



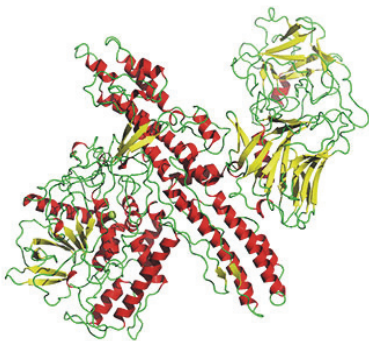
Данијела ЛУПОВИЋ, Јелена КОНСТАНТИНОВИЋ  
Хемијски факултет, Универзитет у Београду, Студентски трг 16, 11000  
Београд, Србија  
E-mail: danijela.lupovic@gmail.com, jelenakonstantinovic88@gmail.com

## БОТОКС – УПОТРЕБА И ЗЛОУПОТРЕБА

Ботулински токсин је изузетно отровна супстанца коју производи бактерија *Clostridium botulinum*. Делује на периферне нервне завршетке, блокирајући ослобађање неуротрансмитера ацетилхолина. Интересантан је по томе што може да изазове обољење (ботулизам), али и да служи за лечење многих болести (на пример, цервикална дистонија). У данашње време се користи у различитим козметичким процедурама. Прекомерна употреба изазива нежељене ефекте, а може довести до смрти.

### ШТА ЈЕ БОТОКС?

Ботокс је неуротоксични протеин, продукт бактерије *Clostridium botulinum*, и важи за један од најјачих познатих отрова и његова летална доза ( $LD_{50}$ ) износи приближно 0.005–0.05  $\mu\text{g}$  по килограму телесне тежине. Токсин је дволанчани протеин, масе 150 kDa, који се састоји од тешког ланца масе 100 kDa, који је дисулфидном везом спојен с лаким ланцем, масе 50 kDa (Слика 1). Лаки ланац је заправо ензим (протеаза) који има кључну улогу у механизму деловања овог неуротоксина. Упркос смртном ефекту, у веома малим дозама се користи за лечење мишићних спазма. Овај препарат, познат под трговачким називом *Botox*®, у данашње време се интензивно користи у различитим козметичким третманима.



Слика 1. Структура ботулинског неуротоксина

### КРАТАК ИСТОРИЈСКИ ПРЕГЛЕД

- Између 1817. и 1822., др Џ. Кернер (Justinus Kerper) описао је ботулински токсин (*botulinum toxin*) као „отров из кобасице” и спровео бројна истраживања и експерименте како би утврдио шта стоји иза смрти неколико Немаца који су се хранили контаминираним кобасицама. Испоставило се да је у питању био ботулизам.
- 1897. Емил ван Ерменгем (Emile van Ermengem) идентификовао је бактерију *Clostridium botulinum* која производи ботулински токсин.

- 1949. откривено је да ботулински токсин блокира неуротрансмитере.
- 1960. Алан Скот (Allan Scott) и Едвард Шанц (Edward Schantz) су били први који су радили на припреми ботулинског токсина за терапеутске сврхе.

### БАКТЕРИЈА *CLOSTRIDIUM BOTULINUM* КАО УЗРОК БОТУЛИЗМА

*Clostridium botulinum* је анаеробна, Грам позитивна и спорогена бактерија, штапићастог облика (Слика 2). Ова бактерија производи седам основних типова егзотоксина: А, В, С, D, Е, F и G. Сваки тип егзотоксина има специфичне антигенске карактеристике. Ботулизам човека изазивају типови егзотоксина А, В и Е, ређе тип F. Типови егзотоксина С и D узрокују болест код животиња, док је егзотоксин G познат као могући узрок синдрома изненадне смрти новорођене деце. Ботулизам је ретка, али озбиљна болест парализе мишића. Почетни симптоми су дупла слика, замућен, нејасан вид, отежан говор, промуклост и отежано гутање. Прогресивне мишићне слабости захватају скелетну мускулатуру, услед чега је кретање отежано, ход несигуран или потпуно онемогућен. Постоје три основне врсте ботулизма - „foodborne” ботулизам (проузрокован уносом хране која садржи ботулински токсин), ботулизам ране (проузрокован контаминацијом трауматизованог ткива спорама *Clostridium botulinum*) и ботулизам новорођенчета (јавља се код новорођене деце која се хране млеком у праху, које може бити контаминирано токсинима ове бактерије). Ова бактерија се може наћи у земљишту, као и у неправилно конзервираној храни. Осетљива је на промену температуре. Раст ове бактерије може бити потпуно спречен уколико се температура спусти испод 3°C. Осетљива је такође на повишену концентрацију соли и на ниске вредности pH. Док је сама бактерија отпорна на високим температурама, ботулински токсин кога она производи се брзо уништава загревањем.



Слика 2. Бактерија *Clostridium botulinum*

## МЕХАНИЗАМ ДЕЛОВАЊА БОТУЛИНСКОГ ТОКСИНА

### • Прва фаза – Везивање (Слика 3-а)

Везивање токсина за специфичне рецепторе на аксонима моторних неурона врши се преко тешког ланца.

### • Друга фаза – Уношење (Слика 3-б)

После везивања за рецепторе, токсин ендоцитозом улази у нервне ћелије, где се активира лаки ланац токсина (ензим – протеаза) који је у стању да напусти везикулу и уђе у цитоплазму, док тешки ланац и даље остаје унутар везикуле.

### • Трећа фаза – Блокирање (Слика 3-в)

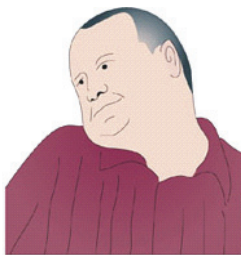
Лаки ланац врши протеолизу комплекса протеина (кога чине 3 протеина – SNAP-25, *Syntaxin* и *Syntaxin*), који иначе омогућава фузију везикула са ацетилхолином и мембране неурона, и на тај начин спречава ослобађање неуротрансмитера ацетилхолина у синаптичку пукотину и провођење нервних импулса. Нагомилавање ацетилхолина доводи до спречавања контракције скелетне мускулатуре и мускулатуре унутрашњих органа.

## УПОТРЕБА БОТУЛИНСКОГ ТОКСИНА

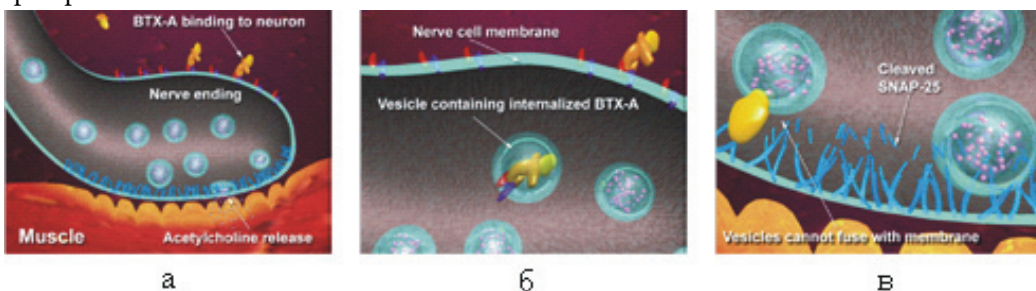
Ботулински токсин има врло разнолику примену. Користи се за лечење многих обољења, попут:

- цервикалне дистоније
- претераног знојења
- немогућности релаксације доњег езофагусног сфинктера
- спазми везаних за шлог, Паркинсонову болест, мултиплу склерозу и сл.
- спазме гласних жица
- спазме мишића вилице
- блефароспазме (неконтролисаног трептања)
- страбизма (разрокости)

Цервикална дистонија је обољење које карактеришу изузетно јаке контракције мишића главе и врата, које онда проузрокују неконтролисано грчење, као и неприродне положаје главе, односно увртање врата на једну или другу страну, а пратећи ефекти су и болови у тим подручјима (Слика 4). Поред јако добро познатог и широко распрострањеног токсина



Слика 4. Цервикална дистонија



Слика 3. Механизам деловања ботулинског токсина: а- прва фаза (везивање), б - друга фаза (уношење), в - трећа фаза (блокирање)

типа А (*Botulinum toxin type A*), који је још крајем 80-их година добио дозволу FDA (*Food and Drug Administration*) за лечење болести као што су блефароспазма, цервикална дистонија, претерано знојење, као и у козметичке сврхе, и *Botulinum toxin type B* већ десет година (од 11. децембра 2000.) има одобрење FDA за коришћење у лечењу цервикалне дистоније. Комерцијална имена овог препарата су *Myobloc* (у САД-у) и *Neurobloc* (у Европској Унији). Оба препарата делују на идентичан начин – блокирају ослобађање неуротрансмитера, што води опуштању мишића услед немогућности контракције. Међутим, излечење није дугог века. Третман ботоксом заправо само олакшава болове у трајању од пар месеци, након чега се мишићна активност враћа.

У данашње време популарна је употреба ботулинског токсина за смањење бора. Овом третману се највише подвргавају подручја око очију, између обрва, на челу, врату и око усана (Слика 5). Третман подразумева убризгавање веома малих доза ботулинског токсина у виду инјекције која се даје директно у мишиће тог подручја и делује тако што их опушта или парализује, као последица блокирања нерава који омогућају контракцију датих мишића. Како је појава бора управо резултат контракције мишића лица, када је ова контракција онемогућена, и боре се ублажавају или потпуно ишчезавају.



Слика 5. Подручја која се највише подвргавају третману ботоксом.

*Botox*® (*Botulinum Toxin Type A*) је производ ферментације бактерије *Clostridium botulinum*, која расте на подлози која садржи хидролизат казеина, глукозу и екстракт квасца. Из раствора се пречишћава дијализом, при чему се добијени комплекс састоји из неуротоксина и неколико других протеина. Комплекс се раствара у стерилном натријум-хлориду, који садржи хумани серум албумин, затим се профильтрира и упарава на вакууму. Доза ботокса која је доступна за употребу изражава се у јединицама биолошке активности (U). Једна јединица токсина одговара израчунатој леталној дози LD<sub>50</sub> (одређена за женку миша). Варијације у процедури за одређивање LD<sub>50</sub> као последицу имају различите ефекте токсина произведених од стране различитих



тих произвођача. Свака ампула садржи 100 јединица (U) комплекса неуротоксина, 0,5 mg хуманог серума албумина и 0,9 mg стерилног натријум-хлорида.

Ефекат ботокса је видљив након 3 до 7 дана, а траје углавном 3 до 4 месеца (Слика 6). Ефекат постепено опада како се мишићна активност враћа. Ботокс има мањи ефекат на затезање коже око уста, јер је мишићна активност у овом подручју неопходна за говор и жвакање.



Слика 6. Ефекат деловања ботокса

## ЗЛОУПОТРЕБА БОТУЛИНСКОГ ТОКСИНА

Ипак, не сме се изгубити из вида да је ботокс токсин, да има штетне ефекте и да се већ увелико погрешно употребљава, па чак и злоупотребљава. Под злоупотребом ботокса подразумева се свако прекомерно коришћење овог „козметичког препарата”, односно, континуално примање инјекција, чак и онда када оне нису потребне, или док још увек није прошло довољно времена између два третмана (Слика 7). Последице овакве употребе ботокса су, свакако, пластичан изглед лица, немогућност померања мишића ока и чеља, спуштени капци, као и отежано гутање и немогућност дисања.



Слика 7. Злоупотреба ботокса

Међутим, последице употребе ботокса у козметичке сврхе нису ни изблиза тако велике као у случајевима када се ботокс користи за лечење различитих врста обољења. Иако су одређене врсте овог неуротоксина добиле дозволу од стране FDA, и у овим случајевима, прекомерна и неконтролисана употреба води ризицима и нежељеним ефектима. Такође, у данашње време, ботокс се све више користи и за третман обољења, за која овај препарат није добио дозволу да буде коришћен. То је и потврђено озбиљним проблемима који су уследили код пацијената, а који су довели, у не тако малом броју случајева, и до смрти. Оно до чега долази је заправо ширење ботулинског токсина кроз тело и

ван оног места где је инјекција убризгана последица је добро познати ботулизам. Најозбиљнији случајеви су се јавили код деце млађе од 12 година, која су подвргнута лечењу обољења церебралне парализе (која има за последицу грчење мишића ногу и руку), где су неки од пацијената морали да буду хоспитализовани и прикључени на апарате за дисање, а у неким случајевима је дошло и до смрти. Ботулизам се такође јавио и код одраслих пацијената који су подвргнути различитим врстама лечења, коришћењем ботулинског токсина. Међутим, овде није долазило до тако озбиљних проблема као што је то био случај код деце. Оно што је карактеристично и за једне, и за друге, јесте појава нежељених ефеката далеко од места примене, и укључивало је слабост и укоченост доњих екстремитета.

У појединим земљама, као што је на пример Велика Британија, у којој је неконтролисана примена и злоупотреба ботокса узела маха, донесен је пропис према коме лекар мора да прегледа сваког потенцијалног примаоца ботокса и да изда потврду да пацијент сме да прими ботокс и то од стране особе која је за то стручно обучена. Један од разлога за такви одлуку Медицинског конзилијума су tzv. „ботокс журке”, које су у последње време веома популарне у Великој Британији, на којима су особе без лиценце убризгавале ботокс, чак и пијаним пацијентима.

### ABSTRACT

### BOTOX AS THE MEDICATION. USAGE AND ABUSE.

Danijela LUPOVIĆ, Jelena KONSTANTINOVIĆ

Botulinum toxin is a neurotoxic protein, produced by bacterium *Clostridium botulinum*. This toxin specifically cleaves the SNAP-25 protein, required for vesicle fusion, that releases neurotransmitters from the axon endings (in particular acetylcholine). Although botulinum toxin is a lethal naturally occurring substance, it can be used as an effective and powerful medication, in the treatment of different types of spasms and dystonias, and also in cosmetics, but potential side effects do exist. Commercially it is known as Botox®.

### ЛИТЕРАТУРА

1. М. Божић, Љ. Докић, С. Николић, М. Павловић, М. Шашић, „Инфективне болести”, Медицински факултет Универзитета у Београду, СІВІД, 2007.
2. J. Bali, R. Thakur, *Poison as cure: A clinical review of botulinum toxin as an invaluable drug*, J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis., 2005, 11, 4, p. 412-421.
3. [http://en.wikipedia.org/wiki/Botulinum\\_toxin](http://en.wikipedia.org/wiki/Botulinum_toxin)
4. Lacy, D. B., Tepp, W., Cohen, A. C., DasGupta, B. R., Stevens, R. C. Crystal structure of botulinum neurotoxin type A and implications for toxicity Nat. Struct. Mol. Biol. 1998, 5, 898- 902.
5. Verderio, C., Rossetto, O., Grumelli, C., Frassoni, C., Montecucco, C., and Matteoli, M. Entering neurons: Botulinum toxins and synaptic vesicle recycling EMBO Rep. 2006, 7, 995- 999.