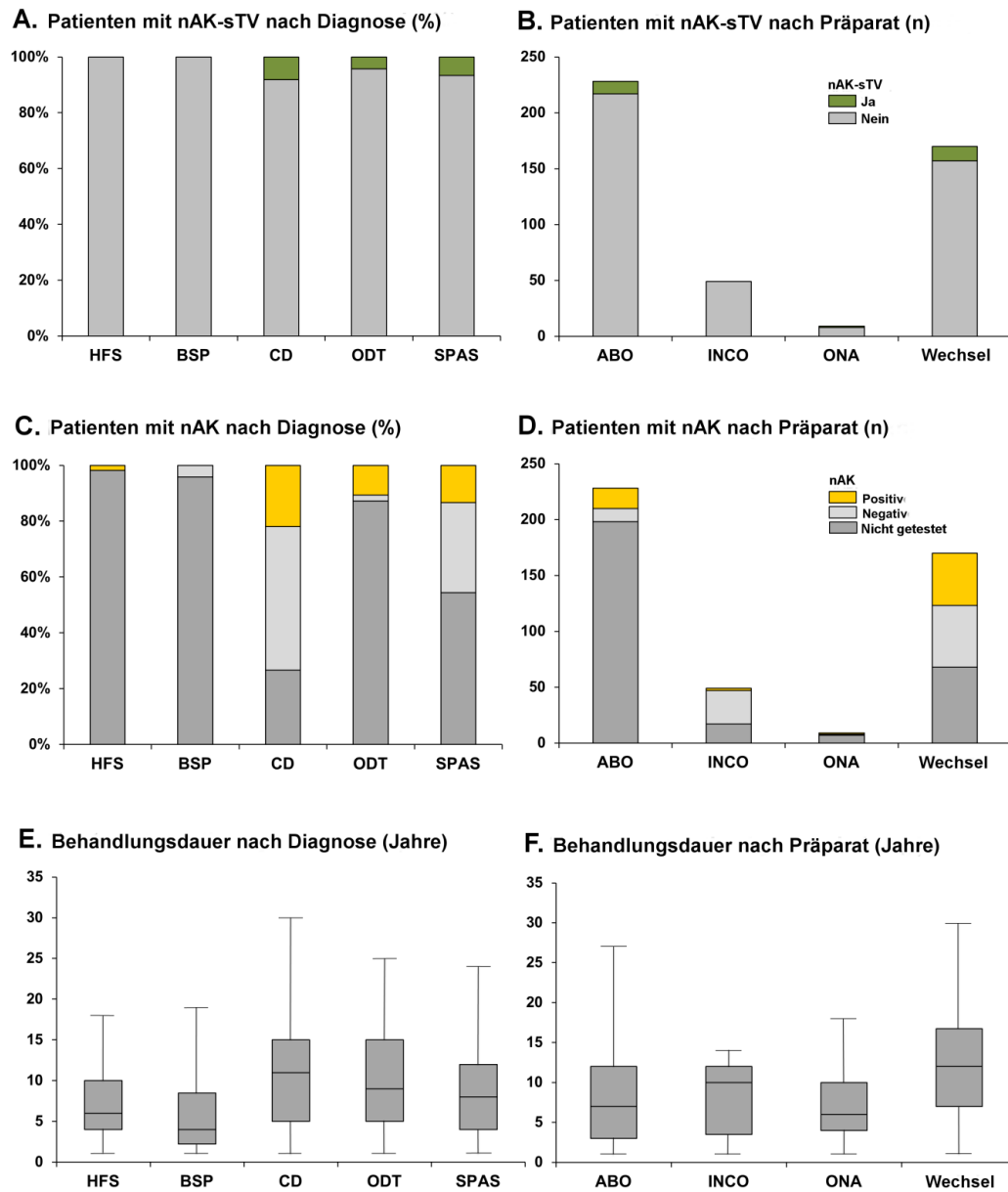
Zudem zeigte sich eine häufigere *nAK*-Bildung bei Patienten, bei denen zwischen verschiedenen BoNT-Präparaten gewechselt wurde, im Vergleich zu den ausschließlich mit Inco-BoNT (Xeomin®) behandelten ($p = 0,04$) (Abbildung 12D).

Des Weiteren zeigte sich ein statistischer Trend dahingehend, dass *nAK* häufiger bei Patienten nachgewiesen wurden, die mit Abo-BoNT (Dysport®) behandelt wurden, als bei solchen, die mit Inco-BoNT (Xeomin®) therapiert wurden ($p = 0,12$).

Der Vergleich der Patientengruppen, welche ausschließlich mit einem Präparat therapiert wurden, zeigte eine höhere *nAK*-Prävalenz bei ausschließlich mit Abo-BoNT (7,9 %) bzw. Ona-BoNT (11,1 %) behandelten im Vergleich zu ausschließlich mit Inco-BoNT (4,1 %).

Abbildung 12

Frequenz des nAK-sTV und Behandlungsdauer



Anmerkung: A) Patienten mit nAK-sTV (grün) sind am häufigsten in den Untergruppen der CD und SPAS zu finden. Kein Patient der Untergruppen HFS und BSP entwickelte ein nAK-sTV. B) Die absoluten Patientenzahlen mit einem nAK-sTV sind für die verschiedenen BoNT-Präparate angegeben. C) Patienten mit neutralisierenden Antikörpern (nAK) sind in den Untergruppen CD und SPAS am häufigsten. Ein Patient der Untergruppe HFS, jedoch kein Patient der Untergruppe BSP, entwickelte nAK. D) Die Patientenzahlen mit nAK sind für die verschiedenen BoNT-Präparate angegeben. E) Box-Plots, welche die Behandlungsdauer in den verschiedenen Diagnose- Untergruppen zeigen. Horizontale Balken geben den Median an, Kästchen den Interquartilbereich und Ausreißermarkierungen das Minimum und das Maximum. F) Box-Plots, welche die Behandlungsdauer für die verschiedenen BoNT-Präparate zeigen. Horizontale Balken geben den Median an, Kästchen den Interquartilbereich und Ausreißermarkierungen das Minimum und das Maximum.

4.3 Risikofaktoren für ein nAK-sTV

Wie Tabelle 8 und Abbildung 13 zeigen, waren die folgenden Parameter nicht mit einem erhöhten Risiko für das nAK-sTV verbunden: Geschlecht, Alter bei Beginn der BoNT-Therapie, der Therapiezeitraum, die Anzahl der Behandlungssitzungen, die kumulative BoNT-Dosis, die Anzahl der Behandler, die maximale Anzahl an injizierten Muskeln pro Sitzung, die Anzahl an Änderungen des Injektionsschemas, die Anzahl der Präparatewechsel oder bestimmte Sequenzen aufeinanderfolgender Präparate.

Hingegen stellten sich die folgenden Parameter als signifikante Risikofaktoren des nAK-sTV heraus: Die mittlere BoNT-Dosis pro Therapiesitzung (unabhängig vom verwendeten Präparat) und die mittlere Abo-BoNT-Dosis (Dysport®) pro Therapiesitzung.

Die ROC-Analyse (Youden-Index) ergab die folgenden optimalen Cut-off-Werte zur Unterscheidung von Patienten ohne und mit nAK-sTV:

1) Mittlere Einzeldosis von BoNT pro Behandlungssitzung > 575 nDE

(Area under the curve [AUC] = 0,76; $p < 0,001$, Sensitivität = 76 %, Spezifität = 66 %)

2) Mittlere Einzeldosis von Abo-BoNT (Dysport®) pro Behandlungssitzung > 720 nDE

(AUC = 0,73; $p < 0,001$; Sensitivität = 60 %, Spezifität = 75 %)

Es zeigte sich, dass ein nAK-sTV häufiger bei Patienten auftrat, die unter anderem, jedoch nicht ausschließlich mit Ona-BoNT (Botox®) behandelt wurden (von der Analyse ausgeschlossen wurden dabei diejenigen Patienten, die mit dem alten Präparat des Ona-BoNT behandelt wurden) (Tabelle 8), jedoch nicht bei Patienten die ausschließlich mit dem (neuen) Ona-BoNT therapiert wurden.

Ebenfalls trat das nAK-sTV häufiger bei Patienten auf, bei welchen die BoNT-Injektionen in die Nackenmuskulatur erfolgten, als bei denjenigen, bei denen nur andere Muskelpartien therapiert wurden ($p = 0,006$) (Tabelle 8).

Die multivariate Regressionsanalyse unter Einschluss dieser o.a. Risikofaktoren konnte letztendlich zeigen, dass die mittlere Einzeldosis von BoNT (jedwedes Präparat) pro Behandlungssitzung > 575 nDE ($p < 0,001$), die Behandlung jemals (Präparatewechsel, also nicht ausschließlich) mit Ona-BoNT (Botox®) ($p = 0,001$) und die Injektion der Nackenmuskulatur ($p = 0,009$) unabhängige Risikofaktoren für das nAK-sTV sind.

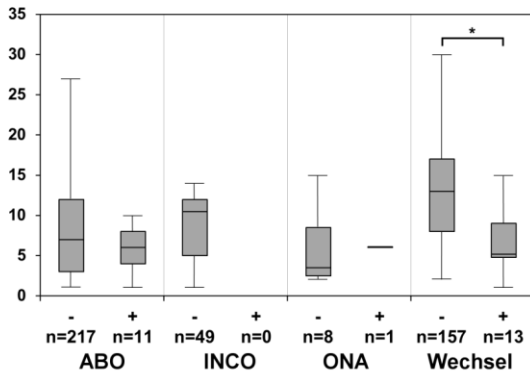
Auch bei Annahme des von einigen Experten favorisierten Umrechnungsfaktors von 2,5:1 (Abo:-Ona- bzw. Abo:-Inco-BoNT) anstatt des in dieser Arbeit verwendeten Umrechnungsfaktors 2:1 erwiesen sich die gleichen Parameter als signifikante Risikofaktoren

für das nAK-sTV in der univariaten Analyse. In diesem Fall ergab die ROC-Analyse (Youden-Index) eine mittlere BoNT-Einzeldosis > 675 nDE als optimalen Cut-off-Wert (AUC: 0,74; $p < 0,001$; 68 %, 72 %). Die multivariate Regressionsanalyse konnte dabei ebenfalls eine mittlere BoNT-Dosis von mehr als 675 nDE pro Behandlungssitzung ($p < 0,001$), die Behandlung jemals mit Ona-BoNT (Botox®) ($p = 0,007$) und die Behandlung der Nackenmuskulatur ($p = 0,004$) als unabhängige Risikofaktoren für ein nAK-sTV detektieren. Ergänzend ist jedoch zu erwähnen, dass, unter der post-hoc Erkenntnis, dass Inco-BoNT zu keinem nAK-sTV führt, somit die oben benannte Einzeldosis als Risikofaktor nicht für die Monotherapie mit Xeomin® gilt.

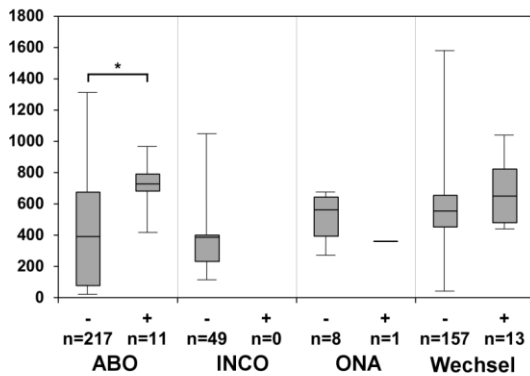
Abbildung 13

Vergleich von Patienten mit und ohne nAK-sTV

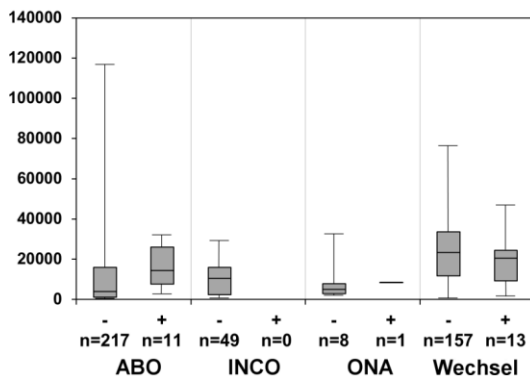
A. Behandlungsdauer (Jahre) und nAK-sTV je Präparat



B. Mittlere Einzeldosis (nDE) und nAK-sTV je Präparat



C. Kumulativedosis (nDE) und nAK-sTV je Präparat



Anmerkung: Diagramme, die den Vergleich zwischen Patienten mit und ohne nAK-sTV in Bezug zum Präparat zeigen. A) Vergleich der Behandlungsdauer (* t-Test, $p < 0,001$). Horizontale Balken geben den Median an, Kästchen den Interquartilbereich und Ausreißermarkierungen das Minimum und das Maximum. B) Vergleich der mittleren vereinheitlichten BoNT-Einzeldosis pro Behandlungszyklus in Bezug zum nAK-sTV (* Mann-Whitney-U-Test, $p = 0,001$). Horizontale Balken geben den Median an, Kästchen den Interquartilbereich; und Ausreißermarkierungen das Minimum und das Maximum. C) Vergleich der mittleren kumulativen vereinheitlichten BoNT-Dosis in Bezug zu zum nAK-sTV. Horizontale Balken geben den Median an, Kästchen den Interquartilbereich und Ausreißermarkierungen das Minimum und das Maximum.

Tabelle 8

Vergleich der Patienten mit und ohne nAK-sTV

	Kein nAK-sTV	nAK-sTV	p-Wert
Frauen/Männer, Anzahl	285/158	15/13	0.25 ^a
Alter bei Beginn der BoNT Therapie, Jahre, Mittelwert \pm SD	51.6 \pm 14.6	45.7 \pm 14.5	0.046 ^b
Behandlungsdauer, Jahre, Mittelwert \pm SD	10.0 \pm 6.3	6.5 \pm 3.3	<0.001^b
Anzahl an BoNT Behandlungen, Mittelwert \pm SD	31.5 \pm 22.7	26.2 \pm 19.8	0.19 ^b
Präparatwechsel, Anzahl (Interquartilsabstand)	0 (0-1)	1 (0-2)	0.14 ^c
Behandler, Anzahl (Interquartilsabstand)	2 (1-3)	2 (1-3)	0.45 ^c
Änderung des Injektionsschemas, Anzahl, Mittelwert \pm SD	4.9 \pm 5.7	5.7 \pm 5.1	0.45 ^b
Maximal injizierte Muskulatur, Anzahl, Mittelwert \pm SD	4.0 \pm 2.4	4.9 \pm 2.4	0.072 ^b
Patienten mit Behandlung der Gesichtsmuskulatur, Anzahl (Prozent)	111 (25)	2 (7)	0.031 ^a
Patienten mit Behandlung der Nackenmuskulatur, Anzahl (Prozent)	263 (59)	24 (86)	0.006^a
Patienten mit Behandlung der Armmuskulatur, Anzahl (Prozent)	79 (18)	6 (21)	0.63 ^a
Patienten mit Behandlung der Beinmuskulatur, Anzahl (Prozent)	16 (4)	0	0.31 ^a
Maximaler Unterschied der Effektivität pro Jahr (Interquartilsabstand)	1 (0-1)	2 (1-2)	<0.001 ^c
Patienten mit nachgewiesener neutralisierender AK Bildung, Anzahl (Prozent)^d	50 (11)	24 (86)	<0.001^a
Patienten mit nachgewiesener neutralisierender AK Bildung, Anzahl (Prozent)^{d, e}	48 (11)	21 (84)	<0.001^a
Mediane Einzeldosis aller BoNT Präparate, nDE (Interquartilsabstand)^e	470 (200-648)	724 (528-819)	<0.001^c
Mediane Einzeldosis des Abo-BoNT, nDE (Interquartilsabstand)^e	535 (137-721)	726 (600-917)	0.001^c
Mediane Einzeldosis des Inco-BoNT, nDE (Interquartilsabstand)^e	400 (368-556)	600 (490-782)	0.008 ^c
Mediane Einzeldosis des Ona-BoNT, nDE (Interquartilsabstand)^e	480 (285-651)	440 (400-725)	0.48 ^c
Mediane Einzeldosis des Rima-BoNT, nDE (Interquartilsabstand)^e	400 (380-547)	520 (520-520)	0.63 ^c

	Kein nAK-sTV	nAK-sTV	p-Wert
Mediane kumulative Dosis aller BoNT Präparate, nDE (Interquartilsabstand) ^e	10940 (2304-24200)	15600 (7760-26290)	0.087 ^c
Mediane kumulative Dosis des Abo-BoNT, nDE (Interquartilsabstand) ^e	6100 (1712-16725)	13300 (6715-23475)	0.013 ^c
Mediane kumulative Dosis des Inco-BoNT, nDE (Interquartilsabstand) ^e	8500 (2000-16120)	5360 (1980-11542)	0.35 ^c
Mediane kumulative Dosis des Ona-BoNT, nDE (Interquartilsabstand) ^e	4380 (1202-14360)	4600 (1625-10590)	0.94 ^c
Mediane kumulative Dosis des Rima-BoNT, nDE (Interquartilsabstand) ^e	1000 (500-3052)	1560 (1560-1560)	0.77 ^c
Jemals mit Abo-BoNT behandelte Patienten, Anzahl (Prozent) ^e	332 (77)	20 (80)	0.73 ^a
Jemals mit Inco-BoNT behandelte Patienten, Anzahl (Prozent) ^e	190 (44)	8 (32)	0.24 ^a
Jemals mit Ona-BoNT behandelte Patienten, Anzahl (Prozent) ^e	94 (22)	12 (48)	0.003^a
Jemals mit Rima-BoNT behandelte Patienten, Anzahl (Prozent) ^e	17 (4)	1 (4)	0.99 ^a
Ausschließlich mit Abo-BoNT behandelte Patienten, Anzahl (Prozent) ^e	216 (50)	4 (16)	0.001^a
Ausschließlich mit Inco-BoNT behandelte Patienten, Anzahl (Prozent) ^e	49 (11)	0	0.074 ^a
Ausschließlich mit Ona-BoNT behandelte Patienten, Anzahl (Prozent) ^e	8 (2)	1 (4)	0.45 ^a
Ausschließlich mit Rima-BoNT behandelte Patienten, Anzahl (Prozent) ^e	0	0	

Anmerkung:

a: Chi-Quadrat-Test (nach Bonferroni-Korrektur signifikante Werte in Fettdruck)

b: t-Test (nach Bonferroni-Korrektur signifikante Werte in Fettdruck)

c: Mann-Whitney-U-Test (nach Bonferroni-Korrektur signifikante Werte in Fettdruck)

d: Mit dem hoch-sensitiven MHDA nachgewiesene neutralisierende Antikörper

e: Ausgeschlossen wurden 15 Patienten, welche mit einem alten Ona-BoNT Präparat behandelt wurden (3 mit und 12

ohne nAK-sTV; Chi-Quadrat Test, $p = 0.019$)

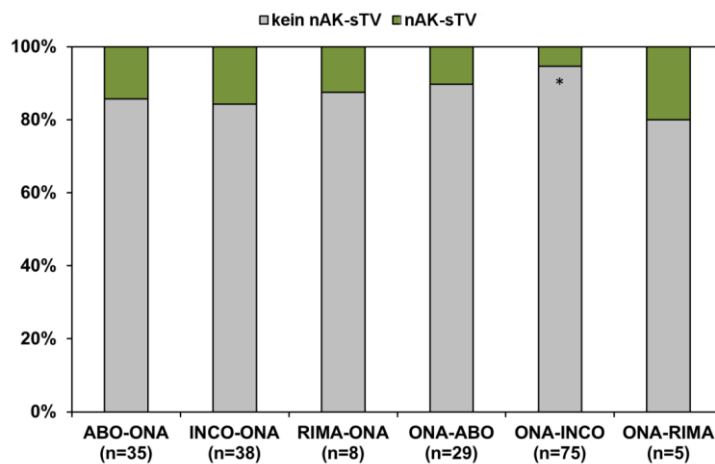
4.4 Analyse der Präparat-„Wechselgruppe“

Es zeigte sich, dass der Zusammenhang zwischen dem Nachweis von nAK und der Entwicklung eines nAK-sTV in der Patientengruppe schwächer war, bei der zwischen den Präparaten gewechselt wurde (Wechselgruppe: AK: 27,6 %; nAK-sTV: 7,6 %) als in der zusammengefassten Gruppe der Patienten, die nur mit jeweils einem BoNT-A-Präparat therapiert wurden (AK: 7,3 %; nAK-sTV: 4,5 %; $p < 0.001$). Daher wurden die Gruppe mit Präparatewechseln nochmals separat analysiert, um Faktoren zu detektieren, die ein nAK-sTV

bei nAK-Nachweis vorhersagen. Die univariate Analyse zeigte, dass bei diesen nur die Subgruppe, die jemals mit dem (neuen) Ona-BoNT therapiert wurde, ein signifikant erhöhtes Risiko für ein nAK-sTV (Fisher-Test: $p = 0,037$) hatte. 11 von 13 nAK-sTV Patienten in der Präparatewechsel-Gruppe wurden dabei jemals mit Ona-BoNT (Botox®) therapiert. Der Wechsel von Ona-BoNT zu Inco-BoNT (Xeomin®) war jedoch mit einem verringerten Risiko für ein nAK-sTV assoziiert (Odds Ratio: 0,121; 95%iges Konfidenzintervall; 0,03-0,47; Fisher Test: $p = 0,001$), während sich bei keinem anderen Präparatewechsel von oder zu Ona-BoNT ein gegenüber der Gesamtgruppe abweichendes Risiko für ein nAK-sTV (jeweils $p > 0,05$, Abbildung 14) zeigte.

Abbildung 14

Einfluss des Präparatewechsels auf die Entwicklung eines nAK-sTV



Anmerkung: Das Diagramm zeigt die Frequenz des Auftretens eines nAK-sTV bei Patienten, bei denen zwischen den BoNT-Präparaten gewechselt wurde, in Bezug auf bestimmte Sequenzabfolgen mit Ona-BoNT (einschließlich der Sequenzabfolgen, bei welcher eine Zwischenbehandlung mit einem oder mehreren anderen BoNT-Präparaten stattgefunden hat). Die Sequenz Ona-BoNT zu Inco-BoNT war mit einem geringeren Risiko für ein nAK-sTV assoziiert (Chi-Quadrat Test, $p = 0,001$). Keine andere Sequenz war spezifisch mit verändertem Risiko für ein nAK-sTV assoziiert (jeweils $p > 0,05$).*

5 Diskussion

Die intramuskuläre Injektionsbehandlung mit BoNT-A-Präparaten ist derzeit die Therapie der Wahl bei Erkrankungen mit fokaler Muskelhyperaktivität wie der Spastik und Dystonie. Die BoNT-Injektion muss dabei regelmäßig alle 10 bis 16 Wochen wiederholt werden [240]. Bei einem Teil der Patienten kommt es zu einem bereits zu Beginn der Behandlung auftretenden (primären) oder erst im Verlauf der Behandlung entstehenden (sekundären) Therapieversagen. Eine wesentliche Ursache des sekundären Therapieversagens ist die Bildung von nAK gegen das Toxin und seine Komplexproteine [241, 242]. Auch wenn ein nachweislich vorhandener Antikörpertiter nicht immer zu einem Verlust der klinischen Wirksamkeit des BoNT führen muss [96], kann dieser im Falle der Neutralisation der biologischen Aktivität des BoNT zu einem partiellen oder einem kompletten nAK-sTV führen [185, 241]. In früheren Studien wurde die Prävalenz des sTV mit 11,9 bis 14,6 % nach Langzeittherapie mit BoNT-A-Präparaten in verschiedenen Indikationen für die intramuskuläre Injektion angegeben. Die Bildung von nAK konnte mittels hochempfindlichem MHDA nur bei etwa 50 % der Patienten als Ursache des vollständigen sTV nachgewiesen werden [163, 233, 237]. So scheint die Bildung von nAK nur eine von mehreren Ursachen für ein sTV zu sein. In manchen Fällen nimmt der nAK-Titer bei fortlaufender BoNT-Therapie sogar ab [153]. Daher ist die klinische Relevanz des nAK-Titers bei einer unselektierten Patientenpopulation unklar.

Obwohl das Gesamtrisiko für ein nAK-sTV im Vergleich zu dem Patientenanteil mit anhaltenden, mindestens zufriedenstellenden Therapieeffekten eher gering ist, ist dies dennoch ein relevanter Aspekt, der eine wissenschaftliche Untersuchung rechtfertigt, um eine effizientere BoNT-Anwendung zu gewährleisten.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Häufigkeit und den Risikofaktoren eines nAK-sTV und soll zur weiteren Aufklärung und Verbesserung der klinischen Anwendung beitragen. Dazu erfolgte in einer monozentrischen retrospektiven Kohortenstudie die statistische Auswertung von Langzeitdaten zur Inzidenz des kompletten nAK-sTV bei Patienten mit HFS, BSP, CD, ODT sowie SPAS, welche regelmäßig über bis zu 30 Jahre BoNT-Injektionen erhalten haben.

Es konnten insgesamt 471 Patienten entsprechend der strengen Ein- und Ausschlusskriterien in die Studie aufgenommen werden. Bei 173 Patienten wurde mindestens eine Blutprobe zur Bestimmung des nAK-Titers im MHDA entnommen. Dabei war bei 93 Patienten eine nAK-Bildung aufgrund eines nachlassenden Therapieeffektes vermutet worden, während bei weiteren 80 Patienten die Entnahme unabhängig vom Therapieeffekt im Rahmen prospektiver

Studien erfolgte [233, 234]. Ein nAK-sTV konnte in unserer Kohorte bei 28 (5,9 %) Patienten nachgewiesen werden. Die Patienten mit nAK-sTV wurden im Anschluss entweder mit tiefer Hirnstimulation (39%), oraler Medikation und/oder Physiotherapie weiter behandelt. Zur weiteren Beurteilung und statistischen Auswertung der Risikofaktoren eines nAK-sTV erfolgte eine Einteilung der Patienten in Subgruppen.

Zunächst wurde die nAK-Bildung im Bezug zur zugrundeliegenden **Behandlungsdiagnose** untersucht. Die Antikörperprävalenz in dieser Studie deckt sich dabei mit den bereits publizierten Daten, insbesondere mit der Studie von Albrecht et al. (2019). In dieser wurde bei 596 Patienten eine Antikörpertestung durchgeführt. Die Prävalenz von nAK in der Subgruppe mit CD war bei Albrecht et al. (2019) mit 16 % niedriger im Vergleich zu 22 % in unserer Kohorte. Eine mögliche Erklärung dafür ist der längere Behandlungszeitraum unserer Kohorte (11,2 vs. 5,6 Jahre). Die Raten der nAK-positiven Patienten in den Gruppen BSP (0% vs. 6 %) sowie ODT (11 % vs. 17 %) waren hingegen in unserer Kohorte geringer. Die Ursache dafür ist sehr wahrscheinlich die geringe Zahl der nAK-Testungen bei diesen Patientengruppen in unserer Studie.

Insgesamt bestätigt sich die höhere Rate von nAK bei CD-, ODT- und SPAS-Patienten im Vergleich zu HFS- und BSP-Erkrankten, wie sie bereits in früheren Arbeiten gefunden wurde [73, 163]. Unsere Daten bestätigen insbesondere die höhere Rate der nAK-Bildung bei Patienten mit CD im Vergleich zu Patienten mit SPAS [95, 145, 243].

Interessanterweise konnte ein positiver nAK-Titer bei einem Patienten mit HFS nachgewiesen werden. Dies war in früheren Studien nicht der Fall, was mit den niedrigen BoNT-Dosen in dieser Indikation erklärbar ist.

Die Analyse des Zusammenhangs zwischen einer nAK-Bildung und dem verwendeten **BoNT-Präparat** zeigte, dass nAK im Trend häufiger bei Patienten nachgewiesen wurden, die mit Abo-BoNT (Dysport®) behandelt wurden, als bei solchen, die mit Inco-BoNT (Xeomin®) therapiert wurden. Bereits in früheren Studien ist dies als relevanter Faktor beschrieben worden [95, 163, 165, 244].

Dabei dürften vor allem komplex-bildende BoNT-assozierte Proteine, z.B. das Hn33, eine entscheidende Rolle in der Immunogenität spielen [59]. Das Präparat Inco-BoNT (Xeomin®) hat die Besonderheit, dass es frei von komplex-bildenden Proteinen ist. Somit scheint es selbst in höherer Dosierung ein sehr geringes Potential zur nAK-Bildung aufzuweisen [59, 245, 246]. In einer Langzeitstudie von Hefter et al. (2020) wurde dies bestätigt. Dort wurde bei 59 ausschließlich mit Inco-BoNT therapierten Patienten (Mono-Gruppe) sowie bei 32

Patienten, bei welchen nach mindestens 14 Sitzungen von einem anderen BoNT-A-Präparat auf Inco-BoNT gewechselt wurde (Wechselgruppe), ein MHDA durchgeführt. Dabei konnten in der Monogruppe keine nAK nachgewiesen werden. In der Wechselgruppe wurde bei zwei Patienten mit CD ein positiver nAK-Titer nachgewiesen. In diesen Fällen ist die nAK-Bildung vor Umstellung auf Inco-BoNT (Xeomin®) als wahrscheinlichste Ursache beschrieben worden [247]. Ebenso bestätigte die TOWER-Studie von Wissel et al. (2017) diese Kernaussage. Dort wurden die Sicherheit und Effektivität von Injektionen mit Xeomin® bei 155 Patienten mit Spastizität der Extremitäten in Hochdosisindikationen bis zu 800 U pro Injektionssitzung untersucht. Bei keinem Patienten konnte dabei ein nAK-sTV im MHDA nachgewiesen werden. Alle Patienten sprachen im gesamten Behandlungsverlauf klinisch auf die Therapie an [248]. Interessanterweise wurden sogar fallende nAK-Titer unter Inco-BoNT (Xeomin®) bei Patienten beobachtet, die zuvor ein nAK-sTV unter Abo-BoNT (Dysport®) oder Ona-BoNT (Botox®) entwickelt haben [141].

Der Vergleich der Patientengruppen, welche *ausschließlich mit einem Präparat therapiert* wurden, zeigte eine höhere nAK-Prävalenz bei ausschließlich mit Abo-BoNT (7,9 %) bzw. Ona-BoNT (11,1 %) behandelten im Vergleich zu ausschließlich mit Inco-BoNT (4,1 %) therapierten Patienten und entspricht somit der aktuellen Studienlage [163].

Im Gegensatz zu früheren Studien sind in dieser Arbeit zwei Patienten mit nAK detektiert worden, die ausschließlich mit Inco-BoNT therapiert wurden. Dies kann möglicherweise durch den längeren Behandlungszeitraum in unserer Kohorte erklärt werden. Der erste Fall war eine 57-jährige Frau mit einem transienten niedrigen Titer nach 3-jähriger Inco-BoNT-Therapie einer CD (mittlere Einzeldosis: 102 DU). Der zweite Fall war ein 47-jähriger Mann mit einem transienten moderaten Titer nach 3,5-jähriger Inco-BoNT-Therapie einer CD (mittlere Einzeldosis: 100 DU). Bei keinem der beiden Patienten war ein nachlassender Effekt zu verzeichnen, und beide wurden erfolgreich weiter mit Inco-BoNT über mehr als neun Jahre therapiert. Daher kann spekuliert werden, dass in diesen Fällen eventuell eine durch Nahrungsmittelaufnahme verursachte BoNT-Antikörperbildung bestand. Dies wurde bereits in einigen Fällen beschrieben [244]. Außerdem lassen sich auch Mess- bzw. Kalibrierfehler des standardisierten, hochempfindlichen und aufwändigen MHDA nicht völlig ausschließen.

Ein weiterer Risikofaktor für die nAK-Bildung scheint nach aktueller Datenlage ein *Wechsel des BoNT-Präparates* zu sein [163]. Auch dieser Aspekt wurde in der vorliegenden Arbeit analysiert. Dabei muss jedoch zwischen dem Präparat-Wechsel als Ursache einer

Antikörperbildung und dem Präparat-Wechsel als Konsequenz verminderter Effektivität unterschieden werden. Ein Wechsel des Präparates kommt oft erst dann zum Einsatz, wenn bereits ein verringerter Behandlungseffekt sichtbar wird und ist, in diesen Fällen, somit nicht als Ursache für eine nAK-Entwicklung anzusehen. Da in dieser Arbeit der genaue Zeitpunkt dokumentiert und erarbeitet wurde, in welcher der Therapieeffekt (ggf. vor einem Präparatewechsel) anfang nachzulassen, konnte die untersuchte Kohorte dementsprechend valide in eine „Wechsel“- und eine „Nicht-Wechsel“-Gruppe unterteilt werden. Da zudem in dem untersuchten Patientenkollektiv alle möglichen Sequenzfolgen verschiedener BoNT-Präparate mindestens einmalig bei Patienten mit einem nAK-sTV auftraten, konnte auch dieser Faktor untersucht werden.

In früheren Fallberichten konnte bereits ein nAK-sTV bei einem Wechsel von Abo- zu Inco-BoNT Präparaten und umgekehrt beschrieben werden [249–251].

In der hier untersuchten Kohorte konnte nachgewiesen werden, dass ein Präparatewechsel zwischen Ona-BoNT (Botox®) und anderen BoNT-Präparaten (mit Ausnahme des Wechsels von Ona- zu Inco-BoNT) ein unabhängiger Risikofaktor für die Entwicklung eines nAK-sTV ist. Diese Entdeckung wurde bisher noch nicht berichtet und verdient eine genauere Betrachtung in künftigen Studien.

Des Weiteren zeigte sich, dass eine nAK-Bildung häufiger bei Patienten zu finden ist, bei welchen zwischen verschiedenen BoNT-Präparaten gewechselt wurde, im Vergleich zu Patienten, die ausschließlich mit Inco-BoNT (Xeomin®) behandelt wurden.

In dem untersuchten Patientenkollektiv fanden sich zwei Patienten mit nAK-sTV, bei welchen bereits nach zwei Abo-BoNT-Injektionen ein Verlust des Effektes auftrat. Dies wurde in ähnlicher Weise bereits früher bei Patienten mit CD unter Therapie mit Abo-BoNT berichtet [252]. Während einer unserer Patienten initial eine Dosis von 120 DU Ona-BoNT, gefolgt von zwei Sitzungen mit jeweils Abo-BoNT > 575 DU erhalten hat, erhielt der zweite Patient lediglich zwei Sitzungen mit jeweils einer Abo-BoNT Dosis > 575 DU.

Somit ist ein weiterer bedeutsamer Aspekt der Zusammenhang zwischen der injizierten **Dosis** und der Entwicklung eines nAK-sTV. Bereits in früheren Studien konnte eine geringere Immunogenität bei einer Niedrigdosierung von Ona-BoNT < 287 DU und Abo-BoNT < 575 DU nachgewiesen werden. Übereinstimmend mit unseren Befunden bestand ein höheres Risiko der Entwicklung eines nAK-sTV bei der höheren Dosierung [249, 253]. Dies verhält sich nach Studienlage bei Inco-BoNT (Xeomin®) anders, insofern, dass selbst bei Vorbehandlung mit anderen BoNT-Präparaten, zumindest bei einer kurzen Behandlungsdauer

von bis zu drei Jahren hohe Dosen von Inco-BoNT zu keinem erhöhten Risiko für ein nAK-sTV führen [141, 248]. In dieser Arbeit zeigt sich eine mittlere BoNT-Einzeldosis > 575 nDE (jedwedes BoNT-Präparat außer Inco-BoNT) als stärkster Risikofaktor für die Entwicklung eines nAK-sTV - dies deckt sich mit den Ergebnissen früherer Studien. Auch die in früheren Studien beschriebene geringere Antigenität bei hochdosierter Anwendung von Inco-BoNT (Xeomin®) stimmt mit den Ergebnissen dieser Studie überein [59, 245, 246].

Betrachtet man den Zusammenhang der *Reihenfolge* des Einsatzes verschiedener Präparate bei demselben Patienten, so lassen die in unserer Kohorte erhobenen Daten vermuten, dass eine hochdosierte Inco-BoNT-Therapie gefolgt von einer Ona-BoNT-Therapie eventuell mit einer erhöhten Wahrscheinlichkeit eines nAK-sTV assoziiert sein könnte.

Ein weiterer in dieser Arbeit untersuchter Aspekt ist der Zusammenhang zwischen der Entstehung eines nAK-sTV und der Injektion in verschiedenen *Körperpartien*. Diesbezüglich ist bisher nur sehr wenig über eine unterschiedliche Immunantwort bekannt. In Rinderkälbern und bei Haus-Schweinen wurde eine Abhängigkeit vom Injektionsort, mit einer starken Immunantwort nach der Injektion in die Nackenmuskulatur verglichen mit der Rückenmuskulatur, beschrieben [254, 255].

In der vorliegenden Arbeit konnte erstmalig die Injektion der Hals-Nackenmuskulatur (versus Injektion in andere Muskelpartien) als unabhängiger Risikofaktor für die Entstehung einer Immunantwort (mit konsekutivem nAK-sTV) beim Menschen belegt werden.

Als Ursache der vermehrten Antigenität bei Injektion der Nackenmuskulatur bei Rinderkälbern und einheimischen Schweinen wurde das ausgeprägte Lymphsystem der Nackenmuskulatur diskutiert [254, 255]. Bei gesunden Erwachsenen fanden sich zervikale Lymphknoten mit Lymphozyten und Keimzentrumsdominanz hauptsächlich in der oberen und unteren Jugulararkette, welche dem anatomischen Bereich des Musculus sternocleidomastoideus entspricht, während unstimulierte oder regressiv veränderte Lymphknoten eher in der kaudalen und latero-posterioren Halsregion zu finden waren (der hinteren Nackenregion entsprechend) [256]. Ob BoNT-Injektionen insbesondere im oberen lateralen Halsbereich eine systemische Immunantwort beim Menschen auslösen können, muss in künftigen Studien geklärt werden [257]. Zusammenfassend legen die erhobenen Daten nahe, dass die Risikofaktoren der hohen BoNT-Einzeldosis und des Präparatewechsels bei der Injektion in die Nackenmuskulatur eine besonders große Rolle spielen.

Das Geschlecht, das Alter bei Beginn der Therapie, der Therapiezeitraum, die Anzahl der Behandlungssitzungen, die kumulative Dosis, die Anzahl der Behandler, die maximale Anzahl an injizierten Muskeln pro Sitzung, die Anzahl der Änderungen des Injektionsschemas, die Anzahl der Präparatewechsel oder bestimmte Sequenzen aufeinanderfolgender Präparate erwiesen sich hingegen nicht als relevante Risikofaktoren für ein nAK-sTV.

Die dieser Promotionsarbeit zugrundeliegende Patientenkohorte zur Inzidenz von nAK-sTV in der Behandlung mit BoNT repräsentiert die Kohorte mit der im internationalen Vergleich längsten analysierten Behandlungsdauer mit verschiedenen BoNT-Präparaten einschließlich Inco-BoNT. Im Median haben die Patienten über einen Zeitraum von 10,5 Jahren Inco-BoNT-Injektionen erhalten. Zur Detektion von nAK wurde der MHDA in der untersuchten Kohorte bereits bei dem Verdacht auf ein beginnendes Therapieversagen eingesetzt, in vielen Fällen mit CD und SPAS zudem unabhängig vom Therapieergebnis. Eine weitere Stärke dieser Analyse ist die standardisierte, einheitliche Dokumentation der Behandlung über den gesamten Behandlungszeitraum (1995-2018), welche die Qualität der Daten erhöht.

Zu den Limitationen gehört die, aufgrund des retrospektiven Studiendesigns, unvollständige Datenlage bei 85 Patienten, welche aus diesem Grund nicht in die Studie aufgenommen werden konnten. Zudem sollte angemerkt werden, dass die Untersuchung auf nAK nur bei einem Teil des Patientenkollektivs erfolgte. Des Weiteren besteht eine Einschränkung der Vergleichbarkeit der präparateabhängigen Antikörper-Prävalenzen aufgrund des unterschiedlich häufigen Einsatzes der vier BoNT-Präparate (vergleichsweise geringer Einsatz von Ona-BoNT). Eine weitere potenzielle Limitation kann die behandlerabhängig etwas unterschiedliche Bewertung des Behandlungserfolges sein. Trotz der aufgeführten Limitationen stimmen die hier erhobenen Daten sehr gut mit den Daten früherer, auch prospektiver Studien überein.

Ein weiterer in dieser Arbeit behandelter Aspekt sind die Gründe für einen Therapieabbruch im Verlauf der Behandlung. So liefern die gewonnenen Daten weitere Evidenz dafür, dass das nAK-sTV lediglich eine von verschiedenen Ursachen des Behandlungsabbruches ist. Daneben können als Ursachen für einen Therapieabbruch in dieser Arbeit insbesondere eine subjektiv unzureichende Wirkung (21,6 %), intolerable Nebeneffekte (18 %) sowie ein primäres Therapieversagen (10,8 %) als häufigste angegebene Gründe herausgearbeitet werden, wobei in einem Teil der Fälle der Grund des Therapieabbruches unklar blieb (28,8 %).

Abschließend lassen sich als Kernaussage dieser Arbeit die folgenden unabhängigen Risikofaktoren für die Entwicklung eines nAK-sTV unter BoNT-Langzeit-Injektionstherapie festhalten:

- 1) Die **Dosis** > **575 nDE** eines BoNT-Präparates pro Sitzung (außer Inco-BoNT)
- 2) Der Präparatewechsel mit Beteiligung von **Ona-BoNT (Botox®)**, jedoch nicht der Wechsel von Ona-BoNT zu Inco-BoNT (Xeomin®)
- 3) Injektionsbehandlung der **Nackermuskulatur**

6 Fazit

Diese Arbeit widmet sich der Analyse der Häufigkeit und der Risikofaktoren für das nAK-sTV bei der intramuskulären Langzeit-Injektionsbehandlung mit verschiedenen BoNT-Präparaten. Das übergeordnete Ziel stellt die Reduktion des Risikos eines sTV und damit eine sicherere Anwendung von BoNT dar. Dabei wurde in einer retrospektiven monozentrischen Studie ein Behandlungszeitraum von bis zu 30 Jahren bei 471 Patienten analysiert.

Als signifikanter Risikofaktor für das nAK-sTV erwies sich eine hohe BoNT-Einzeldosis > 575 nDE. Dies impliziert die klinische Empfehlung, eine möglichst niedrige Dosierung zu verwenden. Diese Arbeit unterstützt außerdem die aktuelle Empfehlung, einen unnötigen Wechsel der Präparate zu vermeiden. Die aktuelle Analyse zeigt insbesondere, dass ein Präparatewechsel zwischen Ona-BoNT und anderen BoNT-Präparaten (mit Ausnahme des Wechsels von Ona-BoNT zu Inco-BoNT) ein unabhängiger Risikofaktor für die Entwicklung eines nAK-sTV ist.

Als neue Erkenntnis wies diese Studie ein erhöhtes Risiko eines nAK-sTV bei der Injektion der Nackenmuskulatur signifikant nach. Insofern gelten obige Empfehlungen zur Dosierung und Vermeidung von Präparatewechseln in besonderem Maße für die Behandlung der CD.

Schließlich belegt die aktuelle Studie die Sicherheit von Inco-BoNT auch im Hochdosisbereich und in der Langzeittherapie. Ein nAK-sTV ist bei keinem der Patienten unter ausschließlicher Therapie mit Inco-BoNT (Xeomin®) aufgetreten. Daher sollte es bevorzugt bei Hochdosis Indikationen Anwendung finden.

7 Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle ganz herzlich bei der gesamten Klinik und Poliklinik für Neurologie unter der Direktion von Herrn Prof. med. A. Storch für die Ermöglichung dieser Dissertation bedanken.

Allen voran gilt jedoch mein Dank Herrn Prof. Dr. med. U. Walter für die außerordentlich gute Betreuung und die Mühe, die er in mich und diese Arbeit gesteckt hat. Ohne diese Unterstützung wäre dies alles nicht zustande gekommen. Vielen Dank!

Ein besonderer Dank gilt auch Herrn Dr. Eilhard Mix, PD Dr. med. Christoph Kamm sowie Herrn Janes Alt für die Erhebung und Überlassung von Daten des Maus-Hemidiaphragma-Assays, sowie Herrn Prof. Dr. med. R. Benecke, den ich persönlich noch kurz kennenlernen durfte.

Zu guter Letzt danke ich meiner Familie, meiner Freundin und meinen Freunden für die Unterstützung und die Motivation.

8 Thesen

These 1	Die regelmäßige intramuskuläre Injektionsbehandlung mit Botulinum-Neurotoxin- (BoNT-) Präparaten ist derzeit die Therapie der Wahl bei Erkrankungen mit fokaler Muskelhyperaktivität wie der Spastik und Dystonie.
These 2	Eine von mehreren Ursachen eines sekundären kompletten Therapieversagens von BoNT ist die Bildung neutralisierender Antikörper.
These 3	Gemäß den hier erhobenen Daten ist nach Langzeittherapie mit BoNT die Prävalenz neutralisierender Antikörper höher bei Patienten mit zervikaler Dystonie (22%), oromandibulärer Dystonie (11%) bzw. Spastik (13%) als bei Patienten mit Hemispasmus facialis (2%) bzw. Blepharospasmus (0%). Zudem ist die Prävalenz höher bei Patienten mit zervikaler Dystonie (Injektion der Hals-Nackenmuskulatur) im Vergleich zu Patienten mit Spastik (Injektion der Extremitätenmuskulatur).
These 4	Neutralisierende Antikörper finden sich im Trend häufiger bei Patienten, die mit Abo-BoNT (Dysport®) behandelt wurden, als bei solchen, die mit Inco-BoNT (Xeomin®) therapiert wurden ($p = 0,12$). Insbesondere bei Anwendung höherer Dosierungen hat Inco-BoNT (Xeomin®) ein im Vergleich zu den anderen Präparaten sehr geringes Potential zur Induktion neutralisierender Antikörper.
These 5	Im Vergleich zu ausschließlich mit Abo-BoNT (Dysport®) oder Ona-BoNT (Botox®) therapierten Patienten ist bei ausschließlich mit Inco-BoNT (Xeomin®) Behandelten eine deutlich niedrigere Antikörper-Prävalenz nachzuweisen.
These 6	Neutralisierende Antikörper sind häufiger bei Patienten mit wechselnden BoNT-Präparaten im Vergleich zu Patienten, die ausschließlich mit Inco-BoNT (Xeomin®) behandelt wurden.
These 7	Ein antikörpervermitteltes sekundäres Therapieversagen konnte in unserer Kohorte bei 5,9 % der Patienten nachgewiesen werden.
These 8	Ein Präparatewechsel zwischen Ona-BoNT (Botox®) und anderen BoNT-Präparaten ist ein unabhängiger Risikofaktor für die Entwicklung eines antikörpervermittelten sekundären Therapieversagens. Eine Ausnahme bildet der Wechsel von Ona-BoNT (Botox®) zu Inco-BoNT (Xeomin®).

These 9	Ein signifikanter Risikofaktor für ein antikörpervermitteltes komplettes sekundäres Therapieversagen ist eine hohe BoNT-Dosis je Therapiesitzung. Als kritischer Cut-off-Wert wurden mehr als 575 Dosiseinheiten ermittelt (normiert auf Abo-BoNT [Dysport]; entspricht 285 Einheiten Ona-BoNT [Botox]). Dies impliziert die klinische Empfehlung, eine möglichst niedrige Dosierung dieser Präparate je Therapiesitzung zu verwenden.
These 10	Erstmalig konnte, als ein weiterer unabhängiger Risikofaktor eines antikörpervermittelten kompletten sekundären Therapieversagens, die Injektion der Hals-Nackermuskulatur beim Menschen belegt werden.
These 11	Inco-BoNT (Xeomin®) weist eine geringere Antigenität auf und führt zu keinem antikörpervermittelten kompletten sekundären Therapieversagen. Somit ist es, insbesondere im Hochdosisbereich und bei Langzeittherapie, ein sicheres und empfehlenswertes Präparat.
These 12	Nicht mit dem Risiko eines antikörpervermittelten kompletten sekundären Therapieversagens assoziiert sind das Geschlecht, das Alter bei Beginn der Therapie, der Therapiezeitraum, die Anzahl der Behandlungssitzungen, die kumulative Dosis, die Anzahl der Behandler, die maximale Anzahl an injizierten Muskeln pro Sitzung, die Anzahl der Änderungen des Injektionsschemas, die Anzahl der Präparatewechsel oder bestimmte Sequenzen aufeinanderfolgender Präparate.
These 13	Ein antikörpervermitteltes komplettes sekundäres Therapieversagen ist nur eine von verschiedenen Ursachen eines Abbruchs der Behandlung mit Botulinumtoxin. Daneben können als Ursachen eines Therapieabbruchs in dieser Arbeit insbesondere eine subjektiv unzureichende Wirkung (21,6 %), intolerable Nebeneffekte (18 %) sowie ein primäres Therapieversagen (10,8 %) als häufigste angegebene Gründe herausgearbeitet werden, wobei in einem Teil der Fälle der Grund des Therapieabbruches unklar blieb (28,8 %).

9 Verzeichnisse

9.1 Abbildungsverzeichnis

<i>Abbildung</i>	<i>Titel</i>	<i>Seite</i>
Abbildung 1	Zusammensetzung der therapeutischen BoNT-Präparationen (editiert nach [32])	-10-
Abbildung 2	Schematische Darstellung der BoNT-Wirkung (Abbildung entnommen aus [258])	-12-
Abbildung 3	Musculus-frontalis-Test (Abbildung entnommen aus [67])	-14-
Abbildung 4	Schematische Darstellung der zervikalen und kranialen Dystonie (Abbildung entnommen aus [99])	-33-
Abbildung 5	Vereinfachte schematische Darstellung der zervikalen und kranialen Dystonie (Abbildung entnommen aus [99])	-33-
Abbildung 6	Behandlungsmöglichkeiten der Dystonie (editiert nach [166])	-37-
Abbildung 7	Spastische Haltungsmuster am Arm (Abbildung entnommen aus [99])	-39-
Abbildung 8	Syndrom des ersten motorischen Neurons (Upper Neuron Syndrom) (editiert nach [99])	-40-
Abbildung 9	Stufentherapie der Spastik (editiert nach [116])	-41-
Abbildung 10	Studienflussdiagramm	-48-
Abbildung 11	Gründe für einen Behandlungsabbruch, sortiert nach Diagnose	-54-
Abbildung 12	Frequenz des nAK-sTV und Behandlungsdauer	-56-
Abbildung 13	Vergleich von Patienten mit und ohne nAK-sTV	-59-
Abbildung 14	Einfluss des Präparatewechsels auf die Entwicklung eines nAK-sTV	-62-

9.2 Tabellenverzeichnis:

<i>Tabelle</i>	<i>Titel</i>	<i>Seite</i>
Tabelle 1	Symptomatik des Botulismus (editiert nach [22, 23])	-9-
Tabelle 2	Überblick über die ersten randomisierten, doppelblinden, placebo-kontrollierten Studien mit BoNT bei Bewegungsstörungen (editiert nach [259])	-17-
Tabelle 3	Klinische Anwendungsgebiete von BoNT (editiert nach [82, 83])	-17-
Tabelle 4	Eigenschaften verschiedener therapeutischer BoNT-Toxin-Präparationen (modifiziert nach [32, 96])	-19-
Tabelle 5	Übersicht BoNT-Präparate (editiert nach [32, 99, 135–137])	-23-
Tabelle 6	Phänomenologische Einteilung der oromandibulären Dystonien (editiert nach [99])	-35-
Tabelle 7	Behandlungsabhängige Daten und angegebene Gründe für ein Therapieversagen in den diagnostischen Subgruppen	-53-
Tabelle 8	Vergleich der Patienten mit und ohne nAK-sTV	-60-

9.3 Literaturverzeichnis:

- [1] **Kerner J.** Vergiftung durch verdorbene Würste. *Tübinger Blätter für Naturwissenschaften und Arzneykunde* 1817; 3: 1-25.
- [2] **Smith LD.** *Botulism: The organism, its toxins, the disease.* Springfield: Charles C. Thomas 1977.
- [3] **Kerner J.** Neue Beobachtungen über die in Württemberg so häufig vorkommenden tödlichen Vergiftungen durch den Genuss geräucherter Würste. Tübingen: *Osiander* 1820.
- [4] **Kerner J.** *Das Fettgift oder die Fettsäure und ihre Wirkungen auf den thierischen Organismus, ein Beitrag zur Untersuchung des in verdorbenen Würsten giftig wirkenden Stoffes.* Stuttgart und Tübingen: Cotta, 1822.
- [5] **Van Ermengem E.** Ueber einen neuen anaëroben Bacillus und seine Beziehungen zum Botulismus, in *Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten* 1897; 26: 1-56.
- [6] **Schantz EJ, Johnson EA.** Properties and use of botulinum toxin and other microbial neurotoxins in medicine. *Microbiological Reviews* 1992; 56: 80-99.
- [7] **Erbguth FJ.** The pretherapeutic history of botulinum toxin. In Daniel Truong, Dirk Dressler and Mark Hallett: *Cambridge University Press - Manual of Botulinum Toxin Therapy* 2009; 1-7.
- [8] **Burgen ASV, Dickens F, Zatman LJ.** The action of botulinum toxin on the neuromuscular junction. *The Journal of Physiology* 1949; 109: 10-24.
- [9] **Dong M, Yeh F, Tepp WH, et al.** SV2 is the protein receptor for botulinum neurotoxin. *Science* 2006; 312: 592-596.
- [10] **Mahrhold S, Rummel A, Bigalke H, et al.** The synaptic vesicle protein 2C mediates the uptake of botulinum neurotoxin A into phrenic nerves. *FEBS Letters* 2006; 580: 2011- 2014.

- [11] **Schiavo G, Benfenati F, Poulain B, et al.** Tetanus and botulinum-B neurotoxins block neurotransmitter release by proteolytic cleavage of synaptobrevin. *Nature* 1992; 359: 832-835.
- [12] **Dolly JO, Ashton AC, McInnes C, et al.** Clues to the multi-phasic inhibitory action of botulinum neurotoxins on release of transmitters. *The Journal of Physiology* 1990; 84: 237-246.
- [13] **Drachman DB.** Pharmacological denervation of skeletal muscle in chick embryos treated with botulinum toxin. *Transactions of the American Neurological Association* 1965; 90: 241-242.
- [14] **Scott AB, Rosenbaum A, Collins CC.** Pharmacologic weakening of extraocular muscles. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 1973; 12: 924-927.
- [15] **Scott AB.** Botulinum toxin injection into extraocular muscles as an alternative to strabismus surgery. *Ophthalmology* 1980; 87: 1044-1049.
- [16] **Frueh BR, Felt DP, Wojno TH, et al.** Treatment of blepharospasm with botulinum toxin. A preliminary report. *Archives of Ophthalmology, Chicago Illinois* 1984; 102: 1464-1468.
- [17] **Dover N, Barash JR, Hill KK, et al.** Molecular characterization of a novel botulinum neurotoxin type H gene. *Journal of Infectious Diseases* 2014; 209:192-202.
- [18] **Jjjj TM, Pfausler B.** S1-Leitlinie Botulismus. Deutsche Gesellschaft für Neurologie 2017.
- [19] **Lamanna C.** The most poisonous poison. *Science* 1959; 130: 763-772.
- [20] **Scott AB.** Botulinum toxin injection of eye muscles to correct strabismus. *Transactions of the American Neurological Association* 1981; 79: 734-770.
- [21] **Johnson EA.** Clostridial toxins as therapeutic agents: benefits of nature's most toxic proteins. *Annual Review of Microbiology* 1999; 53: 551-575.
- [22] **Zhang J-C, Sun L, Nie Q-H.** Botulism, where are we now? *Clinical Toxicology, Philadelphia* 2010; 48: 867-879.
- [23] **Tacket C.O., Rogawski M.A.** Botulism. In Simpson LL: *Botulinum neurotoxin and tetanus toxin*. San Diego: Academic Press, 1989; 351-378.
- [24] **Simpson LL.** Identification of the major steps in botulinum toxin action. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 2004; 44: 167-193.
- [25] **Hill KK, Smith TJ.** Genetic diversity within Clostridium botulinum serotypes, botulinum neurotoxin gene clusters and toxin subtypes. *Current Topics in Microbiology and Immunology* 2013; 364: 1-20.
- [26] **Popoff MR, Bouvet P.** Genetic characteristics of toxigenic Clostridia and toxin gene evolution. *Toxicon: Official Journal of the International Society of Toxinology* 2013; 75: 63-89.
- [27] **Dover, N., Barash, J. R., Hill, K. K., Xie, G. & Arnon, S. S.** Molecular characterization of a novel botulinum neurotoxin type H gene, *The Journal of Infectious Diseases* 2014; 209: 192-202
- [28] **Maslanka SE, Lúquez C, Dykes JK, et al.** A Novel Botulinum Neurotoxin, Previously Reported as Serotype H, Has a Hybrid-Like Structure with Regions of Similarity to the Structures of Serotypes A and F and Is Neutralized with Serotype A Antitoxin. *The Journal of Infectious Diseases* 2016; 213: 379-385.
- [29] **von Berg L, Stern D, Pauly D, et al.** Functional detection of botulinum neurotoxin serotypes A to F by monoclonal neoepitope-specific antibodies and suspension array technology. *Scientific Reports* 2019; 9: 5531.
- [30] **Rossetto O, Pirazzini M, Montecucco C.** Botulinum neurotoxins: genetic, structural and mechanistic insights. *Nature Reviews Microbiology* 2014; 12: 535-549.
- [31] **Benecke R.** Clinical relevance of botulinum toxin immunogenicity. *BioDrugs: Clinical immunotherapeutics biopharmaceuticals and gene therapy* 2012; 26: 1-9.

- [32] **Dressler D.** Pharmacological aspects of therapeutic botulinum toxin preparations. *Nervenarzt* 2006; 77: 912-921.
- [33] **Binscheck T, Wellhöner HH.** Struktur und Wirkmechanismus der Botulinum-Neurotoxine. In Laskawi R, Roggenkämper P (Hrsg.): *Botulinumtoxin-Therapie im Kopf-Hals-Bereich*. München: Urban & Vogel. 2004; Band 1.2.: 25–45 und 25-45.
- [34] **Pellizzari R, Rossetto O, Schiavo G, et al.** Tetanus and botulinum neurotoxins: mechanism of action and therapeutic uses. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 1999; 354: 259-268.
- [35] **Brin MF, Dressler D, Aoki KR.** Pharmacology of Botulinum Toxin Therapy. In Barnett J, Robinson R (Hrsg.), *Dystonia: Etiology, Clinical Features, and Treatment*. Philadelphia: WE MOVE. 2004; Band 1: 93-112.
- [36] **Brin MF.** Botulinum toxin: chemistry, pharmacology, toxicity, and immunology. *Muscle & Nerve. Supplement* 1997; 6: 146-168.
- [37] **Chaddock JA, Marks PMH.** Clostridial neurotoxins: structure-function led design of new therapeutics. *Cellular and molecular life sciences: CMLS* 2006; 63: 540-551.
- [38] **Bigalke H, Shoer LF.** Bacterial Protein Toxins. In Aktories K, Just I (Hrgs.): *Handbook of Experimental Pharmacology*. Heidelberg: Springer; 2000: Band 145: 407-431.
- [39] **Simpson, L.** The life history of a botulinum toxin molecule. *Toxicon* 2013; 68: 40-59
- [40] **Restani, L. et al.** Botulinum neurotoxins A and E undergo retrograde axonal transport in primary motor neurons. *PLoS Pathogens* 2012; 8 (12): 1003087.
- [41] **Nishiki, T. et al.** Identification of protein receptor for Clostridium botulinumtype B neurotoxin in rat brain synaptosomes. *Journal of Biological Chemistry* 1994; 269: 10498 -10503.
- [42] **Rummel, A. et al.** Identification of the protein receptor binding site of botulinum neurotoxins B and G proves the double-receptor concept. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2007; 104: 359-364.
- [43] **Dressler D, Benecke R.** Pharmacology of therapeutic botulinum toxin preparations. *Disability and Rehabilitation* 2007; 29: 1761-1768.
- [44] **Südhof TC, Rizo J.** Synaptic vesicle exocytosis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 2011; 3 (12): a005637.
- [45] **Pantano S, Montecucco C.** The blockade of the neurotransmitter release apparatus by botulinum neurotoxins. *Cellular and molecular life sciences: CMLS* 2014; 71: 793-811.
- [46] **Yamasaki S, Baumeister A, Binz T, et al.** Cleavage of members of the synaptobrevin/VAMP family by types D and F botulinum neurotoxins and tetanus toxin. *The Journal of Biological Chemistry* 1994; 269: 12764-12772.
- [47] **Schiavo G, Santucci A, Dasgupta BR, et al.** Botulinum neurotoxins serotypes A and E cleave SNAP-25 at distinct COOH-terminal peptide bonds. *FEBS letters* 1993; 335: 99-103.
- [48] **Binz T, Blasi J, Yamasaki S, et al.** Proteolysis of SNAP-25 by types E and A botulinum neurotoxins. *Journal of Biological Chemistry* 1994; 269: 1617-1620.
- [49] **Foran P, Lawrence GW, Shone CC, et al.** Botulinum neurotoxin C1 cleaves both syntaxin and SNAP-25 in intact and permeabilized chromaffin cells: correlation with its blockade of catecholamine release. *Biochemistry* 1996; 35: 2630-2636.
- [50] **Rosales RL, Dressler D.** On muscle spindles, dystonia and botulinum toxin. *European Journal of Neurology* 2010; 17 (1): 71-80.
- [51] **Atassi MZ.** Basic immunological aspects of botulinum toxin therapy. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society* 2004; 19 (8): 68-84.
- [52] **Blasi J, Chapman ER, Link E, et al.** Botulinum neurotoxin A selectively cleaves the synaptic protein SNAP-25. *Nature* 1993; 365: 160-163.
- [53] **de Paiva A, Meunier FA, Molgó J, et al.** Functional repair of motor endplates after

- botulinum neurotoxin type A poisoning: biphasic switch of synaptic activity between nerve sprouts and their parent terminals. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1999; 96: 3200-3205.
- [54] **Duchen LW.** An electron microscopic study of the changes induced by botulinum toxin in the motor end-plates of slow and fast skeletal muscle fibres of the mouse. *Journal of the Neurological Sciences* 1971; 14: 47-60.
 - [55] **Duchen LW.** Changes in the electron microscopic structure of slow and fast skeletal muscle fibres of the mouse after the local injection of botulinum toxin. *Journal of the Neurological Sciences* 1971; 14: 61-74.
 - [56] **Atassi MZ, Dolimbek GS, Deitiker PR, et al.** Submolecular recognition profiles in two mouse strains of non-protective and protective antibodies against botulinum neurotoxin A. *Molecular Immunology* 2005; 42: 1509-1520.
 - [57] **Atassi MZ, Dolimbek BZ.** Mapping of the antibody-binding regions on the HN-domain (residues 449-859) of botulinum neurotoxin A with antitoxin antibodies from four host species. Full profile of the continuous antigenic regions of the H-chain of botulinum neurotoxin A. *The Protein Journal* 2004; 23: 39-52.
 - [58] **Atassi MZ, Oshima M.** Structure, activity, and immune (T and B cell) recognition of botulinum neurotoxins. *Critical Reviews in Immunology* 1999; 19: 219-260.
 - [59] **Bryant A-M, Cai S, Singh BR.** Comparative immunochemical characteristics of botulinum neurotoxin type A and its associated proteins. *Toxicon: Official Journal of the International Society on Toxinology* 2013; 72: 126-132.
 - [60] **Amersdorfer P, Wong C, Smith T, et al.** Genetic and immunological comparison of anti-botulinum type A antibodies from immune and non-immune human phage libraries. *Vaccine* 2002; 20: 1640-1648.
 - [61] **Göschel H, Wohlfarth K, Frevert J, et al.** Botulinum A toxin therapy: neutralizing and nonneutralizing antibodies-therapeutic consequences. *Experimental Neurology* 1997; 147: 96-102.
 - [62] **Marks JD.** Deciphering antibody properties that lead to potent botulinum neurotoxin neutralization. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society* 2004; 19 (8): 101-108.
 - [63] **Sesardic D, Jones RGA, Leung T, et al.** Detection of antibodies against botulinum toxins. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society* 2004; 19 (8): 85-91.
 - [64] **Wohlfarth K, Schwandt I, Wegner F, et al.** Biological activity of two botulinum toxin type A complexes (Dysport and Botox) in volunteers: a double-blind, randomized, dose-ranging study. *Journal of Neurology* 2008; 255: 1932-1939.
 - [65] **Frevert J.** Xeomin is free from complexing proteins. *Toxicon: Official Journal of the International Society on Toxinology* 2009; 54: 697-701.
 - [66] **Gordon PH, Gooch CL, Greene PE.** Extensor digitorum brevis test and resistance to botulinum toxin type A. *Muscle Nerve* 2002; 26: 828-831.
 - [67] **Marion M-H, Humberstone M, Grunewald R, et al.** British Neurotoxin Network recommendations for managing cervical dystonia in patients with a poor response to botulinum toxin. *Practical Neurology* 2016; 16: 288-295.
 - [68] **Dressler D, Bigalke H, Rothwell JC.** The sternocleidomastoid test: an in vivo assay to investigate botulinum toxin antibody formation in humans. *Journal of Neurology* 2000; 247: 630-632.
 - [69] **Birklein F, Walther D, Bigalke H, et al.** Sudomotor testing predicts the presence of neutralizing botulinum A toxin antibodies. *Annals of Neurology* 2002; 52: 68-73.
 - [70] **Voller B, Moraru E, Auff E, et al.** Ninhydrin sweat test: a simple method for detecting antibodies neutralizing botulinum toxin type. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society* 2004; 19: 943-947.

- [71] **Dressler D, Bigalke H.** Botulinum toxin antibody type A titres after cessation of botulinum toxin therapy. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society* 2002; 17: 170-173.
- [72] **Dressler D, Lange M, Bigalke H.** Mouse diaphragm assay for detection of antibodies against botulinum toxin type B. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society* 2005; 20: 1617-1619.
- [73] **Lange O, Bigalke H, Dengler R, et al.** Neutralizing antibodies and secondary therapy failure after treatment with botulinum toxin type A: much ado about nothing? *Clinical Neuropharmacology* 2009; 32: 213-218.
- [74] **Dressler D, Dirnberger G, Bhatia KP, et al.** Botulinum toxin antibody testing: comparison between the mouse protection assay and the mouse lethality assay. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society* 2000; 15: 973- 976.
- [75] **Lee S-K.** Antibody-induced failure of botulinum toxin type A therapy in a patient with masseteric hypertrophy. *Dermatologic Surgery: Official Publication for American Society for Dermatologic Surgery* 2007; 33: 105-110.
- [76] **Pellett S, Tepp WH, Clancy CM, et al.** A neuronal cell-based botulinum neurotoxin assay for highly sensitive and specific detection of neutralizing serum antibodies. *FEBS letters* 2007; 581: 4803-4808.
- [77] **Atassi MZ, Dolimbek BZ, Steward LE, et al.** Inhibition of botulinum neurotoxin a toxic action in vivo by synthetic synaptosome- and blocking antibody-binding regions. *The Protein Journal* 2010; 29: 320-327.
- [78] **Dressler D, Dirnberger G.** Botulinum toxin antibody testing: comparison between the immunoprecipitation assay and the mouse diaphragm assay. *European Neurology* 2001; 45: 257-260.
- [79] **Davletov B, Bajohrs M, Binz T.** Beyond BOTOX: advantages and limitations of individual botulinum neurotoxins. *Trends in Neurosciences* 2005; 28: 446-452.
- [80] **Montecucco C, Molgó J.** Botulinum neurotoxins: revival of an old killer. *Current Opinion in Pharmacology* 2005; 5: 274-279.
- [81] **Tsui JK, Eisen A, Stoessl AJ, et al.** Double-blind study of botulinum toxin in spasmodic torticollis. *Lancet (London, England)* 1986; 2: 245-247.
- [82] **Charles PD.** Botulinum neurotoxin serotype A: a clinical update on non-cosmetic uses. *American journal of health-system pharmacy: AJHP: official journal of the American Society of Health-System Pharmacists* 2004; 61: 11-23.
- [83] **Homann CN, Wenzel K, Kriechbaum N, et al.** Botulinum toxin--the dose controls the poison. A historical sketch. *Nervenarzt* 2002; 73: 519-24.
- [84] **Dressler D.** Botulinum Toxin Therapy 2000. Stuttgart, New York: Thieme
- [85] **Cordivari C, Misra VP, Catania S, et al.** New therapeutic indications for botulinum toxins. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society* 2004; 19 (8): 157-161.
- [86] **Scott AB.** Development of botulinum toxin therapy. *Dermatologic Clinics* 2004; 22: 131-133.
- [87] **Imhof M, Podda M, Sommer B.** S1-Leitlinie Ästhetische Botulinumtoxin-Therapie. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft* 2013; 11: 1-13.
- [88] **Binder WJ, Brin MF, Blitzler A, et al.** Botulinum toxin type A (BOTOX) for treatment of migraine headaches: an open-label study. *Otolaryngology--Head and Neck Surgery: Official Journal of American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery* 2000; 123: 669-676.
- [89] **Benecke R, Dressler D.** Botulinum toxin treatment of axial and cervical dystonia. *Disability and Rehabilitation* 2007; 29: 1769-1777.
- [90] **Erbguth F, Claus D, Engelhardt A, et al.** Systemic effect of local botulinum toxin

- injections unmasks subclinical Lambert-Eaton myasthenic syndrome. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 1993; 56: 1235-1236.
- [91] **Nigam PK, Nigam A.** BOTULINUM TOXIN. *Indian Journal of Dermatology* 2010; 55: 8-14.
- [92] **Li Yim JFT, Weir CR.** Botulinum toxin and pregnancy-a cautionary tale. *Strabismus* 2010; 18: 65-66.
- [93] **Brin MF, Kirby RS, Slavotinek A, et al.** Pregnancy outcomes following exposure to onabotulinumtoxinA. *Pharmacoepidemiology and Drug Safety* 2016; 25: 179-187.
- [94] **Morgan JC, Iyer SS, Moser ET, et al.** Botulinum toxin A during pregnancy: a survey of treating physicians. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 2006; 77: 117-119.
- [95] **Jankovic J, Vuong KD, Ahsan J.** Comparison of efficacy and immunogenicity of original versus current botulinum toxin in cervical dystonia. *Neurology* 2003; 60: 1186-1188.
- [96] **Bellows S, Jankovic J.** Immunogenicity Associated with Botulinum Toxin Treatment. *Toxins* 2019; 11.
- [97] **Deutsche Gesellschaft für Neurologen.** Extrapyramidalmotorische Störungen, Dystonie. Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie 2012.
- [98] **Tan EK, Jankovic J.** Botulinum toxin A in patients with oromandibular dystonia: long-term follow-up. *Neurology* 1999; 53: 2102-2107.
- [99] **Reichelt G.** Therapieleitfaden Spastik- Dystonie 2012, Bremen London Boston: Uni-Med. 5.Auflage.
- [100] **Wolfgang Jost, Andrzej Friedman, Olaf Michel, Birgit Flatau-Baqué, Janos Csikós, Andrew Blitzer.** SIAXI Placebo-controlled, randomized, double-blind study of incobotulinumtoxinA for sialorrhea, *Neurology* 2019; 92 (17):1982-1991.
- [101] **Arbeitskreis Botulinumtoxin e.V. der Deutschen Gesellschaft für Neurologie:** Stellungnahme zur Kostenerstattung von Botulinumtoxin bei „Off-Label Indikationen“ durch die gesetzlichen Krankenkassen (Fassung vom 04.05.2006).
- [102] **Cole R, Hallett M, Cohen LG.** Double-blind trial of botulinum toxin for treatment of focal hand dystonia. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society* 1995; 10: 466-471.
- [103] **Tsui JK, Bhatt M, Calne S, et al.** Botulinum toxin in the treatment of writer's cramp: a double-blind study. *Neurology* 1993; 43: 183-185.
- [104] **Wissel J, Kabus C, Wenzel R, et al.** Botulinum toxin in writer's cramp: objective response evaluation in 31 patients. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 1996; 61: 172-175.
- [105] **Reichel G, Kirchhöfer U, Stenner A.** Camptocormia-segmental dystonia. Proposal of a new definition for an old disease. *Nervenarzt* 2001; 72: 281-285.
- [106] **Comella CL, Shannon KM, Jaglin J.** Extensor truncal dystonia: successful treatment with botulinum toxin injections. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society* 1998; 13: 552-555.
- [107] **Gemeinsamen Bundesausschusses.** Beschluss des Gemeinsamen Bundesausschusses über eine Änderung der Arzneimittel-Richtlinie (AM-RL): Anlage VI - Off-Label-Use Clostridium botulinum Toxin Typ A (OnabotulinumtoxinA, AbobotulinumtoxinA) bei Spasmodischer Dysphonie (Laryngealer Dystonie) 2013.
- [108] **Bundesministerium für Gesundheit.** Bekanntmachung eines Beschlusses des Gemeinsamen Bundesausschusses über eine Änderung der Arzneimittel-Richtlinie: Anlage VI (Off-Label-Use) - Clostridium botulinum Toxin Typ A bei aufgabenspezifischer fokaler Dystonie vom 15. Oktober 2020.
- [109] **Moore AP.** Botulinum toxin A (BoNT-A) for spasticity in adults. What is the evidence? *European Journal of Neurology*; 9 (1): 42-47.

- [110] **Burbaud P, Wiart L, Dubos JL, et al.** A randomised, double blind, placebo controlled trial of botulinum toxin in the treatment of spastic foot in hemiparetic patients. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 1996; 61: 265-269.
- [111] **Hyman N, Barnes M, Bhakta B, et al.** Botulinum toxin (Dysport) treatment of hip adductor spasticity in multiple sclerosis: a prospective, randomised, double blind, placebo controlled, dose ranging study. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 2000; 68: 707-712.
- [112] **Pavesi G, Brianti R, Medici D, et al.** Botulinum toxin type A in the treatment of upper limb spasticity among patients with traumatic brain injury. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 1998; 64: 419-420.
- [113] **Reichel G.** Botulinum toxin for treatment of spasticity in adults. *Journal of Neurology* 2001; 248 (1); 25-27.
- [114] **Simpson DM.** Clinical trials of botulinum toxin in the treatment of spasticity. *Muscle & Nerve* 1997; 6: 169-175.
- [115] **Yablon SA, Agana BT, Ivanhoe CB, et al.** Botulinum toxin in severe upper extremity spasticity among patients with traumatic brain injury: an open-labeled trial. *Neurology* 1996; 47: 939-944.
- [116] **Deutsche Gesellschaft für Neurologen.** Rehabilitation, Therapie des spastischen Syndroms. Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie 2012.
- [117] **Jost WH, Naumann M.** Botulinum toxin in neuro-urological disorders. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society* 2004; 19 (8): 142-145.
- [118] **Schurch B, de Sèze M, Denys P, et al.** Botulinum toxin type a is a safe and effective treatment for neurogenic urinary incontinence: results of a single treatment, randomized, placebo controlled 6-month study. *The Journal of Urology* 2005; 174: 196-200.
- [119] **Heckmann M, Ceballos-Baumann AO, Plewig G, et al.** Botulinum toxin A for axillary hyperhidrosis (excessive sweating). *The New England Journal of Medicine* 2001; 344: 488-493.
- [120] **Naumann M, Lowe NJ.** Botulinum toxin type A in treatment of bilateral primary axillary hyperhidrosis: randomised, parallel group, double blind, placebo controlled trial. *BMJ (Clinical research ed.)* 2001; 323: 596-599.
- [121] **Saadia D, Voustianiouk A, Wang AK, et al.** Botulinum toxin type A in primary palmar hyperhidrosis: randomized, single-blind, two-dose study. *Neurology* 2001; 57: 2095-2099.
- [122] **Giess R, Werner E, Beck M, et al.** Impaired salivary gland function reveals autonomic dysfunction in amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of Neurology* 2002; 249: 1246-1249.
- [123] **Pal PK, Calne DB, Calne S, et al.** Botulinum toxin A as treatment for drooling saliva in PD. *Neurology* 2000; 54: 244-247.
- [124] **Brin MF, Lyons KE, Doucette J, et al.** A randomized, double masked, controlled trial of botulinum toxin type A in essential hand tremor. *Neurology* 2001; 56: 1523-1528.
- [125] **Göbel H, Heinze A, Heinze-Kuhn K, et al.** Evidence-based medicine: botulinum toxin A in migraine and tension-type headache. *Journal of Neurology* 2001; 248 (1); 34-38.
- [126] **Naumann M, Jost WH, Toyka KV.** Botulinum toxin in the treatment of neurological disorders of the autonomic nervous system. *Archives of Neurology* 1999; 56: 914-916.
- [127] **Jost WH, Kohl A.** Botulinum toxin: evidence-based medicine criteria in rare indications. *Journal of Neurology* 2001; 248 (1); 39-44.
- [128] **Münchau A, Bhatia KP.** Uses of botulinum toxin injection in medicine today. *BMJ* 2000; 320: 161-165.
- [129] **Ward AB.** Spasticity treatment with botulinum toxins. *Journal of Neural Transmission* 2008; 115: 607-616.

- [130] **Laskawi R, Drobik C.** Botulinumtoxintherapie beim idiopathischen Torticollis spasmodicus. *Oto-Rhino-Laryngologia Nova* 1993; 3: 257-262.
- [131] **Brehmer F, Lockmann A, Grönemeyer L-L, et al.** Repetitive injections of botulinum toxin A continuously increase the duration of efficacy in primary axillary hyperhidrosis: a retrospective analysis in 101 patients. *Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft = Journal of the German Society of Dermatology: JDDG* 2015; 13: 799-805.
- [132] **Lecouflet M, Leux C, Fenot M, et al.** Duration of efficacy increases with the repetition of botulinum toxin A injections in primary axillary hyperhidrosis: a study in 83 patients. *Journal of the American Academy of Dermatology* 2013; 69: 960-964.
- [133] **Sommer B, Sattler G.** Botulinumtoxin in der Ästhetischen Medizin 2006. 3. Auflage, Stuttgart: Thieme.
- [134] **Laskawi R.** Therapeutic use of botulinum toxin in otorhinolaryngology: Treatment of movement disorders of mimetic muscles. *HNO* 1998; 46: 281-287.
- [135] **Francisco GE.** Botulinum toxin: dosing and dilution. *American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation* 2004; 83: 30-37.
- [136] **Pathak MS, Nguyen HT, Graham HK, et al.** Management of spasticity in adults: practical application of botulinum toxin. *European Journal of Neurology* 2006; 13 (1): 42-50.
- [137] **Dressler D, Benecke R.** Antikörpervermitteltes Versagen der Botulinumtoxin-Therapie. In Laskawi R, Roggenkämper P (Hrsg.): *Botulinumtoxin-Therapie im Kopf-Hals-Bereich* 2004, Ausgabe 1.2, München: Urban & Vogel; 8-70.
- [138] **Hallett M, Benecke R, Blitzer A, et al.** Treatment of focal dystonias with botulinum neurotoxin. *Toxicon: Official Journal of the International Society on Toxinology* 2009; 54: 628-633.
- [139] **Dressler D, Benecke R.** Autonomic side effects of botulinum toxin type B treatment of cervical dystonia and hyperhidrosis. *European Neurology* 2003; 49: 34-38.
- [140] **Benecke R, Jost WH, Kanovsky P, et al.** A new botulinum toxin type A free of complexing proteins for treatment of cervical dystonia. *Neurology* 2005; 64: 1949-1951.
- [141] **Dressler D, Saberi FA, Kollwe K, et al.** Safety aspects of incobotulinumtoxinA high-dose therapy. *Journal of Neural Transmission* 2015; 122: 327-333.
- [142] **Blitzer A.** Botulinum toxin A and B: a comparative dosing study for spasmodic dysphonia. *Otolaryngology - Head and Neck Surgery*; 133: 836-838.
- [143] **Tedroff K, Befrits G, Tedroff CJ, et al.** To switch from Botox to Dysport in children with CP, a real world, dose conversion, cost-effectiveness study. *European journal of paediatric neurology: EJPN: official journal of the European Paediatric Neurology Society* 2018; 22: 412-418.
- [144] **Hexsel D, Soirefmann M, Porto MD, et al.** Fields of muscular and anhidrotic effects of 2 botulinum toxin-A commercial preparations: a prospective, double-blind, randomized, multicenter study. *Dermatologic Surgery: Official Publication for American Society for Dermatologic Surgery [et Al.]* 2015; 41 (1): 110-118.
- [145] **Fabbri M, Leodori G, Fernandes RM, et al.** Neutralizing Antibody and Botulinum Toxin Therapy: A Systematic Review and Meta-analysis. *Neurotoxicity Research* 2016; 29: 105-117.
- [146] **Naumann M, Jankovic J.** Safety of botulinum toxin type A: a systematic review and meta-analysis. *Current Medical Research and Opinion* 2004; 20: 981-990.
- [147] **Shaari CM, Sanders I.** Quantifying how location and dose of botulinum toxin injections affect muscle paralysis. *Muscle Nerve* 1993; 16: 964-969.
- [148] **Cohen JL, Scuderi N.** Safety and Patient Satisfaction of AbobotulinumtoxinA for Aesthetic Use: A Systematic Review. *Aesthetic Surgery Journal* 2017; 37: 32-44.
- [149] **Kerscher M, Rzany B, Prager W, et al.** Efficacy and Safety of IncobotulinumtoxinA

- in the Treatment of Upper Facial Lines: Results from a Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Phase III Study. *Dermatologic Surgery: Official Publication for American Society for Dermatologic Surgery [et Al.]* 2015; 41: 1149-1157.
- [150] **Benecke R, Dressler D.** Antikörpervermitteltes Versagen der Botulinumtoxin-Therapie. In Laskawi R, Roggenkämper P (Hrsg.), *Botulinumtoxin-Therapie im Kopf-Hals-Bereich* 2004, Ausgabe 1.2, München: Urban & Vogel; 211-245.
- [151] **Hagenah R, Benecke R, Wiegand H** Effects of type A botulinum toxin on the cholinergic transmission at spinal Renshaw cells and on the inhibitory action at Ia inhibitory interneurons 1977. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*; 299: 267-272.
- [152] **Dressler D.** Botulinum toxin for treatment of dystonia. *European Journal of Neurology* 2010; 17 (1): 88-96.
- [153] **Brin MF, Comella CL, Jankovic J, et al.** Long-term treatment with botulinum toxin type A in cervical dystonia has low immunogenicity by mouse protection assay. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society* 2008; 23: 1353-1360.
- [154] **Dobryansky M, Korsh J, Shen AE, et al.** Botulinum toxin type A and B primary resistance. *Aesthetic Surgery Journal* 2015; 35: 28-30.
- [155] **Pirazzini M, Carle S, Barth H, et al.** Primary resistance of human patients to botulinum neurotoxins A and B. *Annals of Clinical and Translational Neurology* 2018; 5: 971-975.
- [156] **Samotus O, Lee J, Jog M.** Personalized botulinum toxin type A therapy for cervical dystonia based on kinematic guidance. *Journal of Neurology* 2018; 265: 1269-1278.
- [157] **Jinnah HA, Comella CL, Perlmuter J, et al.** Longitudinal studies of botulinum toxin in cervical dystonia: Why do patients discontinue therapy? *Toxicon: Official Journal of the International Society on Toxinology* 2018; 147: 89-95.
- [158] **Stephan F, Habre M, Tomb R.** Clinical resistance to three types of botulinum toxin type A in aesthetic medicine. *Journal of Cosmetic Dermatology* 2014; 13: 346-348.
- [159] **Jankovic J, Schwartz K.** Response and immunoresistance to botulinum toxin injections. *Neurology* 1995; 45: 1743-1746.
- [160] **Dressler D.** Clinical presentation and management of antibody-induced failure of botulinum toxin therapy. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society* 2004; 19 (8): 92-100.
- [161] **Dressler D, Bigalke H, Benecke R.** Botulinum toxin type B in antibody-induced botulinum toxin type A therapy failure. *Journal of Neurology* 2003; 250: 967-969.
- [162] **Fessler B.** Sekundäres Therapieversagen auf BTX - nicht immer sind neutralisierende Antikörper schuld. *DNP - Der Neurologe & Psychiater* 2017; 18: 19.
- [163] **Albrecht P, Jansen A, Lee J-I, et al.** High prevalence of neutralizing antibodies after long-term botulinum neurotoxin therapy. *Neurology* 2019; 92: 48-54.
- [164] **Dressler D, et al.** Botulinum toxin therapy: Risk factors for therapy failure. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society* 2000; 15 (2): 51.
- [165] **Dressler D, Hallett M.** Immunological aspects of Botox, Dysport and Myobloc/NeuroBloc. *European Journal of Neurology* 2006; 13 (1): 11-15.
- [166] **Jankovic J.** Treatment of dystonia. *The Lancet. Neurology* 2006; 5: 864-872.
- [167] **Neychev VK, Fan X, Mitev VI, et al.** The basal ganglia and cerebellum interact in the expression of dystonic movement. *Brain: A Journal of Neurology* 2008; 131: 2499-2509.
- [168] **Klein C, Fahn S.** Translation of Oppenheim's 1911 paper on dystonia. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society* 2013; 28: 851-862.
- [169] **Geyer HL, Bressman SB.** The diagnosis of dystonia. *The Lancet. Neurology* 2006; 5: 780-790.

- [170] **Ferreira JJ, Costa J, Coelho M, et al.** The management of cervical dystonia. *Expert Opinion on Pharmacotherapy* 2007; 8: 129-140.
- [171] **Shanker V, Bressman SB.** What's new in dystonia? *Current Neurology and Neuroscience Reports* 2009; 9: 278-284.
- [172] **Gleixner C, Mükker M, Wirth S.** Dystone Syndrome. In Gleixner C Müller M Wirth S (Hrgs): *Neurologie und Psychiatrie: Für Studium und Praxis* 1997, Band 1, Breisach: Medizinische Verlags- und Informationsdienste; 82-84.
- [173] **Schmidt A, Klein C.** The role of genes in causing dystonia. *European Journal of Neurology* 2010; 17 (1): 65-70.
- [174] **Comella CL, Jankovic J, Brin MF.** Use of botulinum toxin type A in the treatment of cervical dystonia. *Neurology* 2000; 55: 15-21.
- [175] **Schulze-Bonhage A, Ferbert A.** Spasmus facialis: Aktuelle Aspekte der operativen und medikamentösen Therapie. *Deutsches Ärzteblatt* 2000; 97(47): 3184.
- [176] **Hefter H.** Aspects of the complexity of cervical dystonia. *Nervenarzt* 2008; 79 (1): 15-18.
- [177] **Kupsch A, Benecke R, Müller J, et al.** Pallidal deep-brain stimulation in primary generalized or segmental dystonia. *The New England Journal of Medicine* 2006; 355: 1978-1990.
- [178] **Vidailhet M, Vercueil L, Houeto J-L, et al.** Bilateral deep-brain stimulation of the globus pallidus in primary generalized dystonia. *The New England Journal of Medicine* 2005; 352: 459-467.
- [179] **Isaias IU, Alterman RL, Tagliati M.** Deep brain stimulation for primary generalized dystonia: long-term outcomes. *Archives of Neurology* 2009; 66: 465-470.
- [180] **Isaias IU, Volkmann J, Kupsch A, et al.** Factors predicting protracted improvement after pallidal DBS for primary dystonia: the role of age and disease duration. *Journal of Neurology* 2011; 258: 1469-1476.
- [181] **Schrader C, Benecke R, Deuschl G, et al.** Deep brain stimulation for dystonia. Consensus recommendations of the German Deep Brain Stimulation Association. *Nervenarzt* 2009; 80: 656-661.
- [182] **Isaias IU, Alterman RL, Tagliati M.** Outcome predictors of pallidal stimulation in patients with primary dystonia: the role of disease duration. *Brain: A Journal of Neurology* 2008; 131: 1895-1902.
- [183] **Lance JW.** The control of muscle tone, reflexes, and movement: Robert Wartenberg Lecture. *Neurology* 1980; 30: 1303-1313.
- [184] **Burke D.** Spasticity as an adaptation to pyramidal tract injury. *Advances in Neurology* 1988; 47: 401-423.
- [185] **Dietz V, Sinkjaer T.** Spastic movement disorder: impaired reflex function and altered muscle mechanics. *The Lancet. Neurology* 2007; 6: 725-733.
- [186] **Young RR.** Spasticity: a review. *Neurology* 1994; 44: 12-20.
- [187] **Hufschmidt A, Mauritz KH.** Chronic transformation of muscle in spasticity: a peripheral contribution to increased tone. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 1985; 48: 676-685.
- [188] **Pandyan AD, Gregoric M, Barnes MP, et al.** Spasticity: clinical perceptions, neurological realities and meaningful measurement. *Disability and Rehabilitation* 2005; 27: 2-6.
- [189] **Lieber RL, Steinman S, Barash IA, et al.** Structural and functional changes in spastic skeletal muscle. *Muscle Nerve* 2004; 29: 615-627.
- [190] **O'Dwyer NJ, Ada L, Neilson PD.** Spasticity and muscle contracture following stroke. *Brain: A Journal of Neurology* 1996; 119 (5): 1737-1749.
- [191] **Sheean G.** Botulinum toxin treatment of adult spasticity: a benefit-risk assessment. *Drug Safety* 2006; 29: 31-48.

- [192] **Bakheit AMO, Fedorova NV, Skoromets AA, et al.** The beneficial antispasticity effect of botulinum toxin type A is maintained after repeated treatment cycles. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 2004; 75: 1558-1561.
- [193] **Kolominsky-Rabas PL, Sarti C, Heuschmann PU, et al.** A prospective community-based study of stroke in Germany--the Erlangen Stroke Project (ESPro): incidence and case fatality at 1, 3, and 12 months. *Stroke* 1998; 29: 2501-2506.
- [194] **Robert Koch-Institut, Destatis.** Gesundheitsberichterstattung des Bundes. Gesundheit in Deutschland 2015; 44.
- [195] **Foerch C, Misselwitz B, Sitzer M, et al.** The Projected Burden of Stroke in the German Federal State of Hesse Up to the Year 2050. *Deutsches Ärzteblatt International* 2008; 105: 467-473.
- [196] **Urban PP, Wolf T, Uebele M, et al.** Occurrence and clinical predictors of spasticity after ischemic stroke. *Stroke* 2010; 41: 2016-2020.
- [197] **Sommerfeld DK, Eek EU-B, Svensson A-K, et al.** Spasticity after stroke: its occurrence and association with motor impairments and activity limitations. *Stroke* 2004; 35: 134-139.
- [198] **Watkins CL, Leathley MJ, Gregson JM, et al.** Prevalence of spasticity post stroke. *Clinical Rehabilitation* 2002; 16: 515-522.
- [199] **Lundström E, Smits A, Terént A, et al.** Time-course and determinants of spasticity during the first six months following first-ever stroke. *Journal of Rehabilitation Medicine* 2010; 42: 296-301.
- [200] **Kirschner J, Berweck S, Mall V, et al.** Botulinum toxin treatment in cerebral palsy: evidence for a new treatment option. *Journal of Neurology* 2001; 248 (1): 28-30.
- [201] **Hefter H, Jost WH, Reissig A, et al.** Classification of posture in poststroke upper limb spasticity: a potential decision tool for botulinum toxin A treatment? *International Journal of Rehabilitation Research. Internationale Zeitschrift Für Rehabilitationsforschung. Revue Internationale De Recherches De Readaptation* 2012; 35: 227-233.
- [202] **Wissel J, Ward AB, Erztgaard P, et al.** European consensus table on the use of botulinum toxin type A in adult spasticity. *Journal of Rehabilitation Medicine* 2009; 41: 13-25.
- [203] **Koog YH, Jin SS, Yoon K, et al.** Interventions for hemiplegic shoulder pain: systematic review of randomised controlled trials. *Disability and Rehabilitation* 2010; 32: 282-291.
- [204] **Ada L, Canning CG, Low S-L.** Stroke patients have selective muscle weakness in shortened range. *Brain: A Journal of Neurology* 2003; 126: 724-731.
- [205] **Corston RN, Johnson F, Godwin-Austen RB.** The assessment of drug treatment of spastic gait. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 1981; 44: 1035-1039.
- [206] **Lapierre Y, Bouchard S, Tansey C, et al.** Treatment of spasticity with tizanidine in multiple sclerosis. *The Canadian Journal of Neurological Sciences. Le Journal Canadien des Sciences Neurologiques.* 1987; 14: 513-517.
- [207] **Duncan GW, Shahani BT, Young RR.** An evaluation of baclofen treatment for certain symptoms in patients with spinal cord lesions. A double-blind, cross-over study. *Neurology* 1976; 26: 441-446.
- [208] **Stien R, Nordal HJ, Oftedal SI, et al.** The treatment of spasticity in multiple sclerosis: a double-blind clinical trial of a new anti-spastic drug tizanidine compared with baclofen. *Acta Neurologica Scandinavica* 1987; 75: 190-194.
- [209] **Bass B, Weinshenker B, Rice GP, et al.** Tizanidine versus baclofen in the treatment of spasticity in patients with multiple sclerosis. *The Canadian Journal of Neurological Sciences. Le Journal Canadien des Sciences Neurologiques* 1988; 15: 15-19.
- [210] **Noth J.** Trends in the pathophysiology and pharmacotherapy of spasticity. *Journal of*

- Neurology* 1991; 238: 131-139.
- [211] **Montané E, Vallano A, Laporte JR.** Oral antispastic drugs in nonprogressive neurologic diseases: a systematic review. *Neurology* 2004; 63: 1357-1363.
 - [212] **Taricco M, Pagliacci MC, Telaro E, et al.** Pharmacological interventions for spasticity following spinal cord injury: results of a Cochrane systematic review. *Europa Medicophysica* 2006; 42: 5-15.
 - [213] **Lakhan SE, Rowland M.** Whole plant cannabis extracts in the treatment of spasticity in multiple sclerosis: a systematic review. *BMC neurology* 2009; 9: 59.
 - [214] **Olvey EL, Armstrong EP, Grizzle AJ.** Contemporary pharmacologic treatments for spasticity of the upper limb after stroke: a systematic review. *Clinical Therapeutics* 2010; 32: 2282-2303.
 - [215] **Wade DT, Collin C, Stott C, et al.** Meta-analysis of the efficacy and safety of Sativex (nabiximols), on spasticity in people with multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)* 2010; 16: 707-714.
 - [216] **Motta F, Buonaguro V, Stignani C.** The use of intrathecal baclofen pump implants in children and adolescents: safety and complications in 200 consecutive cases. *Journal of Neurosurgery* 2007; 107: 32-35.
 - [217] **Stetkarova I, Yablon SA, Kofler M, et al.** Procedure- and device-related complications of intrathecal baclofen administration for management of adult muscle hypertonia: a review. *Neurorehabil Neural Repair* 2010; 24: 609-619.
 - [218] **Zdolsek HA, Olesch C, Antolovich G, et al.** Intrathecal baclofen therapy: benefits and complications. *Journal of Intellectual & Developmental Disability* 2011; 36: 207-213.
 - [219] **Parke B, Penn RD, Savoy SM, et al.** Functional outcome after delivery of intrathecal baclofen. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation* 1989; 70: 30-32.
 - [220] **Van Kuijk AA, Geurts ACH, Bevaart BJW, et al.** Treatment of upper extremity spasticity in stroke patients by focal neuronal or neuromuscular blockade: a systematic review of the literature. *Journal of Rehabilitation Medicine* 2002; 34: 51-61.
 - [221] **Kanovský P, Slawek J, Denes Z, et al.** Efficacy and safety of botulinum neurotoxin NT 201 in poststroke upper limb spasticity. *Clinical Neuropharmacology* 2009; 32: 259-265.
 - [222] **Simpson DM, Gracies J-M, Graham HK, et al.** Assessment: Botulinum neurotoxin for the treatment of spasticity (an evidence-based review): report of the Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 2008; 70: 1691-1698.
 - [223] **Simpson DM, Gracies JM, Yablon SA, et al.** Botulinum neurotoxin versus tizanidine in upper limb spasticity: a placebo-controlled study. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 2009; 80: 380-385.
 - [224] **Kaňovský P, Slawek J, Denes Z, et al.** Efficacy and safety of treatment with incobotulinum toxin A (botulinum neurotoxin type A free from complexing proteins; NT 201) in post-stroke upper limb spasticity. *Journal of Rehabilitation Medicine* 2011; 43: 486-492.
 - [225] **Pittock SJ, Moore AP, Hardiman O, et al.** A double-blind randomised placebo-controlled evaluation of three doses of botulinum toxin type A (Dysport) in the treatment of spastic equinovarus deformity after stroke. *Cerebrovascular Diseases (Basel, Switzerland)* 2003; 15: 289-300.
 - [226] **Wissel J, Müller J, Dressnandt J, et al.** Management of spasticity associated pain with botulinum toxin A. *Journal of Pain and Symptom Management* 2000; 20: 44-49.
 - [227] **Lim J-Y, Koh J-H, Paik N-J.** Intramuscular botulinum toxin-A reduces hemiplegic shoulder pain: a randomized, double-blind, comparative study versus intraarticular triamcinolone acetonide. *Stroke* 2008; 39: 126-131.
 - [228] **Yelnik AP, Colle FM, Bonan IV, et al.** Treatment of shoulder pain in spastic

- hemiplegia by reducing spasticity of the subscapular muscle: a randomised, double blind, placebo controlled study of botulinum toxin A. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 2007; 78: 845-848.
- [229] **Giovannelli M, Borriello G, Castri P, et al.** Early physiotherapy after injection of botulinum toxin increases the beneficial effects on spasticity in patients with multiple sclerosis. *Clinical Rehabilitation* 2007; 21: 331-337.
- [230] **Hesse S, Jahnke MT, Luecke D, et al.** Short-term electrical stimulation enhances the effectiveness of Botulinum toxin in the treatment of lower limb spasticity in hemiparetic patients. *Neuroscience Letters* 1995; 201: 37-40.
- [231] **Hesse S, Reiter F, Konrad M, et al.** Botulinum toxin type A and short-term electrical stimulation in the treatment of upper limb flexor spasticity after stroke: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clinical Rehabilitation* 1998; 12: 381-388.
- [232] **Karadag-Saygi E, Cubukcu-Aydoseli K, Kablan N, et al.** The role of kinesiotaping combined with botulinum toxin to reduce plantar flexors spasticity after stroke. *Topics in Stroke Rehabilitation* 2010; 17: 318-322.
- [233] **Müller K, Mix E, Adib Saberi F, et al.** Prevalence of neutralising antibodies in patients treated with botulinum toxin type A for spasticity. *Journal of Neural Transmission* 2009; 116: 579-585.
- [234] **Benecke R.** Xeomin in the treatment of cervical dystonia. *European Journal of Neurology* 2009; 16 (2): 6-10.
- [235] **Comella CL, Jankovic J, Shannon KM, et al.** Comparison of botulinum toxin serotypes A and B for the treatment of cervical dystonia. *Neurology* 2005; 65: 1423-1429.
- [236] **Universität Zürich.** www.methodenberatung.uzh.ch
- [237] **Hefter H, Rosenthal D, Moll M.** High Botulinum Toxin-Neutralizing Antibody Prevalence Under Long-Term Cervical Dystonia Treatment. *Movement Disorders Clinical Practice* 2016; 3: 500-506.
- [238] **Metha CR, Patel NR.** FEXACT: A Fortran subroutine for Fisher's exact test on unordered $r \times c$ contingency tables. *ACM Transactions on Mathematical Software*. 12th ed. 1986.
- [239] **Hemmerich, W.** StatistikGuru: Rechner zur Adjustierung des α Niveaus. Von <https://statistikguru.de/rechner/adjustierung-des-alphaniveaus.html>
- [240] **Hallett M, Albanese A, Dressler D, et al.** Evidence-based review and assessment of botulinum neurotoxin for the treatment of movement disorders. *Toxicon: Official Journal of the International Society on Toxinology* 2013; 67: 94-114.
- [241] **Greene P, Fahn S, Diamond B.** Development of resistance to botulinum toxin type A in patients with torticollis. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society* 1994; 9: 213-217.
- [242] **Frevert J, Dressler D.** Complexing proteins in botulinum toxin type A drugs: a help or a hindrance? *Biologics: Targets & Therapy* 2010; 4: 325-332.
- [243] **Naumann M, Carruthers A, Carruthers J, et al.** Meta-analysis of neutralizing antibody conversion with onabotulinumtoxinA (BOTOX®) across multiple indications. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society* 2010; 25: 2211-2218.
- [244] **Dressler D, Bigalke H.** Immunological aspects of botulinum toxin therapy. *Expert Review of Neurotherapeutics* 2017; 17: 487-494.
- [245] **Mathevon L, Declémy A, Laffont I, et al.** Immunogenicity induced by botulinum toxin injections for limb spasticity: A systematic review. *Annals of Physical and Rehabilitation Medicine* 2019; 62: 241-251.
- [246] **Hefter H, Hartmann C, Kahlen U, et al.** Prospective analysis of neutralising antibody titres in secondary non-responders under continuous treatment with a botulinumtoxin

- type A preparation free of complexing proteins--a single cohort 4-year follow-up study. *BMJ Open* 2012; 2.
- [247] **Hefter H, Brauns R, Ürer B, et al.** Effective long-term treatment with incobotulinumtoxin (Xeomin®) without neutralizing antibody induction: a monocentric, cross-sectional study. *Journal of Neurology* 2020; 267: 1340-1347.
 - [248] **Wissel J, Bensmail D, Ferreira JJ, et al.** Safety and efficacy of incobotulinumtoxinA doses up to 800 U in limb spasticity: The TOWER study. *Neurology* 2017; 88: 1321-1328.
 - [249] **Jochim A, Meindl T, Mantel T, et al.** Treatment of cervical dystonia with abo- and onabotulinumtoxinA: long-term safety and efficacy in daily clinical practice. *Journal of Neurology* 2019; 266: 1879-1886.
 - [250] **Kamm C, Schümann F, Mix E, et al.** Secondary antibody-induced treatment failure under therapy with incobotulinumtoxinA (Xeomin®) in a patient with segmental dystonia pretreated with abobotulinumtoxinA (Dysport®). *Journal of the Neurological Sciences* 2015; 350: 110-111.
 - [251] **Dressler D, Adib Saberi F, Bigalke H.** IncobotulinumtoxinA (Xeomin®) can produce antibody-induced therapy failure in a patient pretreated with abobotulinumtoxinA (Dysport®). *Journal of Neural Transmission* 2014; 121: 769-771.
 - [252] **Hefter H, Spiess C, Rosenthal D.** Very early reduction in efficacy of botulinum toxin therapy for cervical dystonia in patients with subsequent secondary treatment failure: a retrospective analysis. *Journal of Neural Transmission* 2014; 121: 513-519.
 - [253] **Dressler D, Saberi FA.** New formulation of Botox: complete antibody-induced treatment failure in cervical dystonia. *BMJ case reports* 2009; brc08.2008.0611
 - [254] **Van Donkersgoed J, Dubeski PL, Aalhus JL, et al.** The effect of vaccines and antimicrobials on the formation of injection site lesions in subprimals of experimentally injected beef calves. *The Canadian Veterinary Journal = La Revue Veterinaire Canadienne* 1999; 40: 245-251.
 - [255] **Vanderpooten A, Goddeeris B, De Roose P, et al.** Evaluation of parenteral vaccination methods with glycoproteins against Aujeszky's disease in pigs. *Veterinary Microbiology* 1997; 55: 81-89.
 - [256] **Alberty J, Wardelmann E.** Histomorphologic reaction patterns in cervical lymph nodes of different neck sites. *Lymphology* 2001; 34: 77-83.
 - [257] **Loutfy MR, Austin JW, Blanchfield B, et al.** An outbreak of foodborne botulism in Ontario. *The Canadian Journal of Infectious Diseases = Journal Canadien des Maladies Infectieuses* 2003; 14: 206-209.
 - [258] **Pellett S, Yaksh TL, Ramachandran R.** Current status and future directions of botulinum neurotoxins for targeting pain processing. *Toxins* 2015; 7: 4519-4563.
 - [259] **Jabbari B.** History of Botulinum Toxin Treatment in Movement Disorders. *Tremor and Other Hyperkinetic Movements (New York, N.Y.)* 2016; 6: 394.
 - [260] **Tsui JK, Eisen A, Mak E, et al.** A pilot study on the use of botulinum toxin in spasmodic torticollis. *The Canadian Journal of Neurological Sciences. Le Journal Canadien des Sciences Neurologiques* 1985; 12: 314-316.
 - [261] **Jankovic J, Orman J.** Botulinum A toxin for cranial-cervical dystonia: a double-blind, placebo-controlled study. *Neurology* 1987; 37: 616-623.
 - [262] **Yoshimura DM, Aminoff MJ, Olney RK.** Botulinum toxin therapy for limb dystonias. *Neurology* 1992; 42: 627-630.
 - [263] **Jankovic J, Schwartz K.** Botulinum toxin treatment of tremors. *Neurology* 1991; 41: 1185-1188.
 - [264] **Marras C, Andrews D, Sime E, et al.** Botulinum toxin for simple motor tics: a randomized, double-blind, controlled clinical trial. *Neurology* 2001; 56: 605-610.

- [265] **Shivam O, Machado D, Richardson B, et al.** Incobotulinum toxin A (Xeomin) for treatment of Parkinson tremor. A customized approach. *American Academy of Neurology* 2016; Abstract 11896.

10 Anhang

10.1 Lebenslauf

Persönliche Angaben

Name: **Christopher Lorenz Mühlenhoff**

Geboren am: 26.12.1990 in Trier

Staatsangehörigkeit: deutsch

Familienstand: ledig

Konfession: römisch-katholisch

Schulbildung

Grundschule: *1997 – 2001: Grundschule St. Nikolaus in Konz*

Gymnasium: *2001 – 2010: Gymnasium Konz*
(Allgemeine Hochschulreife im März 2010)

Hochschule: *April 2011 – Oktober 2011: Wirtschaftsmathematik*
(Universität Trier)

Oktober 2011 – Oktober 2012: Psychologie
(Universität Trier)

Oktober 2012 – Oktober 2014: Humanmedizin
(Universität Frankfurt am Main)

Oktober 2014 – November 2018: Humanmedizin
(Universität Rostock)

Wehrdienst:

Juni 2010- November 2010: Artillerieschule

Idar Oberstein

Ausbildung:

Rettungssanitäter:

November 2010 - Februar 2011

Ärztliche Prüfungen:

Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung: 15.09.2014

Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung: 12.10.2017

Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung: 21./ 22.11.2018

Praktisches Jahr:

- | | |
|--|--|
| 1. Tertial:
(20.11.2017 - 11.03.2018) | Krankenhaus der Augustinerinnen
Universität zu Köln, Fachbereich: Innere Medizin |
| 2. Tertial:
(12.03.2018 - 01.07.2018) | 1. Hälfte: RoMed Klinikum Bad Aibling
TU München, Fachbereich: Chirurgie

2. Hälfte: Krankenhaus der Barmherzigen Brüder Trier
Universität Mainz, Fachbereich: Chirurgie |
| 3. Tertial:
(02.07.2018 - 21.10.2018) | Universitätsmedizin Rostock
Universität Rostock, Fachbereich: Radiologie |

Famulaturen:

12.08.2015 - 10.09.2015:	Neurologie (Universitätsmedizin Rostock)
23.02.2015 - 20.03.2015:	Radiologie (Radiologische Gemeinschaftspraxis)
24.08.2016 - 09.09.2016:	Radiologie (MVZ der barmherzigen Brüder Trier)
25.07.2016 - 23.08.2016:	Chirurgie (Krankenhaus der Barmherzigen Brüder)
13.02.2017 - 14.03.2017:	Allgemeinmedizin (Dres. Pollert/Hamm, Konz)

Berufstätigkeit:

Seit April 2019:

Assistenzarzt in Weiterbildung in der Abteilung für
Allgemein-, Viszeral- und Gefäßchirurgie am
Krankenhaus der barmherzigen Brüder Trier

10.2 Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Ich versichere, das Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen und dass die vorgelegte Arbeit weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt wurde. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht.

Rostock, 01.12.2021 Christopher Lorenz Mühlenhoff