

ПРЕПАРАТИ, СЪДЪРЖАЩИ БОТУЛИНОВ НЕВРОТОКСИН, И ПРИЛОЖЕНИЕТО ИМ ЗА ЕСТЕТИЧЕСКИ ЦЕЛИ (ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР)

Нели Ерменлиева¹, Цветелина Костадинова², Емилия Георгиева²,
Хилял Мехмед³, Вергиния Асенова³, Теодора Янакиева³, Габриела Цанкова¹,
Даяна Цанкова⁴, Татина Тодорова¹

¹Катедра „Предклинични и клинични науки”, Медицински университет - Варна

²УНС „Медицински лаборант”, Медицински колеж - Варна

³Студент, специалност „Медицински лаборант”, Медицински колеж - Варна

⁴Студент, специалност „Дентална медицина”, Медицински университет - Варна

BOTULINUM NEUROTOXIN PREPARATIONS AND THEIR APPLICATION FOR COSMETIC PURPOSES (REVIEW)

Neli Ermenlieva¹, Tsvetelina Kostadinova², Emiliya Georgieva², Hilyal Mehmed³,
Verginiya Asenova³, Teodora Yanakieva³, Gabriela Tsankova¹, Dayana Tsankova⁴,
Tatina Todorova¹

¹Department of Preclinical and Clinical Sciences, Faculty of Medicine,
Medical University of Varna

²TRS Medical Laboratory Assistant, Medical College, Medical University of Varna

³Student, TRS Medical Laboratory Assistant, Medical College, Medical University of Varna

⁴Student, Faculty of Dental Medicine, Medical University of Varna

РЕЗЮМЕ

Ботулиновият токсин е една от най-токсичните биологични субстанции, известно на човечеството. Представлява невротоксин, продуциран от бактерии от род *Clostridium*, причиняващи заболяването ботулизъм.

Появата на бръчки по лицето се дължи не само на стареене на кожата. Някои бръчки и неестетически изражения на лицето са резултат от свръхактивност на лицевата мускулатура. Успехът в приложението на BoNT като селективен депресор на активността на скелетната мускулатура води до широкото му приложение при изглаждането на бръчки.

На световния пазар съществува разнообразие от продукти, съдържащи BoNT за козметично приложение, които са получили одобрение от регулаторните органи или са в процес на разработка. Към момента Botox® дава дял от 85% от световния пазар на продукти, съдържащи BoNT. Други продукти на световния пазар или с по-ограничено приложение са Dysport®, Xeomin®, Myobloc®, Prosigne® и други.

ABSTRACT

Botulinum (BoNT) toxin is one of the most toxic biological substance known to mankind. It represents a neurotoxin produced by bacteria of the genus *Clostridium* and causes botulism.

The appearance of facial wrinkles is mainly due to the aging of the skin but some wrinkles and unaesthetic facial expressions are a result of overactive facial muscles. Success in application of BoNT as a selective depressor of the activity of skeletal muscles leads to a widespread use in smoothing wrinkles.

On the world market there is a variety of products containing BoNT for cosmetic purposes, which have received regulatory approval or are under development. Currently Botox® has a share of 85% of the global market of products containing BoNT. Other products on the world market but with a limited application are Dysport®, Xeomin®, Myobloc®, Prosigne® and others.

According to several studies, the application of BoNT is described by high efficiency and safety. Side effects are rare and reversible. The most serious adverse effects are temporary weakness (paralysis of

По данни на редица изследвания приложение то на BoNT се отличава с висока ефективност и безопасност. Нежеланите ефекти са рядкост и са обратими. Най-сериозните неблагоприятни ефекти са временна слабост (парализа на близката мускулатура), временна птоза на горния клепач или челото (1-3% от пациентите).

Паралитичният ефект след инжектиране с BoNT е със средна продължителност три месеца. За поддържане на ефективността са необходими допълнителни приеми на BoNT- препарат на равни интервали.

ВЪВЕДЕНИЕ

Ботулинов токсин е най-токсичното биологично вещество, известно на човечеството. Представлява невротоксин, продуциран от бактерии от род Clostridium, причиняващи заболяването ботулизъм. Ботулиновият невротоксин (BoNT) се среща в девет антигенно различни серотипа - А, В, С1, С2, D, Е, F, G (26) и Н (3). Действието им се изразява във възпрепятстване на невронната трансмисия, чрез блокиране освобождаването на ацетилхолин (главния невротрансмитер при невромускулната връзка), причинявайки мускулна парализа (26).

ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

Целта на разработката е да се представи приложението на BoNT в козметичната практика. За осъществяване на целта е представен обстоен преглед на предлаганите в световен мащаб препарати, съдържащи BoNT, процедурата по прилагането им, както и тяхната ефективност и безопасност.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Използван е документален метод, като е осъществена справка с над тридесет научни публикации от медицински издания от Европа, Северна Америка, Азия и други.

Исторически данни

Първите клинични приложения на BoNT-A е 1973 г., когато Алан Скот започва опити с маймуни и малко по-късно го прилага върху пациент за терапия на кривогледство (7, 14). Успехът в приложението на BoNT като селективен депресор на активността на скелетната мускулатура води до по-нататъшното му приложения при лечение на блефароспазм и лицев спазъм.

nearby muscles), temporary ptosis of the upper eyelid and forehead (1-3% of patients).

The paralytic effect after an injection of BoNT lasts approximately three months, thus requiring additional doses of BoNT at regular intervals to maintain the efficiency.

Keywords: botulinum neurotoxin, preparations containing botulinum neurotoxin, correction of wrinkles

През 1987 г. офталмологът Джийн Карутърс прилага BoNT в челото на пациент за терапия на блефароспазм. След процедурата ѝ прави впечатление заличаването на бръчките на пациента в периорбиталната област. Съпругът ѝ, дерматологът Алистър Карутърс, наблюдава същите изменения в свои пациенти, на които е прилагал BoNT за лечение (9, 14). Джийн Карутърс инжектира BoNT на своята рецепционистка за заличаване на глабеларни бръчки и така се осъществява първото използване на ботулинов токсин (BoNT-A) за естетически цели (14).

Високият профил на безопасност и впечатляващите резултати от козметичното приложение на BoNT довеждат до бързото му приемане и прилагане от лекари в целия свят (9).

Приложение на BoNT за немедицински козметични цели

През 2002 г. Американската агенция FDA (Food and Drug Administration) одобрява Botox Cosmetic[®] за козметично третиране на глабеларни бръчки. През същата година в САЩ приблизително 1,1-1,6 милиона пациенти използват препаратата за козметични цели (12). През 2014 година тази цифра е вече над 6,6 милиона души. Макар и потенциалът на BoNT за естетическа употреба да е открит случайно, той драстично променя пейзажа на лицевото подмладяване (14).

Появата на бръчки по лицето се дължи не само на стареене на кожата. Някои бръчки и неестетически изражения на лицето са резултат от свръхактивност на лицевата мускулатура. Инжектирането със строго контролирана доза BoNT обратимо парализира избраните мускулни групи, което инхибира прекомерните мускулни контракции, временно намалява активността им и води до видимо изглаждане на надлежащите бръчки (7). Мускулът е частично парализиран и нормалното движение се запазва.



Фигура 1. Функционална анатомия на лицето (29,30)

Легенда към Фигура 1: Лекарствени препарати, съдържащи ботулинов невротоксин

Доскоро употребата на BoNT е ограничавана предимно до коригиране на лицевата мускулатура на горната трета на лицето. Днес диапазо-

нът на приложението му се е разширил до корекция на линии, гънки и бръчки по цялото лице, брадичката, шията и гърдите, назолабиални гънки, медиално и латерално в челото, за намаляване на сенките под очите, изглаждане контура на челюстта и бузите (Фигура 1).

На световния пазар съществува разнообразие от продукти, съдържащи BoNT за козметично приложение, които са получили одобрение от регулаторните органи или са в процес на разработка.

Към момента Botox® дава дял от 85% от световния пазар на продукти, съдържащи BoNT и по-голямата част от научните рецензирани статии за BoNT (8).

Botox® и Dysport® са ботулинов токсин тип А препарати, но са доста различни един от друг по отношение на щама на бактериите, подготовка, дифузия и тестване на ефикасността. Наскоро е доказано, че единица Botox® е три пъти по-силна от единица Dysport® (27). За разлика Botox®, Dysport® може да се съхраняват при стайна температура (26).

Xeomin® съдържа BoNT-A и спецификата при него е, че е лишен от всички комплексни протеини. Съществуват редица проучвания, които имат за цел да представят разликите в безопасността и ефикасността между Botox® и Xeomin®. В действителност Xeomin® е без терапевтично излишни комплексни протеини, в по-чиста форма е, което предполага, че води до ефективен резултат с намален риск от сенсibiliзация или формиране на антитела (20). Въпреки това клиничната му значимост все още не е определена (33).

Мимически бръчки	Мускул	Действие
1. Бръчки на намръщването	Corrugator supercilii	Отпуска веждите медиално
	Procerus and depressor supercilii	Отпуска веждата
2. Хоризонтални челни бръчки	Frontalis	Повдига веждата
3. Бръчки тип „Crow’s feet” (пачи крак)	Lateral orbicularis oculi	Отпуска веждите латерално
4. Бръчки около веждите	Superior lateral orbicularis oculi	Отпуска веждите отгоре и латерално
5. Бръчки тип „Bunny lines” (заешка муцунка)	Nasalis	Движи носа, включително и медиално
6. Радиални бръчки около устата	Orbicularis oris	Набръква устните
7. Марионетни бръчки	Depressor anguli oris	Отпуска ъгълчетата на устата
8. “Gummy smile” и назолабиални бръчки	Levator labii superioris alaeque	Повдига централно устните
9. Бръчки на брадичката и „каменеста брадичка”	Mentalis	Изгражда брадичката и я повдига в по-ниската ѝ част

Легенда: 1, 7 – отпускащ мускул; 2, 5, 9 – повдигащ мускул; 3, 4, 6, 8 – свиващ мускул (30)

Таблица 1. Сравнителна характеристика на лекарствени препарати, съдържащи ботулинов невротоксин (1, 8, 18, 22, 23, 24, 26, 33)

A.	Onabotulinum-toxin A	Abobotulinum-toxin A	Incobotulinum-toxin A	Rimabotulinum-toxin B
Комерсиални имена	Botox [®] , Botox Cosmetic [®] , Vistabel [®] , Vistabex [®]	Dysport [®] , Reloxin [®] , Azzalure [®]	Xeomin [®] , Bocoture [®]	MyoBloc [®] , NeuroBloc [®]
Компания	Allergan Inc. (САЩ)	Medicis Pharmaceutical Corp. (САЩ) - Reloxin [®] ; Ipsen Biopharmaceuticals Inc. (Франция) - Dysport [®] , Azzalure [®]	Merz Pharmaceuticals (Германия)	Solstice Neurosciences Inc. (WorldMeds LLC) (САЩ)
Тип токсин	A	A	A	B
Активна субстанция (мол. тегло)	BoNT-A комплекс (900 kD)	BoNT-A комплекс (500-900 kD)	BoNT-A комплекс (150 kD), без комплексни протеини	BoNT-B комплекс (700 kD)
Индикации	Botox Cosmetic [®] - глабеларни линии; Botox [®] - блефароспазъм, цервикална дистония, страбизъм, хронична мигрена, хиперхидроза, уринарна инконтиненция	Блефароспазъм, цервикална дистония, глабеларни линии	Блефароспазъм, цервикална дистония, глабеларни линии	Цервикална дистония, глабеларни линии
Страни	Над 75 страни по целия свят, вкл. САЩ и Канада	Над 65 страни, вкл. САЩ, Канада, Русия	САЩ, Германия и други европейски страни, Мексико, Аржентина	САЩ, Германия и други европейски страни

Б.	CBTX-A	ВОНТА	Неуточнена
Комерсиални имена	Prosigne [®] , Lantox [®]	Neuronox [®]	PurTox [®]
Компания	Lanzhou Institute of Biological Products (Китай)	Medy-Tox Inc. (Южна Корея)	Mentor Worldwide LLC (САЩ)
Тип токсин	A	A	A
Активна субстанция (мол. тегло)	BoNT-A (900 kD)	BoNT-A (940 kD)	BoNT-A комплекс (150 kD), без комплексни протеини
Индикации	Блефароспазъм, цервикална дистония, глабеларни линии, хиперхидроза	Блефароспазъм	Проучват се
Страни	Над 10 страни, вкл. Китай; няма в САЩ и Канада	Южна Корея, Индия, Южна Америка, без САЩ и Канада	В САЩ е в фаза III на клинични проучвания

A - широко използвани повсеместно; B - с ограничено приложение или в процес на одобрение от FDA

Myobloc® / NeuroBloc® е единственият наличен ботулинов токсин тип В (BoNT-B) продукт. За коригиране на глабеларни бръчки клиничната продължителност е по-краткотрайна от тази на Botox® (20)(31), но Myobloc® проявява по-бързо начално действие и дава по-голяма площ на дифузия (13), неблагоприятните ефекти са леки до умерени, преходни и по-чести само при по-високи дози (8).

Други продукти под глобално развитие са CBTX-A и BONTA. CBTX-A е единственият BoNT-A продукт, който е одобрен в Китайската народна република, в Бразилия се предлага под наименованието Prosigne®. Основната разлика между този препарат и другите BoNT-A продукти е, че към флакона се добавя говежди желатинов протеин, за да се предотврати залепване на токсина към стената на флакона и спринцовката. В други продукти за тази цел се използват човешки серумни албумини. Желатинът обаче има потенциал да предизвиква алергични реакции или евентуална спонгиформна енцефалопатия при говедата – неврологично заболяване, по-известно като «луда крава».

Neuronox® (BONTA) съдържа BoNT-A комплекс, използва се широко в Южна Корея и Югоизточна Азия (10). Макар и ограничени, съществуват данни, които го определят като високоефективен и безопасен (33).

PurTox® е пречистен от комплексобразуващи протеини. Те са терапевтично излишни и в същото време значително натоварват организма с чужд протеин, който може на свой ред да увеличи възможността за предизвикване на имуен отговор. Препаратът вероятно ще бъде одобрен в САЩ в близкото бъдеще (8) (Таблица 1).

Използването на BoNT продължава да нараства с бързи темпове. Световният ръст в продажбите се очаква да достигне 20% на годишна база в близкото бъдеще (8). Поради високото потребление на BoNT продукти несъмнено ще се появят и препарати с други типове на BoNT, не дискутирани в този преглед.

Извършване на процедурата

Преди процедурата се правят снимки в близък и общ кадър на засегнатите зони в спокойно положение и при контракция на мимическите мускули. Кожата се почиства и BoNT препарат се инжектира с много тънка игла (30 калибър 2,5 см игла) директно в невромускулната тъкан (16, 32). Рядко се прилага анестезия (в някои случаи крем анестетик), тъй като процедурата не е особено болезнена (16).

Броят на убожданията варира в зависимост от това кой мускул се третира, както и от състоянието на надлежащата кожа. При третирането на околоочни бръчки тип „пачи крак“, например, може да се приложат по три убождания от всяка страна. Дозата зависи от начина на употреба, индивидуалните особености на пациента (предшестващи слабости, пол) и масата на инжектирания мускул.

В някои случаи приложението на ботулиновия препарат може да се администрира под ръководството на електромиография. В повечето случаи обаче тя се използва при лечение на локализирана мускулна свръхактивност в деликатни места като зоната около очите (често при третиране на кривогледство) (26).

Манипулацията се извършва от специалисти, преминали обучение за прилагане на BoNT. Задължително трябва да се работи по установените правила от клиничния опит, които са предмет на сертифицираните курсове, а това са основно: инжектиране на препоръчителните дози, поставяне в точните анатомични зони и вкарване в правилната дълбочина и ъгъл. Необходимо е пациентът да остане в изправено положение за три до четири часа след инжектиране и да се избягват контакт с участъците, на които е приложена манипулацията (26).

Ефективност и безопасност на BoNT

По данни на редица изследвания приложението на BoNT се отличава с висока ефективност и безопасност (5, 6, 11, 25, 26, 28). Използването му се свързва с висока степен на удовлетвореност от страна на пациенти и лекари (17, 19).

Изследване, проведено от Sattler et al (2010), показва, че при прилагане на BoNT за корекция на глабеларни бръчки при 95.7% (приложен *onabotulinumtoxinA*) и 96.4% (приложен *incobotulinumtoxinA*) е постигнат желаният от пациента и специалиста ефект (28).

Нежеланите ефекти са рядкост и са обратими. Клинични изпитвания, определящи профила на безопасност и поносимост на BoNT-A при общи терапевтични индикации, показват честотата на леките нежелани реакции приблизително при 25% от третираната с BoNT група в сравнение с 15% в контролната група. По данни на Naumann M et al (2006) фокалната слабост е единствената по-често срещана нежелана реакция при лечение с BoNT (25).

Нежеланите реакции се обобщават с лека болка и локален оток на мястото на инжектиране, диплопия (двойно виждане) (17), зачервяване, преходна скованост, слабост във врата, главобо-

лие, неразположение, сухота в устата или леко гадене. Техният ефект намалява с увеличаване на разстоянието от мястото на инжектиране, макар че е възможна миграция на токсина към близки мускули и други тъкани.

Най-сериозните неблагоприятни ефекти са временна слабост (парализа на близката мускулатура), временна птоза на горния клепач или челото (1-3% от пациентите). Птозата е резултат от миграцията на BoNT в повдигащия мускул *levator palpebrae superioris* и обикновено продължава от две до шест седмици. Състоянието би могло да се третира с апраклонидин 0.5% капки за очи. Представява алфа-адренергично средство, което стимулира т.нар. *Müller's muscle* и веднага повдига горния клепач.

В много редки случаи може токсинът да се разпространи в кръвта, което да доведе до слабост в далечните мускули или обща слабост (2, 4). Необходимо е да се избягват вътресъдови инжекции, защото дифузно разпространение на големи количества от токсина може да имитира симптомите на ботулизъм.

Други системни странични ефекти включват грипоподобно заболяване, рядко брахиален плексит, който може да бъде имунно медиран (15, 26), алергични реакции към някоя от неговите съставки.

Ятрогенният ботулизъм е нов вид ботулизъм, който може да възникне от случайно предозиране на BoNT, използван по време на козметични процедури - при ботокс терапия за бръчки или при някои лечебни процедури за третиране на видове артрози, тремори и др.

Трайност на процедурата

Паралитичният ефект след инжектиране с BoNT е със средна продължителност три месеца. За поддържане на ефективността са необходими допълнителни приеми на BoNT препарат на равни интервали. Те варират в широки граници в зависимост от дозата и индивидуалната чувствителност. Повечето пациенти, лекувани с BoNT, изискват многократни инжекции в продължение на много години.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Инжектиране на ботулинов токсин се превърна в най-популярната козметична процедура в световен мащаб (14).

След повече от 2 десетилетия на употреба BoNT е станал синоним на намаляване на бръчки и се счита за една от най-често прилаганите нехирургически козметични процедури, извършвани в световен мащаб. Поради голямата

му популярност сред пациенти, които търсят неинвазивни методи за постигане на подмладяване на лицето, лекари от различни специалности интегрират BoNT в техните практики (8).

ЛИТЕРАТУРА

1. Azzalure, (botulinum toxin type A), Package leaflet, <https://www.drugs.com/uk/azzalure-10-speywood-units-0-05ml-powder-for-solution-for-injection-leaflet.html>
2. Bakheit A, Ward C, McLellan D. Generalised botulism-like syndrome after intramuscular injections of botulinum toxin type A: A report of two cases (letter). *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1997;62:198
3. Barash J, Arnon S. A Novel Strain of *Clostridium botulinum* That Produces Type B and Type H Botulinum Toxins. *J Infect Dis*. 2013;209(2):183-191
4. Bhatia K, Münchau A, Thompson P, Houser M, Chauhan V, Hutchinson M et al. Generalised muscular weakness following botulinum toxin injections for dystonia: A report of 3 cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1999;67:90-3
5. Brehmer F, Lockmann A, Grönemeyer L-L, Kretschmer L, Schön M, Thoms K-M. 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*. 2015;13(8):799-805
6. Carruthers A. Botulinum toxin type A: History and current cosmetic use in the upper face. *Disease-a-Month*. 2002;48(5):299-322
7. Carruthers A, Carruthers J. Clinical Indications and Injection Technique for the Cosmetic Use of Botulinum A Exotoxin. *Dermatologic Surgery*. 1998;24(11):1189-1194
8. Carruthers A, Carruthers J. Botulinum Toxin Products Overview. 2008, <http://www.skintherapyletter.com/2008/13.6/1.html>
9. Carruthers A, Kiene K, Carruthers J. Botulinum A exotoxin use in clinical dermatology. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 1996;34(5):788-797

10. Carruthers J, Carruthers A. The evolution of botulinum neurotoxin type A for cosmetic applications. *J Cosmet Laser Ther.* 2007;9(3):186–192
11. Carruthers J, Fagien S, Matarasso S. Consensus Recommendations on the Use of Botulinum Toxin Type A in Facial Aesthetics. *Plastic & Reconstructive Surgery.* 2004;114(6):1S-22S
12. Coté T, Mohan A, Polder J, Walton M, Braun M. Botulinum toxin type A injections: Adverse events reported to the US Food and Drug Administration in therapeutic and cosmetic cases. *Journal of the American Academy of Dermatology.* 2005;53(3):407–415
13. Flynn T, Clark R. Botulinum toxin type b (MYOBLOC) versus botulinum type a (BOTOX) frontalis study; rate of onset and radius of diffusion. *Dermatol Surg.* 2003; 29(5):519-22
14. Gart M, Gutowski K. Overview of Botulinum Toxins for Aesthetic Uses. *Clinics in Plastic Surgery.* Available online 4 May 2016
15. Glanzman R, Gelb D, Drury I, Bromberg M, Truong D. Brachial plexopathy after botulinum toxin injections. *Neurology.* 1990; 40:1143
16. Grunfeld A, Murray C, Solish N. Botulinum Toxin for Hyperhidrosis. *American Journal of Clinical Dermatology.* 2009; 10(2):87-102
17. Huang W, Foster J, Rogachefsky A. Pharmacology of botulinum toxin. *Journal of the American Academy of Dermatology.* 2000; 43(2):249–259
18. Jacob C. Botulinum neurotoxin type B - a rapid wrinkle reducer. *Semin Cutan Med Surg.* 2003; 22(2):131-135
19. Jaspers G, Pijpe J, Jansma J. The use of botulinum toxin type A in cosmetic facial procedures. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery.* 2011;40(2):127–133
20. Jost W, Blumel J, Grafe S. Botulinum neurotoxin type A free of complexing proteins (Xeomin®) in focal dystonia. *Drugs.* 2007; 67:669–683
21. Kaji R. Clinical differences between A1 and A2 botulinum toxin subtypes. *Toxicon.* 2015; 107(Part A):85–88
22. Kedlaya D. Botulinum Toxin. Medscape, February 07, 2014, <http://emedicine.medscape.com/article/325451-overview>
23. Medication guide Dysport® (DIS-port) (abobotulinumtoxinA) for Injection, <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/DrugSafety/UCM165110.pdf>
24. Medicis Pharmaceutical Corporation, Medicis and Ipsen Decide to Focus Partnership for Reloxin Exclusively on United States, Canada and Japan, July 12, 2006, <http://globenewswire.com/news-release/2006/07/12/345576/101943/en/Medicis-and-Ipsen-Decide-to-Focus-Partnership-for-Reloxin-Exclusively-on-United-States-Canada-and-Japan.html>
25. Naumann M, Albanese A, Heinen F, Molenaers G, Relja M. Safety and efficacy of botulinum toxin type A following long-term use. *European Journal of Neurology.* 2006; 13(s4):35–40
26. Nigam P, Nigam A. Botulinum toxin. *Indian J Dermatol.* 2010;55(1):8–14
27. Odergren T, Hjaltason H, Kaakkola S, Solders G, Hanko J, Fehling C et al. A double blind, randomised, parallel group study to investigate the dose equivalence of Dysport® and Botox® in the treatment of cervical dystonia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1998; 64:6–12.
28. Sattler G, Callander M, Grablowitz D, Walker T, Bee E, Rzany B et al. Noninferiority of IncobotulinumtoxinA, Free from Complexing Proteins, Compared with Another Botulinum Toxin Type A in the Treatment of Glabellar Frown Lines. *Dermatologic Surgery. Special Issue: Botulinum Toxins,* 2010; 36(s4):2146–2154
29. Small R. Botulinum Toxin Injection for Facial Wrinkles. *American Family Physician.* 2014; 90(3):168-175
30. Small R, Hoang D. A Practical Guide to Botulinum Toxin Procedures. Philadelphia, Pa.: Lippincott Williams & Wilkins, 2012
31. Spencer J, Gordon M, Goldberg D. Botulinum B treatment of the glabellar and

- frontalis regions: a dose response analysis. *J Cosmet Laser Ther.* 2002; 4(1):19-23
32. Schantz E, Johnson E. Properties and use of botulinum toxin and other microbial neurotoxins in medicine. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 1992; 56(1):80-99
33. Walker T, Dayan S. Comparison and Overview of Currently Available Neurotoxins. *J Clin Aesthet Dermatol.* 2014; 7(2):31-39