

Botulinum toksin u liječenju migrene

Toth, Dora

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:191501>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-13**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Dora Toth

Botulinum toksin u liječenju migrene

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2022. .

Ovaj diplomski rad prijavljen je na kolegiju Farmakologija Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen u Zavodu za farmakologiju Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta pod stručnim vodstvom prof. dr. sc. Lidije Bach-Rojecky.

Zahvaljujem se dr. sc. Lidiji Bach-Rojecky na mentorstvu, prenesenom znanju, ukazanom povjerenju, pruženoj pomoći i savjetovanju koji su olakšali pisanje ovog rada. Veliko hvala svim prijateljima koji su bili uz mene cijelo razdoblje studiranja i uljepšavali ga smijehom i uspomjenama. Najveće hvala mojoj obitelji na podršci i motivaciji te pružanju svega što je bilo potrebno da dospijem tu gdje jesam. I na kraju, posebno hvala sestri Maji koja je prva zakoračila na Farmaceutsko-biokemijski fakultet te me svojim savjetima i odgovorima na pitanja usmjerila i dodatno motivirala.

SADRŽAJ

1.UVOD	1
1.1. Gavobolje	2
1.1.1.Klasifikacija glavobolja	2
1.2. Migrena	3
2.OBRAZLOŽENJE TEME	5
3.MATERIJALI I METODE	7
4. REZULTATI I RASPRAVA	9
4.1. Patofiziologija migrene	10
4.2. Animalni modeli	14
4.3. Farmakološke mogućnosti liječenja migrene	15
4.4. Botulinum toksin	20
4.4.1. Mehanizam djelovanja botulinum toksina	23
4.4.2. Antinociceptivni učinak botulinum toksina – pregled pretkliničkih istraživanja	25
4.4.3. Klinička primjena botulinum toksina u liječenju boli	28
4.4.4. Dostupni pripravci botulinum toksina na tržištu	32
4.4.5. Ostale odobrene indikacije za primjenu BoNT-A	34
5. ZAKLJUČAK	37
6. LITERATURA	39
7. SAŽETAK/ SUMMARY	48

1.UVOD

1.1. Gavobolje

Glavobolja se definira kao bol lokalizirana u području glave i vrata nastala stimulacijom nociceptora različitih struktura koje okružuju moždano tkivo. Te strukture mogu se podijeliti na ekstrakranijalne i intrakranijalne. U ekstrakranijalne spadaju mišići, koža, vene, arterije, živci, sluznice, konjuktiva i periost, dok u intrakranijalne spadaju moždane ovojnice, arterije, vene i živci. Moždani parenhim sam po sebi nije osjetljiv na bol jer nema nociceptore pa glavobolje vjerojatno nisu posljedica oštećenja istog. (Baraness i M.Baker, 2021; Guyton i Hall, 2012). Glavobolje kao takve, mogu se svrstati među najčešće poremećaje živčanog sustava današnjice koji nerijetko dovodi do poteškoća funkcionalnosti osobe u svakodnevici. Prevalencija je visoka u populaciji te iznosi oko 49% zbog čega se može zaključiti da ovaj poremećaj predstavlja globalni problem koji je teško liječiti. Nadalje, dokazano je da glavobolje puno više pogađaju žene, nego muškarce te da su jedan od važnijih i češćih uzroka onesposobljenja u populaciji. (Ahmed, 2012)

1.1.1. Klasifikacija glavobolja

Prema Međunarodnom društvu za glavobolje (eng. *International Headache Society*, IHS), glavobolje se dijele u tri velike skupine: primarne, sekundarne i kranijalne. Svaka od tih skupina podijeljena je u tipove i podtipove prema strogim kriterijima i simptomima povezanim s određenom vrstom glavobolje. Tako se primarne glavobolje dijele na migrenu, tenzijsku glavobolju, klaster i trigeminalne autonomne glavobolje te ostale primarne glavobolje. Iz ove skupine primarnih glavobolja, migrena ima podtipove: migrena s aurom, bez aure, kronična migrena, vjerojatna migrena, komplikacije migrene te simptomi povezani s migrenom. Nadalje, sekundarne se dijele na glavobolje uzrokovane traumom u području glave i vrata, vaskularnim poremećajem glave i vrata, nevaskularnim intrakranijalnim poremećajem, substancijama i odvikavanjem, infekcijom, poremećajem homeostaze, poremećajima glave, vrata, očiju, nosa, sinusa, zubiju, usta i drugih struktura lica i vrata, psihijatrijskim poremećajima. Zadnja skupina glavobolja su: kranijalne neuralgije uzrokovane lezijama kranijalnih živaca i ostale neuralgije. Dijagnostički kriteriji nužni su za razlikovanje simptoma i postavljanje dijagnoze. Tako primarne glavobolje imaju karakteristične simptome prema kojima se određuje njihov tip i podtip te se radi diferencijalna dijagnostika kako bi se isključile moguće druge dijagnoze. Može se reći kako se one klasificiraju prema simptomima i znakovima te nemaju poznati uzrok, dok se za

sekundarne glavobolje uzima u obzir etiologija u čijem su skladu i nazivi pojedinih tipova tih glavobolja. Budući da se zna uzrok, kod postavljanja dijagnoze promatra se simultanost pojave glavobolje i prisutnosti mogućeg uzroka boli. Kranijalne neuralgije posljedica su stimulacije kranijalnih živaca, najčešće upalom ili kompresijom. Postoje primarne i sekundarne neuralgije ovisno o tome je li uzrok poznat ili ne, pri čemu „sekundarno“ označava onaj tip kojem se uzrok zna. Primjer takve neuralgije je postherpetička neuralgija povezana s infekcijom herpes zoster virusom. (Filipović, 2016; Oelsen, 2018)

1.2. Migrena

Migrena je primarna, rekurentna i epizodična glavobolja koja u brojnim slučajevima dovodi do nefunkcionalnosti osobe tijekom napadaja. Osim što se manifestira kao bol u području glave, točnije u periorbitalnom području i oku, često je praćena mučninom i povraćanjem. (Burstein i sur., 2015).

Migrena se može podijeliti u stadije: prodromalna faza, napadaj glavobolje i postdromalna faza. U svakom stadiju promatra se intenzitet boli i karakteristični simptomi. Tako su za prodromalnu fazu specifični mentalni, neurološki i drugi simptomi. Mentalni mogu biti: promjene raspoloženja, umor, depresija, iritabilnost, euforija, hiperaktivnost, dok su neurološki: zijevanje, osjetljivost na zvukove i svjetlost. Ostali simptomi mogu biti žeđ, glad i letargija koji se povezuju s poremećajem aktivnosti u hipotalamusu ili sugeriraju da on postoji. Nadalje, u prodromalnoj fazi može se javiti aura, skupina fokalno neuroloških simptoma koji nastupaju prije napadaja glavobolje i mogu trajati otprilike jedan sat. Aura mogu biti točke, bljesak ili oblici koji se brzo pokreću u vidnom polju, mikropsija (osoba predmete vidi u puno manjoj veličini od realne), makropsija (osoba predmete vidi puno veće, neg što jesu), mozaični vid, halucijacije. Razvijaju se 5 do 20 minuta, a postoje i one koje se potpuno razvijaju unutar 5 minuta. Koliko vremena prije glavobolje će se javiti i koliko dugo će trajati ova faza, individualno je različito (Silberstein i Young, 1995; Burstein i sur., 2015).

Sljedeći stadij migrene je glavobolja karakterizirana pulsiranjem i unilateralnošću. Tijekom ove faze intenzitet boli doseže vrhunac i sama bol lokalizirana je najčešće u periorbitalnom području i oku. Ona traje najdulje, nekoliko sati ili čak 3 do 4 dana, ovisno o osobi te se time potvrđuje činjenica da je ovaj poremećaj živčanog sustava jedan od vodećih u sprječavanju njihovog svakodnevnog funkcioniranja. Posljedna faza je postdromalna, karakterizirana umorom i iscrpljenošću, beživotnosti osoba. Tijekom nje je intenzitet boli

smanjen ili ga nema, a može trajati i do 48 sati. Ng-Mak (2011.) u svom radu navodi izjave pacijenata koji opisuju ovu fazu. Kod nekih je glavobolja i dalje prisutna, ali je podnošljiva, dok neki više ne osjećaju bol. Nadalje, često se govori da je postdromalna faza slična „mamurluku“, karakterizirana gubitkom apetita, iritabilnosti, vrtoglavicom, mučninom i problemima koncentracije. Isto tako, jedna od karakteristika ove faze je nesposobnost bavljenjem aktivnostima, utjecaj na socijalne i kognitivne vještine.

Tablica 1. Karakteristike i simptomi primarnih glavobolja (prema ref. Eigenbrodt i sur., 2021)

Primarna glavobolja	Trajanje glavobolje	Lokaliziranost glavobolje	Intenzitet	Karakteristike boli	Simptomi
Migrena	4-72 h	Nerijetko unilateralna	Umjerena do jaka	Najčešće pulsirajuća	Mučnina, povraćanje, foto- i fonofobija
Tenzijska	Sati-dani ili nepopustljiva	Uobičajeno bilateralna	Blaga do umjerena	Pritisak i zatezanje	Ponekad foto- i fonofobija, mučnina, često ništa
Klaster	15-180 min	Uvijek unilateralna, orbitalna, supraorbitalna i/ili temporalna	Jaka do vrlo jaka	Preplavljujuća	Kranijalni autonomni simptomi na strani boli(lakrimacija, nazalna kongestija, povećanje konjunktivalnih žila)

2.OBRAZLOŽENJE TEME

Migrena je poremećaj živčanog sustava visoke prevalencije čiji je ishod nerijetko onesposobljenje osoba tijekom perioda do 72 sata koliko može napadaj trajati. Predstavlja globalni problem jer je uzrok još uvijek nepoznat, a sukladno tome, ne postoji terapija koja liječi uzrok, nego djeluje na simptome.

Kronična migrena, za razliku od akutnog napadaja koji se može više ili manje uspješno liječiti lijekovima iz skupine antimigrenika (triptani), i nesteroidnim protuupalnim lijekovima, nije imala specifičnu terapiju, već su se u prevenciji napadaja empirijski koristili lijekovi iz drugih farmakoterapijskih skupina (primjerice, propranolol, topiramet, amitriptilin i dr.). Samo kod određenog broja pacijenata s kroničnom migrenom takvi su lijekovi smanjili frekvenciju i intenzitet napadaja.

Botulinum toksin tip A odobren je kao specifična terapija za kroničnu migrenu prije nešto više od 10 godina temeljem rezultata dobivenih na životinjskim modelima, ali i kliničkih studija koje su pokazale korist primjene uz odličan sigurnosni profil. Tijekom protekle tri godine registrirani su novi lijekovi – monoklonska protutijela protiv CGRP-a za liječenje epizodične i kronične migrene.

Cilj ovog diplomskog rada je dati pregled osnovnih farmakoloških karakteristika botulinum toksina tipa A te relevantnih studija koje su dovele do njegove primjene u terapiji kronične migrene, kao i ostalih bolnih stanja.

3.MATERIJALI I METODE

Za izradu ovog preglednog diplomskog rada proučavana je i korištena znanstvena i stručna literatura iz područja medicine i farmacije na temu migrene i botulinum toksina.

Literatura je pretraživana u sljedećim bazama podataka: PubMed, ScienceDirect, Sage journals, Wiley Online Library, Thieme Medical Publisher, Jneurosci prema ključnim riječima i njihovim kombinacijama: *migraine, headache, acute attack, chronic migraine, botulinum toxin type A, pain, animal models, clinical studies*.

Također su pretraživane mrežne stranice različitih međunarodnih udruženja, poput International Headache Society (IHS), International Association for the Study of Pain (IASP), kao i regulatornih agencija za lijekove.

4. REZULTATI I RASPRAVA

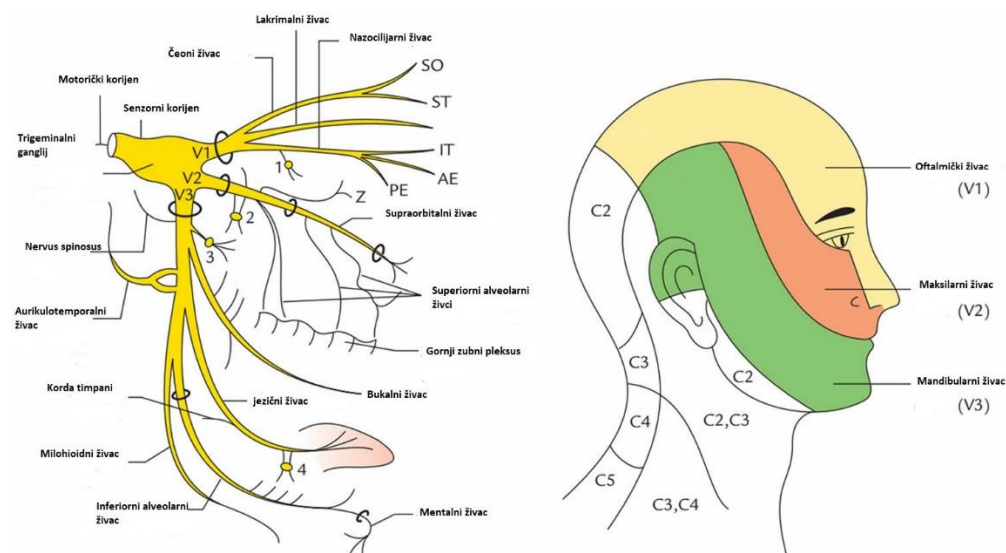
4.1. Patofiziologija migrene

Iako se mehanizam nastanka migrene ne zna u potpunosti, kroz povijest su se predlagale različite teorije kojima se nastojalo opisati što se zapravo događa u živčanom sustavu. Među njima se spominje i trigeminovaskularna teorija, koja je do danas ostala predmet brojnih istraživanja i hipoteza koja najbliže objašnjava kompleksnost mehanizma migrene. Prije svega, bitno je spomenuti od čega se sastoji trigeminovaskularni sustav i koja je njegova uloga u ovome procesu.

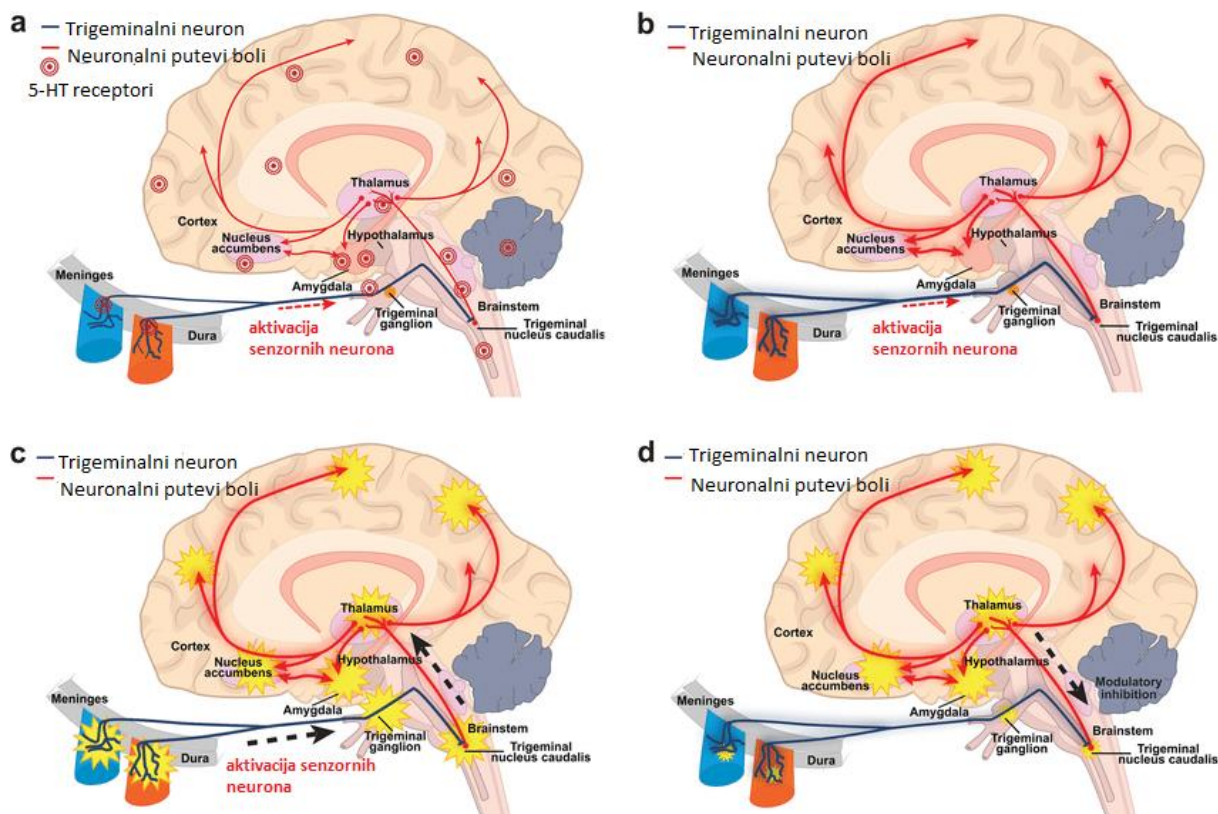
Trigeminovaskularni sustav skup je neurona koji inerviraju dvije strukture mozga: moždane ovojnice ili mozgovnice i velike krvne žile koje se u njemu nalaze. To su aferentni (dovodni), senzorni neuroni čija se tjelešća nalaze u trigeminalnom gangliju (*ganglion trigeminale*), a čiji aksoni sežu prema mozgovnicama: pia mater, dura mater i arachnoidea mater te neuronima dorzalnog roga kaudalne jezgre koji inerviraju kaudalne arterije (May i Goadsby, 1999; Burnetsein, 2015). Trigeminalni živac, *nervus trigeminus V*, sastoji se od osjetnih i motoričnih vlakana pseudounipolarnih (akson se dijeli na periferni i centralni ogranak) neurona koji inerviraju gotovo sve dijelove glave te mišiće gornje i donje čeljusti (Slika 1). Njegovi ogranci su očni, maksilarni i mandibularni živac (*n.ophthalmicus, maxillaris, mandibularis*). Očni ili oftalmički ogranak inervira većinu krvnih žila mozgovnica od kojih je klinički važna srednja meningealna arterija, *arteria meningea media*, koja je glavni opskrbljivač dure mater krvlju te je bogato inervirana trigeminalnim neuronima. Karakterističnu unilateralnost migrene može objasniti ipsilateralna raspodjela senzornih vlakana trigeminalnog živca. (Keros i sur., 1999; Filipović, 2016)

Stimulacija tih neurona u mozgovnicama smatra se početkom migrenskog napadaja. Impulsi nastali u duri mater, neuronima stražnjih rogova kralježnične moždine kao i u neuronima koji se nalaze u talamusu, kaudalnoj periakveduktalnoj sivoj regiji i kori, prenose se vlaknima prema trigeminalnoj kaudalnoj jezgri koja se nalazi u produljenoj moždini nakon čega odlaze u više dijelove mozga, odnosno mozgovnu koru (Slika 2). U procesu sudjeluju brojni neurotransmitori, od kojih su najznačajniji neuropeptidi: peptid povezan s kalcitoninskim genom (engl. calcitonine gene-related peptide, CGRP) i tvar P (engl. substance P, SP). Do njihovog otpuštanja u perivaskularni prostor, iz kojeg difuzijom prelaze u žile, dolazi uslijed aktivacije trigeminalnog neurona te oni uzrokuju njihovu vazodilataciju u mozgovnicama, ekstravazaciju plazme i degranulaciju mastocita. Goadsby i Edvinsson (1993.) proveli su istraživanje kojim su potvrdili aktivaciju

trigeminovaskularnog sustava tijekom migrene tako što su mjerili razine CGRP-a u krvi tijekom napadaja i nakon primjene lijeka iz skupine antimigrenika. Osim ovih, rezultati drugih brojnih studija govore kako se razina CGRP-a znatno povećava tijekom migrene, a smanjuje djelovanjem „triptana“ te se zbog toga smatra kako on ima bitnu ulogu u patofiziološkom procesu. CGRP je najpotentniji vazodilatator koji djeluje na periferiji i u CNS-u, posebno u intrakranijalnim žilama. Osim toga, potiče otpuštanje tvari P koja uzrokuje ekstravazaciju plazme te vezanjem na receptore duralnih mastocita uzrokuje njihovu degranulaciju, a time i neurogenu upalu. Pokazano je kako CGRP olakšava neurotransmisiju posredovanu glutamatom s periferije u dorzalni rog kralježnične moždine gdje je glutamat neurotransmitor bitan za prijenos osjetnih impulsa preko svojih AMPA (engl. α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionate) receptora. Može se zaključiti da CGRP preko svojih receptora inducira transmisiju bolnih impulsa dorzalnog roga moždine, a pretpostavlja se da potiče i ekspresiju purinergičkih P2X3 receptora u trigeminalnim živcima i spinalnom gangliju na koje se veže ATP molekula koja se povezuje s kroničnom boli. Taj učinak CGRP-a tijekom migrene može dovesti do povećanja osjetljivosti trigeminalnih živaca na ATP i povećanje intenziteta boli pa čak i pojave alodinije ili hiperalgezije. Alodinija predstavlja bol na podražaje malog intenziteta koji inače ne uzrokuju bol, dok je hiperalgezija povećana osjetljivost na bol, tj. pretjerana reakcija na bolni podražaj. (Ho T i sur., 2010; Russo, 2015)



Slika 1. Raspodjela i područje inervacija trigeminalnog živca (preuzeto i prilagođeno prema <https://healthjade.net/trigeminal-nerve/>)



Slika 2. Trigeminalni put i prijenos boli tijekom migrenskog napadaja (prema ref. Clemow i sur., 2020) Slika *a* prikazuje puteve boli u perifernom i središnjem živčanom sustavu (engl. *Peripheral and central nerve system, PNS i CNS*) koji su povezani s prijenosom boli tijekom migrenskog napadaja te 5-HT receptore serotonininskog sustava i njihovu lokalizaciju; slika *b* prikazuje aktivaciju puteva boli te širenje signala putem trigeminalnih senzornih živaca preko trigeminalne kaudalne jezgre u hipotalamus i talamus te gornje slojeve moždane kore; slika *c* prikazuje otpuštanje neurotransmitora iz okončina stimuliranih senzornih živaca, koji uzrokuju neurogenu upalu i hiperekscitiraju neurone te time doprinose centralnoj senzitivaciji; slika *d* prikazuje modulacijski mehanizam inhibicije prijenosa signala putevima boli preko serotoninina koji vezanjem na 5-HT receptore blokira otpuštanje neurotransmitora, a smatra se da disfunkcija ovog mehanizma pridonosi migrenskom napadaju kod pacijenata.

Serotoninski sustav povezuje se s patofiziologijom migrene te ima važnu ulogu u cijelom procesu. Smatra se da niske razine serotonina, zbog smanjene sinteze ili neurotransmisije, doprinose razvoju migrene i intenziviranju njezinih simptoma. Pokazano je da pacijenti s migrenom imaju visoke koncentracije slobodnih serotoninskih transportera što upućuje na nisku razinu serotonina i poremećaj regulacije serotoninskog sustava (Hamel, 2007). Serotoninski sustav sastoji se od neurotransmitora serotonina ili 5-HT (engl. 5-hydroxytryptamine) i serotoninskih receptora, kojih je dosada poznato sedam vrsta: 5-HT₁₋₇ od kojih podtipovi 5-HT₁ receptora imaju inhibitorne učinke te na neke od njih kao agonisti djeluju lijekovi „triptani“ (Leone i sur., 2001). Serotonin je neurotransmitor koji djeluje na raspoloženje, apetit, kognitivne funkcije, memoriju, spavanje i ponašanje. Sintetizira se iz aminokiseline triptofana uz triptofan hidroksilazu (engl. tryptophan-hydroxylase, TPH) i dekarboksilazu aromatskih L-aminokiselina (engl. aromatic L-amino acid decarboxylase, AADA) te je pohranjen u vezikulama unutar stanica. TPH2 enzim eksprimiran je u neuronima smještenima u jezgrama raphe moždanog debla koji šalju aksone kroz cijeli mozak. 5-HT receptori široko su distribuirani u središnjem živčanom sustavu, a njihova uloga se razlikuje. Aktivirani 5-HT_{1A} presinaptički autoreceptor blokira otpuštanje serotonina iz presinaptičkih neurona i smanjuje slanje impulsa, dok dugoročnom aktivacijom dolazi do njegove desenzitizacije te poticanja otpuštanja neurotransmitora u izvanstanični prostor. 5-HT_{1B} i 5-HT_{1D} receptori imaju inhibitorni učinak na otpuštanje neuropeptida (CGRP i tvar P) što ih čini dobrim metama antimigrenika jer su distribuirani u žilama mozgovnica i perifernim i centralnim senzornim neuronima trigeminalnog sustava. Sličnu distribuciju pokazuju i 5-HT_{1F} receptori na koje djeluje lijek lasmiditan, odobren 23. lipnja 2022. za liječenje akutne migrenozne glavobolje od strane Europske agencije za lijekove pod nazivom Rayvow® (<https://www.ema.europa.eu/en//medicines/human/summaries-opinion/rayvow>). S obzirom na navedeno, aktivacijom serotoninskih receptora, a time i serotoninskog sustava, blokira se neurogena upala i prijenos boli u trigeminalnom sustavu te središnja senzitivacija, a djelovanjem na receptore lokalizirane u žilama (5-HT_{1B}) dolazi do vazokonstrikcije. (Hamel, 2007; Gasparini i sur., 2017)

4.2. Animalni modeli

Istraživanja koja se provode u svrhu otkrića mehanizama nastanka, odnosno patofiziologije migrene, izvode se na *in vitro* i *in vivo* animalnim modelima. U *ex vivo* i *in vitro* modele spadaju izolirane krvne žile mozgovnica, izolirani ili uzgojeni trigeminalni neuroni u kulturi, pri čemu se mogu koristiti metode stimulacije krvnih žila/neurona dodavanjem proupalnih tvari u medij, zatim kemijska ili električna stimulacija žila mozgovnica ili trigeminalnog ganglija te mjerenje razine otpuštenih neuropeptida u različitim strukturama mozga eksperimentalnih životinja. S druge strane, u *in vivo* animalnim modelima najčešće su korišteni miševi i štakori. Trigeminalni sustav anesteziranih životinja stimulira se električki korištenjem elektroda (stimulacija trigeminalnog ili sagitalnog ganglija); kemijski, primjenom upalnih komponenti (histamin, prostaglandin E2, bradikinin ili serotonin) na eksponiranu duru; ili mehanički, ozljedom infraorbitalnog živca. Svaki od modela ima određene prednosti i nedostatke, a najviše se koriste u razvoju novih antimigrenika (Bergerot i sur., 2006; Harriott i sur., 2019).

4.3. Farmakološke mogućnosti liječenja migrene

Najčešće korištena skupina lijekova u liječenju akutnog napadaja migrene jesu nesteroidni protuupalni lijekovi (ibuprofen, naproksen), acetilsalicilna kiselina i paracetamol, koji su i prva linija liječenja. U drugoj liniji koriste se specifični antimigrenici, pri čemu su najznačajniji lijekovi iz skupine triptana (Tablica 1). Kao dodatna terapija mogu se koristiti metoklopramid ili domperidon, antagonisti dopaminskih receptora, u slučaju jake mučnine praćene povraćanjem.

Tablica 2. Podjela lijekova koji se koriste u liječenju akutne migrene (prema ref. Tfelt-Hansen i sur., 2000; Negro i Martelletti, 2019)

Antimigrenici	Triptani	1.Sumatriptan 2.Rizatriptan 3.Zolmitriptan 4.Frovatriptan 5.Eletriptan 6.Naratriptan 7.Almotriptan
	Antagonisti CGRP receptora	1.Rimegepant 2.Ubrogapant
	Agonist 5-HT1F receptora	Lasmiditan
Nesteroidni protuupalni lijekovi i ostali neopioidni analgetici	Acetilsalicilna kiselina, Paracetamol, Ibuprofen Diklofenak Naproksen	

Preventivnu terapiju epizodične i kronične migrene čine monoklonska protutijela, čija meta su receptori za CGRP (erenumab) ili sama molekula CGRP-a (fremanezumab, eptinezumab i galcanezumab) koja se primjenjuju supkutano jednom mjesečno. Njihovom primjenom učestalost migrenskih napadaja značajno se reducira što dodatno potiče daljnji razvoj ovakvih lijekova, povećane djelotvornosti i minimiziranih nuspojava (Negro, 2019).

Osim protutijela, antiepileptici valproat i topiramata koriste se bez odobrene indikacije („off label“) kao preventivna terapija na temelju pozitivnih rezultata brojnih studija u kojima se valproat primjenjivao u dozama od 500, 1000 i 1500 mg, a topiramata u dozama od 50, 100 i 200 mg. Najznačajniji učinak lijekovi su imali na reduciranje učestalosti napadaja kod pacijenata. Mehanizam djelovanja valproata i topiramata, ali i ostalih antiepileptika, smatra se istim u terapiji migrene i epilepsije zbog povezanosti patofiziologije ova dva stanja. Tako topiramata djeluje blokirajući glutamatne receptore i aktivirajući GABAergični sustav, a valproat povećava koncentraciju GABA-e (gama-aminomaslačna kiselina) u središnjem živčanom sustavu, uz blokadu o naponu ovisnih natrijevih kanala. Unatoč pozitivnom djelovanju antiepileptika, nuspojave koje imaju ograničavaju njihovu korist u liječenju migrene (Pappagallo, 2003; Bartolini i sur., 2005).

Ostali lijekovi u liječenju kronične migrene su triciklički antidepresivi, propranolol, kandesartan i antagonisti 5-HT₂ receptora. Od tricikličkih antidepresiva najznačajniji su amitriptilin, nortriptilin i doksepin, od kojih je najčešće primjenjivan amitriptilin kao profilaksa migrene. Studije su pokazale njegovu učinkovitost u prevenciji napadaja, smanjenju njihovih intenziteta i trajanja. Iako se ne zna točan mehanizam djelovanja antidepresiva u migreni, smatra se da je povezan s modulacijom serotoninskog sustava. Uočeno je da je dva tjedna nakon primjene antidepresiva u osoba koji pate od depresije i migrene vidljiv njihov učinak. Amitriptilin i doksepin titriraju se do maksimalne doze od 150-300 mg uz praćenje koncentracije u krvi. Propranolol je jedan od najčešćih lijekova koji se koriste u liječenju kronične migrene. Blokator je beta adrenergičkih receptora autonomnog živčanog sustava, a u studijama se pokazalo da značajno smanjuje intenzitet migrene te se vjeruje kako je za taj učinak zaslužan mehanizam u središnjem živčanom sustavu (Ziegler i sur., 1993; Punay i Couch, 2003).

Kandesartan se kao blokator receptora AT₁ za angiotenzina II tipa, pokazao djelotvornim u prevenciji migrene. Za razliku od propranolola, kandesartan reducira trajanje migrene u

pacijenata koji boluju od hipertenzije i ne reagiraju na druge preventivne terapije te se pokazao kao dobro podnošljiv i siguran lijek, lako dostupan pacijentima. (Messina i sur., 2020)

S druge strane, postoje neinvazivne metode neuromodulacije odobrene za primjenu kod akutnih napadaja i njihove prevencije: transkranijalna magnetska stimulacija jednim pulsom (engl. *single-pulse transcranial magnetic stimulation*, sTMS), supraorbitalna transkutana živčana stimulacija (engl. *supraorbital transcutaneous nerve stimulator*, STNS) i neinvazivna stimulacija vagusa (engl. *noninvasive vagus nerve stimulator*, nVNS). Mehanizam djelovanja nije potpuno jasan, ali smatra se da moduliraju bol električnim i magnetskim impulsima, a primjena podrazumijeva stavljanje uređaja na glavu te prenošenje impulsa preko kože u dublje strukture. Nadalje, dokazano smanjuju učestalost napadaja, intenzitet i trajanje boli te primjenu lijekova s akutnim djelovanjem (Rashmi i sur., 2019).

Nedostaci spomenute terapije za kroničnu migrenu su nedostatak jakih kliničkih dokaza o djelotvornosti (off label primjena), skromna učinkovitost (praćeno kao smanjenje broja dana s glavoboljom i intenziteta glavobolje ili te kroz povećanje kvalitete života oboljelih), profil neželjenih učinaka, interakcije s drugim lijekovima i ksenobioticima, te svakodnevna dugotrajna primjena. To sve negativno utječe na suradljivost bolesnika i adherenciju prema terapiji. Stoga je traganje za lijekom koji će imati dokazanu djelotvornost u terapiji kronične migrene uz dobar sigurnosni profil, kao i za pacijenta prihvatljivu primjenu, predstavlja izazov dugi niz godina.

Prvi lijek koji je dobio službeno odobrenje od regulatornih agencija za lijekove za primjenu u terapiji kronične migrene, te se uspješno koristi već više od 10 godina, je botulinum toksin tipa A.

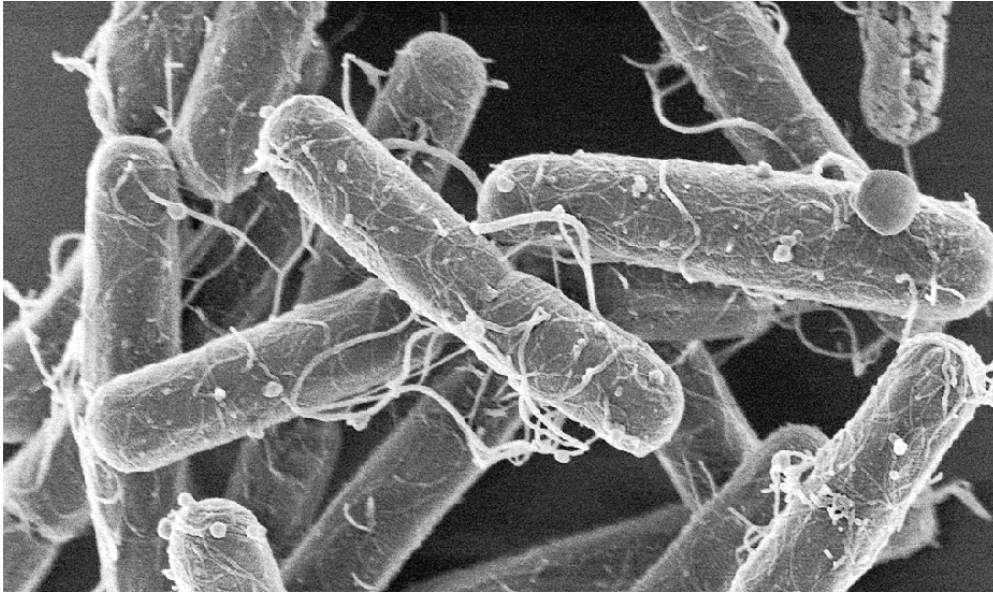
Tablica 3. Farmakološke karakteristike lijekova u liječenju migrene (prema ref. Lupi i sur., 2019; Szkutnik-Fiedler, 2020)

	NSAIL	Triptani	Gepanti	Lasmiditan
Osnovni mehanizam djelovanja	Inhibitori COX1 i 2, CB1 i TRPV1 (paracetamol)	Agonisti 5-HT _{1B/1D} receptora	Vežanje na CGRP rec.-antagonisti (inhibicija djelovanja CGRP-a)	Agonist 5-HT _{1F} receptora
Primjena (oblici,doze, način primjene)	<u>Paracetamol:</u> tablete,šumeće tablete-1000mg <u>Ibuprofen:</u> tablete i šumeće granule-400,600mg <u>Acetilsalicilna kiselina:</u> tablete-1000mg Kombinacije s kofeinom	<u>Sumatriptan:</u> tablete 50, 100mg, intranazalno 20mg, subkutano <u>Rizatriptan:</u> oralno(tableta 5, 10mg, liofilizat 5, 10mg <u>Zolmitriptan:</u> oralno(tableta 2,5 mg, raspadljiva tableta 2,5mg), intranazalno <u>Naratriptan:</u> oralno(tableta 1mg, 2,5mg)	<u>Ubrogepant:</u> 50,100 i 200mg oralno(tablete) <u>Rimegepant:</u> šumeća tableta 75mg	Jednom dnevno oralnim putem- 50, 100, 200mg tablete
Kontraindikacije	Renalna insuficijencija, zatajenje bubrega, čir na želucu, zatajenje jetre (paracetamol), zadnji trimestar trudnoće ASA	Nekontrolirana hipertenzija, KVS bolesti, djeca i stariji od 65 godina	Navedeno pod „interakcije“	/
Najčešće nuspojave	Gastro- i kardiotoksičnost	Hipertenzija, palpitacije, umor, vrtoglavica, koronarna vazokonstrikcija	Mučnina, vrtoglavica, infekcija urinarnog trakta	Depresija CNS-a, sedacija, pospanost
Interakcije	ASK i ostali NSAIL, agonisti 5-HT receptora	Agonisti 5-HT receptora,linezolid (serotonininski sindrom)	CYP3A4 inhibitori (ketokonazol...) i induktori(fenitoin, barbiturati...)	Agonisti 5-HT receptora, linezolid, beta blokatori

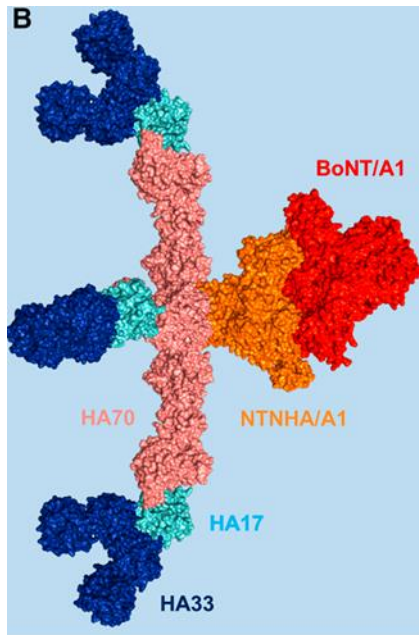
Legenda: NSAIL - nesteroidni antiinflamatorni lijekovi, ASK - acetilsalicilna kiselina; COX1 - ciklooksigenaza 1; CB1- kanabinoidni receptor 1; TRPV1- podtip vaniloidnog receptora; KVS - kardiovaskularni sustav

4.4. Botulinum toksin

Botulinum toksin (BoNT-A) jedna je od najtoksičnijih tvari iz prirode poznatih ljudskoj vrsti, po sastavu je protein i djelovanju neurotoksin. Proizvodi ga bakterija *Clostridium botulinum* (Slika 3), po kojoj je i dobio naziv. Postoji osam serotipova neurotoksina: A, B, C1, C2, D, E i F od kojih je tip A najpotentniji. Botulinum toksin u bakteriji nastaje u obliku progenitorskog kompleksa (engl. *progenitor toxin complex*, PTC). Zatim dolazi do spajanja toksina s netoksičnim nehmagutininskim proteinima (NTNHA) u minimalno funkcionalan PTC (engl. *minimally functional PTC*, M-PTC). Nakon toga, M-PTC se spaja s tri molekule hemaglutinina: HA70, HA17 i HA33 u veliki PTC (engl. *large PTC*, L-PTC). Spomenuta molekula toksina sastoji se od dva aktivna polipeptidna lanca molekulske mase oko 150 kDa, kojeg čine teški lanac (engl. *heavy chain*, HC) od 100 kDa i laki lanac od 50 kDa povezani disulfidnim mostom. Laki lanac ujedno je i cink proteaza s proteolitičkim djelovanjem ključnim za učinak toksina. Nadalje, bioaktivni dio molekule povezan je s inaktivnim proteinima (NTNHA) u makromolekulski kompleks molekulske mase oko 900 kDa koji ga čine stabilnim i otpornim na proteolitičko kidanje (Slika 4). Hemaglutinini služe za vezanje toksina na sluznicu crijeva, koje je prekriveno slojem mukusa. Pomoću HA70, toksin se veže na N-acetilneuraminsku kiselinu glikozaminoglikana (GAG) na sluznici, dok galaktozu GAG-a veže HA33. Kompleks hemaglutinina, osim vezanja, ima mogućnost otimanja adhezijskog proteina E-kadherina, koji drži epitelne stanice crijeva na okupu, i uništavanja intestinalne barijere. Stvaranje kompleksa toksina s nehmaglutininskim i hemaglutininskim proteinima ključno je za njegovo preživljavanje u kiselom pH i prodiranje u stanice. Toksin, kada prođe intestinalnu barijeru i distribuira se po organizmu, djeluje tako da sprječava otpuštanje acetilkolina iz presinaptičkih motornih neurona u neuro-muskularnoj vezi te na taj način uzrokuje mišićnu paralizu. Zahvaljujući takvom djelovanju, danas je ovaj neurotoksin odobren u terapiji hiperkontraktilnosti mišića poput strabizma, cervikalne distonije, blefarospazma, dječje cerebralne paralize, hemifacijalnog spazma, a broj indikacija se još uvijek povećava. Također, osim u terapiji, koristi se i u kozmetici za zatezanje lica, uklanjanje bora i reduciranje njihovog nastanka (Kwonk-Ho i Rongsheng, 2015).



Slika 3. *Clostridium botulinum* slikana elektronskim mikroskopom (prilagođeno i preuzeto s <https://www.semanticscholar.org/paper/Genomic-organization-and-diversity-of-Clostridium-Skarin/bd3dddf116e8ca104fa5db730819eca71be26d4c>)

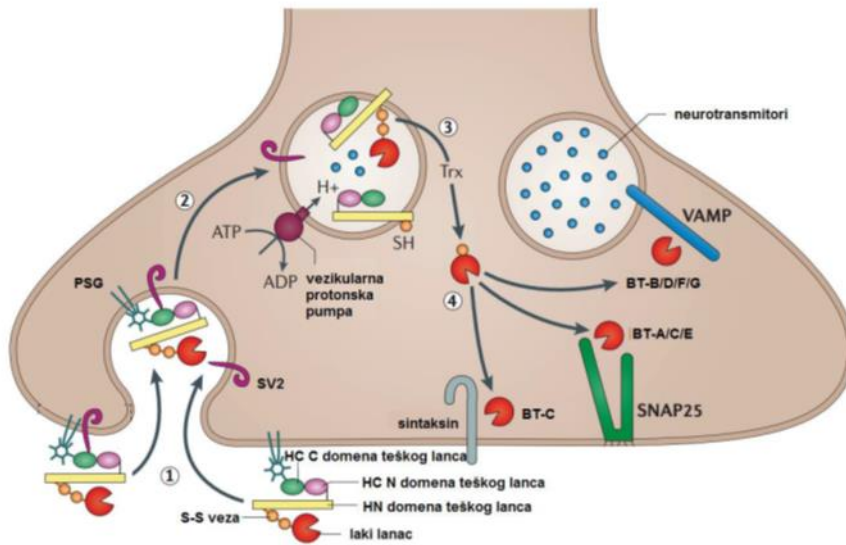


Slika 4. Struktura botulinum toksina (prilagođeno prema ref. Pirazzini i sur., 2017)

Botulinum toksin sastavljen je od dva polipeptidna lanca ukupne mase 150 kDa povezana s nehemaglutininima (NTNHA) i hemaglutininima (HA70, HA33 i HA17) u stabilan veliki progenitorski kompleks (L-PTC) mase 900 kDa.

4.4.1. Mehanizam djelovanja botulinum toksina

Botulinum toksin sprječava otpuštanje acetilkolina iz presinaptičkih motornih neurona i time uzrokuje mišićnu paralizu. U normalnim uvjetima, uz podražaj koji dovodi do depolarizacije membrane presinaptičkog neurona, acetilkolin se otpušta iz vezikula u sinaptičku pukotinu te se veže na acetilkolinske i nikotinske receptore koji se nalaze na membrani postsinaptičkog neurona i time dovodi do mišićne kontrakcije. Nakon izloženosti oralnim putem, inhalacijom ili putem inficirane rane, primarno mjesto djelovanja botulinum toksina u organizmu su kolinergički završeci neurona. Aktivni dio molekule, građen od teškog i lakog lanca, specifično se veže preko teškog lanca na protein SV2 (engl. **synaptic vesicle protein**), gangliozide i sinaptotagmin te procesom endocitoze, u obliku vezikule ili endosoma, ulazi u stanicu. Nadalje, unutar endosoma dolazi do sniženja pH i translokacije lakog lanca na citosolnu stranu te redukcije disulfidne veze, čime se odvajaju dva lanca. Toksin se nakon endocitoze i cijepanja, preko lakog lanca, visokim afinitetom veže na proteine SNARE kompleksa (engl. soluble N-ethylmaleimide-sensitive-factor attachment protein receptor) koji se sastoji od: SNAP-25, sinaptobrevina i sintaksina i koji je zaslužan za stapanje sinaptičke vezikule s membranom presinaptičkog neurona i otpuštanje acetilkolina. Botulinum toksin tip A specifično proteolitički cijepa SNAP-25 protein, a time i proces stapanja vezikule s membranom i egzocitoze neurotransmitora (prikazano na slici 5). S druge strane, toksin tip B cijepa sinaptobrevin ili VAMP (engl. vesicle-associated membrane protein) ispoljavajući isto konačno djelovanje (Dressler i Saberi, 2005; Luvisetto i sur., 2015).



Slika 5. Mehanizam djelovanja botulinum toksina na živčano-mišićnoj vezi (preuzeto iz Drinovac Vlah, 2017)

U prvom koraku botulinum toksin veže se preko teškog lanca na proteine i gangliozide membrane živčanog završetka te endocitozom ulazi u stanicu u boliku vezikule. U vezikuli dolazi do cijepanja dva lanca te prelaska lakog lanca na citosolnu stranu membrane i njegovog vezanja za SNAP-25. BoNT-A, kao i tipovi C i E cijepaju istu metu – SNAP-25, dok tipovi B, D, F i G cijepaju VAMP protein na membrani vezikule. Laki lanac BoNT-A ima proteaznu aktivnost i cijepa 9 aminokiselina sa SNAP-25 proteina (dio SNARE kompleksa) te posljedično dovodi do blokiranja privlačenja i fuzije vezikule s membranom neurona te inhibicije otpuštanja acetilkolina u sinaptičku pukotinu. Blokiranjem otpuštanja acetilkolina ne dolazi do kontrakcije mišića.

4.4.2. Antinociceptivni učinak botulinum toksina – pregled pretkliničkih istraživanja

Godinama se vjerovalo kako BoNT-A djeluje samo na živčano-mišićnoj vezi blokirajući otpuštanje acetilkolina dok Tsui i sur. (1986) nisu opazili olakšanje boli u pacijenata s cervikalnom distonijom nakon primjene BoNT-A u dozi od 40 ng intramuskularno. Pretpostavili su kako je takav učinak BoNT-A posljedica redukcije grčenja mišića. No, u većini provedenih studija (Silberstein i sur., 2000; Aoki, 2003; Freund i Schwartz, 2003) pokazalo se da analgetski učinak BoNT-A nastupa prije miorelaksirajućeg te traje nekoliko tjedana ili mjeseci, za razliku od miorelaksirajućeg. Na temelju toga zaključeno je kako mehanizam djelovanja BoNT-A na bol mora biti neovisan o učinku na mišiće te da ima sekundarno mjesto djelovanja, senzorne neurone. Dugotrajan učinak BoNT-A posljedica je njegove relativne stabilnosti i otpornosti na proteolitičku razgradnju te zadržavanja lakog lanca u citoplazmi stanice. Zahvaljujući tome, te uz dobar sigurnosni profil, BoNT-A predstavlja analgetik posebnih svojstava koji je veliki potencijal za liječenje kronične boli te je u prednosti ispred analgetika koji se primjenjuju svakodnevno zbog kratkog djelovanja. Mehanizam kojim toksin blokira otpuštanje acetilkolina jednak je onome kojim blokira otpuštanje neurotransmitora (glutamata, tvari P i CGRP-a) iz senzornih neurona. Antinociceptivni učinak istraživan je i dokazan na eksperimentalnim modelima boli *in vitro* i *in vivo*, ali i ljudima koji pate od glavobolje, fantomske boli, postoperativne boli i drugih bolnih stanja. (Filipović, 2016; Drinovac Vlah, 2017)

Dosada su za istraživanje antinociceptivnog djelovanja BoNT-A korišteni eksperimentalni modeli upalne, visceralne, neuropatske, postoperativne boli i kronične bilateralne mišićne hiperalgezije.

Jedan od najčešće korištenih eksperimentalnih modela je formalinski test prilikom kojeg se injiciranjem formalina u plantarni dio stražnje šape životinja, najčešće štakora ili miševa, inducira upalna bol. Prate se promjene ponašanja (lizanje šape) nakon injiciranja formalina koje dolaze u dvije faze (1. faza: akutna bol zbog djelovanja formalina, 2. faza: upalna bol). Cui i sur. (2004) proveli su eksperiment na štakorima i uočili da se nakon primjene BoNT-A supkutano u dozi od 30 i.j./kg smanjilo lizanje šape tijekom druge faze te da je analgetski učinak nastupio unutar 24 h i trajao barem 12 dana. Luvisetto i sur. (2006) potvrdili su takav učinak BoNT-A na miševima. Osim formalinskog testa, koriste se modeli karagenana i kapsaicina kao induktora upalne boli. Bach-Rojecky i Lacković (2005) otkrivaju kako BoNT-A uvelike reducira hiperalgeziiju uzrokovanu karagenanom, ali ne djeluje na smanjenje edema šape. U

daljnjim istraživanjima na modelima karagenana i kapsaicina (Bach-Rojecky i sur., 2008; Favre-Guilmard i sur., 2009) potvrđeno je kako BoNT-A djeluje na bol, ali ne smanjuje edem uzrokovan karagenanom ili ekstravazaciju plazme uzrokovanu kapsaicinom te su zaključili da je analgetski učinak neovisan o protuupalom djelovanju.

Učinak na visceralnu bol istraživao se na modelima štakora kojima je bol u mjehuru uzrokovana korištenjem octene kiseline (Chuang i sur., 2004), cistitis induciran ciklofosamidom (Chuang i sur., 2009) i prostatitis induciran kapsaicinom (Chuang i sur., 2008). Injiciranje BoNT-A u ova tri modela uzrokovao je inhibiciju otpuštanja CGRP-a iz živčanih završetaka koji inerviraju mjehur štakora, redukciju ekspresije COX 2 (ciklooksigenaza 2) i receptora za prostaglandin, što se povezuje sa smanjenjem boli.

Neuropatska bol vrsta je kronične boli uzrokovana ozljedom ili disfunkcijom perifernog ili središnjeg živčanog sustava. Za istraživanja antinociceptivnog djelovanja BoNT-A na ovu vrstu boli korišteni su modeli: ozljeda kralježnične moždine, presijecanje živca ishiadicusa (*n. ischiadicus*) ili spinalnog živca, zatim modeli neuropatske boli uzrokovane bolestima (dijabetička neuropatska bol, postherpetička bol). Jedna od prvih studija bila je na modelu parcijalnog presijecanja živca ishiadicusa (Bach-Rojecky i sur., 2005) gdje je pokazano znatno smanjenje hiperalgezije pet dana nakon jednokratne primjene BoNT-A u plantarnu stranu stražnje šape štakora. S druge strane, Park i sur. (2006) koristili su model podvezivanja spinalnog živca te proučavali redukciju alodinije nakon periferne primjene BoNT-A u šapu štakora te također pokazali dugotrajan antinociceptivni učinak nakon jednokratne primjene.

Učinak BoNT-A na postoperativnu bol proučavan je na modelu štakora zarezivanjem trbušastog mišića lista (*m. gastrocnemus*). Nakon supkutane primjene BoNT-A u šapu štakora, hiperalgezija je u potpunosti uklonjena te je taj učinak trajao barem 10 dana (Filipović i sur., 2010).

Suprotno uvriježenom mišljenju kliničara da BoNT-A djeluje isključivo na mjestu injiciranja-periferno, brojna su istraživanja u proteklih 10 godina pokazala da je mjesto djelovanja BoNT-A na bol središnji živčani sustav. Među prvim istraživanjima koje je ukazalo na udaljeno mjesto djelovanja BoNT-A u odnosu na mjesto primjene je istraživanje Antonucci i sur. (2008) koji su pokazali da BoNT-A cijepa SNAP-25 protein na mjestu udaljenom od mjesta injiciranja te pretpostavili da postoji retrogradni aksonalni transport kojim toksin dolazi u središnji živčani sustav. Isto je predloženo eksperimentom na modelu bilateralne boli nakon unilateralne primjene fiziološke otopine pH 0,4 u gastrocnemius mišić štakora. Utom je modelu unilateralno

primijenjen BoNT-A smanjio hiperalgeziju i na strani injiciranja i na suprotnoj strani, što je teško objasniti teorijom o lokalnom mjestu djelovanja. Dodatno, primjenom kolhicina – blokatora aksonalnog transporta i inhibitora depolimerizacije mikrotubula, spriječen je kontralateralan učinak BoNT-A, čime je predloženo da BoNT-A koristeći mikrotubulima-posredovan retrogradni transport dolazi do središnjih okončina primarnih aferentnih neurona u kralješničkoj moždini, gdje je glavno mjesto djelovanja na prijenos bolnih signala. (Bach-Rojecky i Lacković, 2009).

Za dokazivanje retrogradnog aksonalnog transporta BoNT-A najznačajnije su studije u kojima je korišteno protutijelo specifično za pocijepani SNAP-25 protein (engl. *cleaved SNAP-25*, cSNAP-25), koji nastaje proteolitičkim djelovanjem BoNT-A. Antonucci i sur. (2008) koristili su poliklonsko protutijelo za detekciju cSNAP-25 proteina te su osim u hipokampusu, gdje je injiciran BoNT-A, detektirali cSNAP-25 i kontralateralno 3 dana nakon primjene. Restani i sur. (2011) u svom su eksperimentu, nakon injiciranja BoNT-A u oko štakora, detektirali cSNAP-25 u optičkom tektumu. S druge strane, u trigeminalnom senzornom sustavu, Matak i sur. (2011) su detektirali cSNAP-25 u trigeminalnoj kaudalnoj jezgri (lat. *trigeminal nucleus caudalis*, TNC) 3 dana nakon injiciranja BoNT-A u područje brkova štakora. Primjenom kolhicina u trigeminalni ganglij, blokirali su antinociceptivni učinak toksina na orofacijalnom formalinskom modelu upalne boli, a time i detekciju cSNAP-25. Ovim istraživanjima dokazana je povezanost antinociceptivnog učinka toksina i prisutnosti cSNAP-25 proteina u senzornim dijelovima središnjeg živčanog sustava te je potvrđena mogućnost retrogradnog aksonalnog transporta BoNT-A.

Ispitivanja djelovanja BoNT-A u modelima boli u području glave i vrata (modeli migrene)

Različite vrste periferne boli na animalnim modelima u području glave i vrata (spomenuti u uvodnom dijelu rada), odnosno u područjima koja inerviraju trigeminalni i okcipitalni živac praćene su neurogenom upalom kranijalne dure, što se očituje ekstravazacijom proteina plazme u tkivo dure te infiltracijom tkiva s proupalnim stanicama. Usporkos jednostranoj ozljedi tkiva, u takvim je modelima i bol i upala kranijalne dure bilateralna, a intenzitet i trajanje boli i upale ovise o rujanju i intenzitetu ozljede. Filipović (2016) je u seriji eksperimenata pokazao da BoNT-A ostvaruje učinak na bol i upalu nakon periferne primjene. Utvrđeno je da je učinak na bilateralnu alodiniju u modelu neuropatske boli na licu prisutan i nakon injiciranja u supotnu – neozlijeđenu stranu lica, kao i nakon injiciranja u trigeminalni ganglij. Budući da je učinak BoNT-A potpuno poništen kolhicinom – blokatorom aksonalnog transporta, pretpostavljeno je

da je mjesto djelovanja BoNT-A na bol središnje, odnosno isključena je periferija, odnosno mjesto injiciranja kao primarno mjesto analgetskog djelovanja BoNT-A.

4.4.3. Klinička primjena botulinum toksina u liječenju boli

OnaBoNT-A (Botox®) je na temelju dvije multicentrične studije treće faze kliničkog ispitivanja (PREEMPT studije) odobren 2011. godine za prevenciju kronične migrene. Za tu indikaciju primjenjuje se intramuskularno na 31 mjesto u području glave i vrata u dozi od 5 jedinica po mjestu injiciranja. U toj studiji u kojoj je sudjelovalo 1384 sudionika, pokazana je značajna učinkovitost BoNT-A na reduciranje učestalosti napadaja migrene te njegov potencijal primjene za prevenciju kronične migrene (Dodick i sur., 2010).

Glavni rezultati dobiveni analizom objedinjenih podataka o djelotvornosti nakon dvaju liječenja OnaBoNT-A (Botox) koji je primijenjen u intervalu od 12 tjedana u dvama kliničkim ispitivanjima faze 3 u bolesnika s kroničnom migrenom (N = 688) koji su unutar početnog razdoblja od 28 dana imali najmanje 4 epizode i ≥ 15 dana s glavoboljom (u najmanje 50% slučajeva radilo se o migreni/vjerojnoj migreni) pokazali su da u odnosu na placebo BoNT-A značajno smanjuje učestalost dana s glavoboljom (-8,6 BoNT-A vs. -6,6 placebo) i ukupan zbroj sati glavobolje na dane s glavoboljom (-120 BoNT-A vs. -80 placebo), a povećava udio bolesnika sa smanjenjem broja dana s glavoboljom od 50% (47% vs. 35% placebo) (www.halmed.hr). Na osnovu takvih pozitivnih rezultata BoNT-A je bio prvi lijek čija je primjena odobrena u prevenciji kronične migrene.

Jackson i sur. (2012) u svom istraživanju potvrđuju takav učinak OnaBoNT-A, ali pokazali su da on nema značajno djelovanje na tenzijske, epizodične tenzijske glavobolje ili epizodične migrene. Danas je kronična migrena jedini bolni poremećaj za čiju je primjenu odobren BoNT-A iako postoje dokazi o njegovu djelovanju i na druge vrste bolnih stanja. BoNT-A je dokazano učinkovit u liječenju postherpetičke, trigeminalne i posttraumatske neuralgije. Pozitivno djelovanje na postherpetičku neuralgiju pokazano je dvostruko slijepom, placebo kontroliranom studijom u kojoj su pacijenti bili podijeljeni u tri grupe. Jedna grupa primila je BoNT-A, druga placebo i treća lidokain te je zabilježeno znatno poboljšanje simptoma u pacijenata koji su primili toksin. Djelovanje je počelo tri dana nakon injiciranja i trajalo je tri mjeseca, a poboljšanje kvalitete života očitovano je povećanjem broja sati spavanja pacijenata u usporedbi s grupama koje su primile placebo i lidokain. Također je zabilježeno da su pacijenti

liječeni BoNT-A uzimali puno manje opioidnih lijekova (Xiao i sur., 2010). Randomizirana, dvostruko slijepa i placebom kontrolirala studija koju su proveli Ranoux i sur. (2008) također je pokazala direktan analgetski učinak BoNT-A na neuropatsku bol. U studiju je bilo uključeno i 4 pacijenata s postherpetičkom neuralgijom, a kod sva četiri je došlo do značajnog olakšanja boli. Ova studija pokazala je učinkovitost BoNT-A i na post-traumatsku neuralgiju koju je imalo 18 pacijenata uključenih u istraživanje. Dva tjedna nakon injektiranja došlo je do smanjenja intenziteta boli te je učinak trajao 14 tjedana. Sustavni pregled i analizu rezultata studija provedenih u svrhu ispitivanja učinkovitosti BoNT-A u liječenje kronične migrene i drugih bolnih poremećaja proveli su Matak i sur. (2019) u svojem radu s ciljem opisivanja farmakoloških karakteristika BoNT-A, mehanizma djelovanja u neuronima i nociceptivnom sustavu.

Učinkovitost BoNT-A u liječenju trigeminalne neuralgije pokazana je u nekoliko dvostruko slijepih studija na ljudima. U jednoj od njih sudjelovalo je 40 pacijenata s trigeminalnom neuralgijom, 21 je primilo BoNT-A, a ostatak placebo. U usporedbi s placebo grupom, BoNT-A grupa imala je značajno poboljšanje zbog redukcije učestalosti i intenziteta boli nakon 75 jedinica injektiranog toksina (Wu i sur., 2012). Nakon nje, provedena je veća studija na 84 pacijenata podijeljenih u tri grupe od kojih je jedna placebo, a druge dvije su grupe pacijenata kojima je injektirano 25 i 75 jedinica BoNT-A. Uspoređivan je učinak niske i visoke doze toksina s placebom te je pokazana puno veća učinkovitost u grupama kojima je injektiran toksin. Zaključeno je i da niska doza ima približnu učinkovitost kao visoka u smanjenju boli, ali manje rizika od nuspojava (Zhang i sur., 2014). Provedena ispitivanja potvrđuju analgetski učinak BoNT-A na neuropatsku bol i poboljšanje kvalitete života pacijenata. U budućnosti je potrebno provesti ispitivanje kojim bi se odredila točna doza, broj mjesta injiciranja i način primjene BoNT-A kako bi se postigla maksimalna učinkovitost i minimizirale nuspojave (Safarpour i sur., 2018).

S druge strane, učinak BoNT-A u liječenju dijabetičke neuropatije pokazan je u dvije dvostruko slijepa studije u kojima je djelotvornost toksina mjerena smanjenjem intenziteta boli i simptoma žarenja te povećanjem broja sati spavanja (Yuan i sur., 2009; Ghasemi i sur., 2014). Recentnija meta-analiza prikazuje kombinirane rezultate deset kontroliranih studija koje su ispitivale djelotvornosti BoNT-A u liječenju kronične periferne neuropatije na 505 pacijenata. Rezultati pokazuju smanjenje intenziteta boli jedan i tri mjeseca nakon injiciranja, kao i povećanje kvalitete života pacijenata. Zaključeno je da BoNT-A ima značajan klinički učinak u smanjenju

intenziteta neuropatske boli do 3 mjeseca nakon primjene u usporedbi s placeboom (Hary i sur., 2022).

Slične rezultate i zaključke dobili su Gupta i sur. (2022) u svojem sustavnom pregledu i meta-analizi 17 studija koje su se provodile do 2021.godine. Provedena su ispitivanja djelotvornosti toksina u liječenju boli donjeg dijela leđa, plantarnog fascitisa, lateralnog epikondilitisa, sindroma piriformisa i bolova u zdjelici.

Foster i sur. (2001) proveli su istraživanje djelovanja toksina na bol u donjem dijelu tijela. Injicirali su 40 jedinica toksina u lumbarni dio leđa pacijenata što je rezultiralo pozitivnim djelovanjem BoNT-A. Slične rezultate imala je studija sa 75 pacijenata kojima je injektirana doza od 40 jedinica toksina imala pozitivna učinak koji je trajao 14 mjeseci (Jabbari i sur., 2006). Plantarni fascitis ili petni trn bol je u peti nastala zbog propadanja kolagenskih vlakana platarnе fascije. Tri placebo kontrolirane studije pokazale su značajniju učinkovitost BoNT-A u odnosu na placebo (Babcock i sur., 2005; Huang i sur., 2010; Peterlein i sur., 2012). S druge strane, Elizondo-Rodriguez i sur. (2013) usporedili su djelotvornost deksametazona i BoNT-A te zabilježili puno veće olakšanje boli u pacijenata kojim je injektiran BoNT-A. Sindrom piriformisa bolno je stanje koje nastaje iritacijom ishijadičnog živca zbog hiperaktivnosti *m.piriformisa*. U tri provedena placebo kontrolirana ispitivanja BoNT-A smanjio je intenzitet boli u pacijenata (Fishman, 2002; Childers, 2002; Fishman, 2016). Kronični epikondilitis ili teniski lakat bolno je stanje koje najčešće nastaje zbog upale tetiva podlaktice ili njihovim oštećenjem. Karakteriziran je jakim boli u području lakta koja se širi u podlakticu. Učinkovitost BoNT-A u liječenju boli ovoga stanja ispitana je u nekoliko randomiziranih, dvostruko slijepih i placebo kontroliranih studija. Pozitivne rezultate studije dobili su Wong i sur. (2005) nakon injiciranja 60 jedinica toksina supkutano u pogođenu ruku pacijenata. U usporedbi s placebo grupom, BoNT-A je pokazao veću učinkovitost u smanjenju boli. Takav učinak toksina potvrđen je i u studiji sa 132 pacijenta s epikondilitisom kojima su injektirani ili placebo ili 60 jedinica BoNT-A (Dysport®). Pokazano je da je toksina učinkovita terapija kroničnog epikondilitisa (Placzek i sur., 2007).

Primjena BoNT-A u liječenju kronične migrene

Kao što je navedeno, od 2011. godine Onabotulinum toxin (Botox®) se koristi za olakšanje simptoma u odraslih koji ispunjavaju kriterije za kroničnu migrenu, kod kojih nema adekvatnog odgovora na lijekove za profilaksu migrene ili koji ne podnose takve lijekove.

Preporučena doza BoNT-A je 155-195 i.j. intramuskularno, kao injekcije od 0,1 mL (5 jedinica) na 31 do 39 mjesta, a injekcije se moraju podijeliti na 7 specifičnih mišićnih područja glave/vrata: *corrugator*, *procerus*, *frontalis*, *temporalis*, *occipitalis*, *trapezius*, vratna paraspinalna mišićna skupina. Za svaki mišić definirana je maksimalna doza te mjesta injiciranja. Osim za *procerus*, u ostale mišiće injekcije se primjenjuju s obje strane glave i vrata. Preporuča se ponavljati liječenje svakih 12 tjedana u slučaju pozitivnog odgovora.

U kliničkim ispitivanjima kod kronične migrene incidencija neželjenih učinaka je bila 26% kod prvog liječenja i smanjila se na 11% kod drugog liječenja, a najčešće se javlja slabost lokalnih mišića, rijetko i slabost mišića na udaljenim područjima, poput pareze lica, ptoze vjeđa. Nuspojave su bile rezlogom prekida liječenja u 3,8% slučajeva (u odnosu na 1,2% prekida u placebo skupini) (www.halmed.hr).

4.4.4. Dostupni pripravci botulinum toksina na tržištu

Trenutno su na tržištu dostupna tri proizvoda koji sadrže BoNT-A: Botox[®]/Vistabel[®], Dysport[®]/Azzalure i Xeomin[®]/Bocouture, te dva s BoNT-B toksinom: NeuroBloc[®] i Myobloc[®] (Samizadeh i De Boule, 2018).

Botox[®] ili OnabotulinumtoxinA (OnaBoNT-A) se najviše koristi ne samo u kozmetici, već i u liječenju migrene, hiperhidroze, urinarne inkontinencije povezane s neurološkim bolestima, strabizma, cervikalne distonije, blefarospazma, dječje cerebralne paralize, hemifacijalnog spazma, a dijapazon indikacija će se s vremenom vjerojatno povećavati (Drinovac Vlah, 2017).

Xeomin[®] ili IncobotulinumtoxinA (IncoBoNT-A) pripravak je koji se koristi za liječenje blefarospazma, cervikalnu distoniju, mišićni spazam ruku i gornjeg dijela tijela, nekontroliranog treptanja. Također se koristi za privremeno uklanjanje bora, a siguran je za primjenu kod djece starije od 2 godine života u liječenju spazma gornje usne i sijaloreje (pretjeranog izlučivanja slina) (www.halmed.hr).

Dysport[®] ili AbobotulinumtoxinA (AboBoNT-A) pripravak je botulinum toksina koji se koristi za liječenje cervikalne distonije kod odraslih i spazam različitih dijelova tijela u odraslih i djece starije od 2 godine. Nema dokazan učinak kod pacijenata koji pate od cerebralne paralize (Matarasso i Shafer, 2009).

NeuroBloc[®] predstavlja aktivni oblik botulinum toksina tipa B koji je dobio odobrenje za liječenje cervikalne distonije u odraslih ljudi. Myobloc[®] ili RimabotulinumtoxinB (RimaBoNT-B) pripravak je botulinum toksina B koji se koristi u liječenju cervikalne distonije i kronične sijaloreje. Oba oblika koriste se i za liječenje cerebralne paralize, hiperhidroze, hiperkontraktilnosti mišića (Dressler i Eleopra, 2009).

Usporedba formulacija dostupnih na globalnom tržištu prikazana je u Tablici 2.

Tablica 4. Usporedba formulacija BoNT-A i BoNT-B registriranih na tržištu Europe i Sjeverne Amerike (preuzeto iz Radoš Filipović, 2019)

	Botox® / Vistabel®	Dysport® / Azzalure®	Xeomin® / Boccouture®	Neurobloc® / Myobloc®
Generičko ime	Onabotulinumtoksin A	Abobotulinumtoksin A	Incobotulinumtoksin A	Rimabotulinumtoksin B
Proizvođač	Allergan (SAD)	Ipsen Pharmaceuticals (Francuska)	Merz Pharmaceuticals (Njemačka)	US WorldMeds(SAD)
<i>C.botulinum</i> soj	Soj A-hyper	Soj A	Soj A (ATCC 3502)	Bean
Tip toksina	A1	A1	A1	B1
MW (PTC)	900 kDa (Da)	MW nije objavljena (Da)	150 kDa (Ne)	MW nije objavljena (Da)
Farmaceutski oblik	Vakuum sušeni prašak za rekonstituciju	Liofiliziran prašak za rekonstituciju	Liofiliziran prašak za rekonstituciju	Otopina spremna za uporabu
Rok trajanja	2-8 °C 36 mjeseci	2-8 °C 24 mjeseca	Sobna temperatura 36 mjeseci	2-8 °C 24 mjeseca
pH (rekonstituiran)	7.4	7.4	7.4	5.6
Ekscipijenti	U 100 jed u viali: HAS 500µg NaCl 900 µg/viali	U 500 U u viali: HSA 125 µg Laktoza (2,5 mg /viali)	U 100 jed u viali: HAS 1000 µg Sukroza (4,7 µg/viali)	HAS 500 µg/mL Sukcinat 10mM NaCl 100mM
Jedinice (i.j.)/Viala	100 i.j. ili 200 i.j. Botox 50 i.j. Vistabel	300 i.j. ili 500 i.j. Dysport 125 i.j. Azzalure	50, 100 ili 200 i.j. Xeomin 50 i.j. Boccouture	2500 i.j. /0,5mL 5000 i.j./1mL 10.000 i.j./2mL
Količina proteina/viala	5 ng/100 i.j.	4,87 ng/100 i.j.	0,44 ng/100 i.j.	55 ng/2500 i.j.
Klinička aktivnost u odnosu na Botox	1	1:2-1:3	1:1	1:40-1:50

HAS – humani serumski albumin; PTC- *progenitor toxin complex* (nativni kompleks toksina)

4.4.5. Ostale odobrene indikacije za primjenu BoNT-A

Botulinum toksin se kao terapija, osim za kroničnu migrenu, koristi i za liječenje cervikalne distonije i drugih vrsta distonija, blefarospazma, hiperaktivnosti mjehura, strabizma i dječje cerebralne paralize. Štoviše, BoNT-A se 20-tak godina prije primjene i liječenju boli, počeo koristiti i u medicinske i nemedicinske svrhe upravo zbog lokalnog paralitičkog djelovanja na mišiće. Time je postao najučinkovitija terapija fokalnih distonija različitog porijekla, ali i najčešće korišteni pripravak s kozmetičkom primjenom (korekcija bora).

1989. godine FDA je odobrila primjenu OnaBoNT-A za liječenje blefarospazma, a 2010. za istu indikaciju odobren je IncoBoNT-A. Blefarospazam je vrsta fokalne distonije kod koje dolazi do nevoljnih kontrakcija mišića očnih vjeđa koje kao posljedicu ima zatvaranje oka. Kontrakcije mogu utjecati na vid ako su toliko jake da uzrokuju potpuno zatvaranje vjeđa. Provedena je randomizirana studija u pacijenata s blefarospazmom od kojih je u 75 sudionika injektirana doza od 50 jedinica, a 34 sudionika dobilo je injekciju placeba. Za procjenu rezultata korištena je Jankovićeve skala (eng. Janković rating scale, JRS) posebno osmišljena za blefarospazam te je pokazano poboljšanje kod pacijenata koji su primili toksin u odnosu na placebo te značajna učinkovitost BoNT-A i BoNT-B u liječenju ovog poremećaja.

OnaBoNT-A je 1999. godine odobren za liječenje cervikalne distonije. Godinu dana nakon njega, RimaBoNT-B dobio je odobrenje za istu indikaciju, dok su AboBoNT-A i IncoBoNT-A odobrenje dočekali 2009. i 2010. godine. Cervikalna distonija ili spazmodični tortikolis poremećaj je karakteriziran jakim spazmom vratnih mišića uz prisutnu jaku bol. U provedenim studijama na pacijentima s cervikalnom distonijom određivala se učinkovitost toksina u liječenju ovog bolnog spastičnog stanja. Rezultati su mjereni skalom intenziteta cervikalne distonije te je pokazan pozitivan učinak primijenjenog toksina, zbog čega je dobio odobrenje.

Osim navedene dvije indikacije, BoNT-A se koristi i za liječenje drugih vrsta distonija: tardivne distonije, distonije gornjeg dijela tijela, oromandibularne distonije, spazmodične disfonije, trunkalna i druge. Tardivna distonija vrsta je distonije karakterizirana nevoljnim kontrakcijama mišića lica koja može biti posljedica uzimanja lijekova za psihičke poremećaje. S druge strane, distonija gornjeg dijela tijela predstavlja nevoljne intermitentne, a nekada i konstantne, kontrakcije mišića ruku, dok oromandibularna obuhvaća jezik, čeljust, ždrijelo i jedan dio lica. Nevoljni grčevi mišića prsišta i abdomena specifični su za trunkalnu distoniju. Spazmodična

disfonija poremećaj je mišića glasnica, a njihovim grčanjem glas puca ili se u potpunosti gubi kao i sposobnost pričanja. Distonije su najčešće karakterizirane paroksizmalnim i bolnim grčevima mišića koji narušavaju kvalitetu života. Dosada nije bilo opsežnih studija koje bi dokazale učinkovitosti BoNT-A u liječenju ovih distonija i time doprinijele odobrenju od strane FDA pa se nerijetko primjenjuje „off label“. (Spiegel i sur., 2020)

Učinkovitost BoNT-A u liječenju hiperaktivnosti mjehura dokazana je brojnim studijama. Ovaj poremećaj može nastati zbog idiopatske ili neurogene hiperaktivnosti *m.detrusora*. Randomiziranom dvostruko slijepom studijom Sahai i sur. (2007) uspoređivali su učinkovitost BoNT-A u usporedbi s placeboom te pokazali kako toksin u većem postotku reducira učestalost, nužnost i nevoljno mokrenje nakon primjene 200 jedinica injektiranih na 20 mjesta detrusora. Slični rezultati dobiveni su u većoj studiji na 240 žena s idiopatskom hiperaktivnošću *m.detrusora* od kojih je u njih 122 injektiran BoNT-A (Tincello i sur., 2012). Randomizirana, dvostruko slijepa, placeboom kontrolirana studija na 59 pacijenata koji pate od neurogene hiperaktivnosti *m.detrusora* pokazala je visoku učinkovitost BoNT-A u liječenju ovog poremećaja. Pacijentima kojima je injektiran toksin zabilježeno je povećanje kapaciteta mjehura, smanjenje urinarne inkontinencije za otprilike 50% te poboljšanje kvalitete života (Schurch i sur., 2005). Dvije kliničke studije na 1105 pacijenata koji pate od hiperaktivnosti mjehura posljedično zaslužne su za odobrenje primjene BoNT-A u liječenju ovog poremećaja 18. siječnja 2013. godine. Preporučena doza BoNT-A je 100 i.j. na 20 mjesta u detrusoru (www.ahdbonline.com).

Dječja cerebralna paraliza stanje je karakterizirano poremećajima koji onemogućavaju normalno kretanje i održavanje ravnoteže, a najčešće pogađa djecu. Karakterizirana je nevoljnim pokretima, nedostatkom ravnoteže, spazmom mišića, neobičan stav prilikom stajanja i nemirno hodanje. Dvostruko slijepa studija na pacijentima s cerebralnom paralizom provedena je zbog ispitivanja učinkovitosti BoNT-A u liječenju ovakvog poremećaja. Uključeno je 20 pacijenata u dobi od 2-13 godina podijeljenih u dvije grupe: BoNT-A i placebo grupa. Injektirani su sa 4 jedinice toksina po kilogramu u *m.gastrocnemius* te je zabilježen značajan napredak hodanja (povećana brzina, produljen korak) i povećanje stupnja dorzifleksije (savijanje stopala prema gore) u grupi kojoj je injektiran BoNT-A (Sutherland i sur., 1999). Provedena je i studija usporedbe učinka veće i manje doze BoNT-A na 33 djece u dobi od 3 do 21 godine sa cerebralnom paralizom. Jedna grupa injektirana je sa 200 jedinica toksina u nogu, a druga sa 300 jedinica. Pokazalo se da veća doza dovodi do značajnijih rezultata očitovanih kao povećanje brzine hoda i duljine koraka (Wissel i sur., 1999). Copeland i sur. (2014) u svojoj

studiji objavljuju pozitivne rezultate ispitivanja učinkovitosti BoNT-A u liječenju spazma kod djece s cerebralnom paralizom. FDA 9. srpnja 2020. godine odobrava primjenu BoNT-A u pacijenata sa spazmom donji ekstremiteta uzrokovanih cerebralnom paralizom na temelju studije provedene na 300 pacijenata sa preporučenom dozom od 300.i.j. svaka 3 mjeseca (www.news.abbvie.com).

5. ZAKLJUČAK

Botulinum toksin tip A odobren je 2011. godine za liječenje kronične migrene nakon brojnih studija i istraživanja provedenih sa svrhom ispitivanja učinkovitosti i sigurnosti primjene za ovaj bolni poremećaj. S obzirom na njegova posebna svojstva opisana u ovom radu (dugo djelovanje, dobra podnošljivost, lokalna primjena jednom u 3 mjeseca, sigurnost) BoNT-A ima prednost ispred uobičajenih empirijskih terapijskih pristupa kod kronične migrene (određeni antidepresivi, antikonvulzivi, beta-blokatori, itd.) koji se svakodnevno primjenjuju zbog kratkog i slabijeg djelovanja te imaju više nuspojava. Premda je istraživani više od 20 godina na animalnim modelima različitih vrsta boli, točan mehanizam djelovanja na bol, kao i farmakokinetika nisu posve razjašnjeni. Nakon lokalnog injiciranja (na 31-39 mjesta u području glave i vrata kod pacijenata s migrenom) BoNT-A putuje retrogradno prema središnjim okončinama primarnog aferentnog neurona gdje ispoljava svoj inhibitorski učinak na lučenje neurotransmitora uključenih u prijenos bolnih informacija, poput CGRP, SP, glutamata.

Nuspojave koje se mogu pojaviti nakon injiciranja u mišić ili intradermalno su slabost mišića, prolazna paraliza okolnih mišića, poteškoće govora ili gutanja zbog djelovanja na okolne mišiće. U budućnosti postoji mogućnost razvijanja specifičnijih oblika BoNT-A koji bi imali učinak samo na senzorne neurone te bi se toksin onda mogao primijenjivati u većim dozama s većom učinkovitosti i bez nuspojava kao što je paraliza mišića.

Osim u prevenciji kronične migrene, BoNT-A se zbog dokazane učinkovitosti koristi u liječenju brojnih motoričkih poremećaja. Liječenje cervikalne distonije, blefarospazma, hemifacijalnog spazma, cerebralne paralize, hiperhidroze, urinarne inkontinencije ili hiperaktivnosti mokraćnog mjehura samo su neke od indikacija u kojima se primjenjuje BoNT-A. Dijapazon indikacija BoNT-A proširuje se te se provode istraživanja u svrhu dobivanja odobrenja za primjenu toksina u liječenju neuropatske boli – postherpetičke neuralgije, trigeminalne neuropatije, visceralne boli, osteoartritis, tenzijske glavobolje i drugih. Standardizacija smjernica primjene i doziranja BoNT-A u pojedinim indikacijama kao i točno definiranje primarnih ishoda studija uvelike bi doprinijelo dobivanju preciznih rezultata s visokom razinom dokaza, a posljedično i odobrenja primjene BoNT-A u liječenju različitih bolnih i motoričkih poremećaja.

6. LITERATURA

- Ahmed F. Headache disorders: differentiating and managing the common subtypes. *British J Pain*, 2012, 6(3), 124-132.
- Aoki KR. Evidence of Antinociceptive Activity of Botulinum Toxin Type A in Pain Management. *Headache: J. Headache Pain*, 2003, 43, 9-15
- Babcock MS, Foster L, Pasquina P, Jabbari B. Treatment of pain attributed to plantar fasciitis with botulinum toxin a: a short-term, randomized, placebo-controlled, double-blind study. *Am J Phys Med*, 2005, 84(9), 649-654.
- Bach-Rojecky L, Dominis M, Lacković Z, Lack of antiinflammatory effect of botulinum toxin type A in experimental models of inflammation. *Fundam Clin Pharmacol*, 2008, 22(5), 503–509
- Bach-Rojecky L, Relja M, Lacković Z. Botulinum toxin type A in experimental neuropathic pain. *J Neural Transm*, 2005, 112(2), 215-219.
- Bergerot A, Holland PR, Akerman S, Bartsch T, Ahn AH, MaassenVanDenBrink A i sur. Animal models of migraine: Looking at the component parts of a complex disorder. *Europ J Neurosci*, 2006, 24(6), 1517-1534.
- BOTOX® Approved to Treat Overactive Bladder, 2013, <https://www.medscape.com>, pristupljeno 29.6.2022.
- Burnstein R, Nosedá R, Borsook D. Migraine: Multiple processes, complex pathophysiology. *J Neurosci*, 2015, 35(17), 6619-6629.
- Buzzi M, Moskowitz M. The trigeminovascular system and Migraine. *Path Biol*, 1992, 40(4), 313-317.
- Childers MK, Wilson DJ, Gnatz SM, Conway RR, Sherman AK. Botulinum Toxin Type A Use in Piriformis Muscle Syndrome. *Am J Phys Med*, 2002, 81(10), 751-759.
- Chuang YC, Yoshimura N, Huang CC, Chiang PH, Chancellor MB. Intravesical botulinum toxin a administration produces analgesia against acetic acid induced bladder pain responses in rats. *J Urol*, 2004, 172(4 Pt 1), 1529-1532
- Chuang YC, Yoshimura N, Huang CC, Wu M, Chiang PH, Chancellor MB. Intravesical botulinum toxin A administration inhibits COX-2 and EP4 expression and suppresses bladder hyperactivity in cyclophosphamide-induced cystitis in rats. *Eur Urol*, 2009,

56(1), 159-166

Chuang YC, Yoshimura N, Huang CC, Wu M, Chiang PH, Chancellor MB. Intraprostatic botulinum toxin a injection inhibits cyclooxygenase-2 expression and suppresses prostatic pain on capsaicin induced prostatitis model in rat. *J Urol*, 2008, 180(2), 742-748

Clemow DB, Hochstetler HM, Dong Y, Hauck P, Peres M, Ailani J. Effect of a change in lasmiditan dose on efficacy and safety in patients with migraine. *Postgraduate Medicine*, 2021, 133(4), 449-459.

Copeland L, Edwards P, Thorley M, Donaghey S, Gascoigne-Pees L, Kentish M, Cert G, Lindsley J, McLennan K, Sakzewski L, Boyd RS. Botulinum Toxin A for Nonambulatory Children with Cerebral Palsy: A Double Blind Randomized Controlled Trial. *J Pediatr*, 2014, 165(1), 140-146.

Cui M, Khanijou S, Rubino J, Aoki KR. Subcutaneous administration of botulinum toxin A reduces formalin-induced pain. *Pain*, 2004, 107(1-2), 125-133

Diener H. Chronic migraine - Classification, characteristics and treatment. *Nat Rev Neurol*, 2012, 8, 162-171.

Dodick DW, Turkel CC, DeGryse RE, Aurora SK, Silberstein SD, Lipton RB, Diener HC, Brin MF; PREEMPT Chronic Migraine Study Group. OnabotulinumtoxinA for treatment of chronic migraine: pooled results from the double-blind, randomized, placebo-controlled phases of the PREEMPT clinical program. *Headache*, 2010, 50(6), 921-936.

Dolly J, Aoki K. The structure and mode of action of different botulinum toxins. *Eur. J. Neurol*, 2006, 13(4), 1-9.

Dressler D, Eleopra R. Clinical use of non-a botulinum toxins: botulinum toxin type B. *Neurotoxic Res*, 2009, 9, 121-125.

Dressler D, Saberi F. Botulinum toxin: Mechanisms of action. *Eur Neurol*, 2005, 53(1), 3-9.

Durham P. Calcitonin gene-related peptide (CGRP) and migraine. *Headache*, 2006, 46(1), 2-8.

Eigenbrodt A, Ashina H, Khan S, Diener HS, Mitsikostas DD, Sinclair AJ, Pozo-Rosich P, Martelletti P, Ducros A, Lanteri-Minet M, Braschinsky M, Sanchez Del Rio M, Daniel

- O, Ozge A, Mammadbayli A, Arons M, Skorobogatykh K, Romanenko V, Terwindt GM, Paemeleire K, Sacco S, Reuter U, Lampl C, Schytz HW, Katsarava Z, Steiner TJ, Ashina M. Diagnosis and management of migraine in ten steps. *Nat Rev Neurol*, 2021, 17(8), 501-514.
- Elizondo-Rodriguez J, Araujo-Lopez Y, Moreno-Gonzalez JA, Cardenas-Estrada E, Mendoza-Lemus O, Acosta-Olivo C. A Comparison of Botulinum Toxin A and Intralesional Steroids for The Treatment of Plantar Fasciitis. *Foot and ankle international*, 2013, 34(1), 8-14.
- Favre-Guilnard C, Auguet M, Chabrier PE, Different antinociceptive effects of botulinum toxin type A in inflammatory and peripheral polyneuropathic rat models. *Eur J Pharmacol*, 2009, 617(1-3), 48-53
- FDA Approves Expanded BOTOX® (Onabotulinumtoxin A) Label for the Treatment of Pediatric Patients with Spacity, 2020., <https://news.abbvie.com>, pristupljeno 29.6.2022.
- Filipović B, Bach-Rojecky L, Lacković Z. Lasting reduction of postsurgical hyperalgesia after single injection of botulinum toxin type A in rat. *Fundam Clin Pharmacol*, 2010, 24(1), 43-45.
- Filipović B. Neurogena upala moždanih ovojnica i bol u području glave i vrata. Doktorska disertacija. Sveučilište u Zagrebu Medicinski fakultet, 2016.
- Fishman LM, Anderson C, Rosner B. BOTOX and Physical Therapy in Treatment of Piriformis Syndrome. *Am J Phys Med*, 2002, 81(12), 936-942.
- Fishman LM, Wilkins AN, Rosner B. Electrophysiologically identified piriformis syndrome is successfully treated with incobotulinum toxin a and physical therapy. *Muscle and Nerve*, 2017, 56(2), 258-263.
- Foster L, Clapp L, Erickson M, Jabbari B, Botulinum toxin A and chronic low back pain: A randomized, double-blind study. *Neurology*, 2001, 56, 1290–1293.
- Freund B, Schwartz M. Temporal relationship of muscle weakness and pain reduction in subjects treated with botulinum toxin A. *J. Pain*, 2003, 4(3), 159-165
- Ghasemi M, Ansari M, Basiri K, Shaigannejad V. The effect of intradermal botulinum toxin type a injections on pain symptoms of patients with diabetic neuropathy. *J Res Med Sci*, 2014, 19(2), 106-111.

- Goadsby P. Migraine Pathophysiology. *Headache*, 2005, 45(1), 14-24.
- Graham HK, Aoki R, Autti-Ramo I, Boyd R, Delgado M, Gaebler-Spira D, Gromley Jr. M, Guyer B, Heinen F, Holton A, Matthews D, Molenaers G, Motta F, Garcia Ruiz P, Wissel J. Recommendations for the use of botulinum toxin type a in the management of cerebral palsy. *Gait and Posture*, 2000, 11, 67-79.
- Gupta AD, Edwards S, Smith J, Snow J, Visvanathan R, Tucker G, Wilson D. A Systematic Review and Meta-Analysis of Efficacy of Botulinum Toxin A for Neuropathic Pain. *Toxins(Basel)*, 2022, 14(1), 36.
- Guyton A. C. i Hall J. E. Medicinska fiziologija. U: Tjelesni osjeti:II.Bol, glavobolja i toplinski osjeti. Kukolja Taradi S., Andreis I., urednici, *Medicinska naklada*, 2012, str. 591.
- Harriot A, Strother L, Vila-Pueyo M, Holland P. Animal models of migraine and experimental techniques used to examine trigeminal sensory processing. *J Headache Pain*, 2019, 20(1), 91.
- Hary V, Schitter S, Martinez V. Efficacy and safety of botulinum A toxin for the treatment of chronic peripheral neuropathic pain: A systematic review of randomized controlled trials and meta-analysis. *Eur J Pain*, 2022, 26(5), 980-990.
- Ho T, Edvinsson L, Goadsby P. CGRP and its receptors provide new insights into migraine pathophysiology. *Nat Rev Neurol*, 2010, 6(10), 573-582.
- Hsieh PF, Chiu HC, Chang CH, Chou E. Botulinum Toxin A for the Treatment of Overactive Bladder. *Toxins*, 2016, 8(3), 59.
- Huang YC, Wei SH, Wang HK, Lieu FK. Ultrasonographic guided botulinum toxin type A treatment for pplantar fasciitis: an outcome-based investigation for treating pain and gait changes. *J Rehabil Med*, 2020, 42(2), 136-140.
- Jabbari B, Ney J, Sichani A, Monacci W, Foster L, Difazio M. Treatment of refractory, chronic low back pain with botulinum neurotoxin A: an open-label, pilot study. *Pain Med*, 2006, 7(3), 260-264.
- Jackson JL, Kuriyama A, Hayashino Y. Botulinum toxin A for prophylactic treatment of migraine and tension headaches in adults: a meta-analysis. *JAMA*, 2012, 307(16), 1736-1745.

- Kwok-Ho L, Rongsheng J. Architecture of the botulinum neurotoxin complex: a molecular machine for protection and delivery. *Curr Opin Struct Biol*, 2015, 31, 89-95.
- Lipton R. Chronic migraine, classification, differential diagnosis, and epidemiology. *Headache*, 2011, 51(2), 77-83.
- Lupi C, Benemei S, Guerzoni S, Pellesi L, Negro A. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of new acute treatments for migraine. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2019, 15(3), 189-198.
- Luvisetto S, Gazerani P, Cianchetti C, Pavone F. Botulinum Toxin Type A as a Therapeutic Agent against Headache and Related Disorders. *Toxins*, 2015, 7(9), 3818-3844.
- Matak I, Bach-Rojecky L, Filipović B, Lacković Z. Behavioral and immunohistochemical evidence for central antinociceptive activity of botulinum toxin A. *Neurosci*, 2011, 186, 201-207
- Matak I, Bolcskei K, Bach-Rojecky L, Helyes Z. Mechanisms of Botulinum Toxin Type A Action on Pain. *Toxins(Basel)*, 2019, 11(8), 459.
- Matak I, Tekus V, Bolcskei K, Lacković Z, Helyes Z. Involvement of substance P in the antinociceptive effect of botulinum toxin type A: Evidence from knockout mice. *Neurosci*, 2017, 358, 137-145.
- Matarasso A, Shafer D. Botulinum Neurotoxin Type A-ABO (Dysport): Clinical Indications and Practice Guide. *Aesthetic Surg. J.*, 2009, 29(6), 72-79.
- May A, Goadsby P. The Trigeminovascular System in Humans: Pathophysiologic Implications for Primary Headache Syndromes of the Neural Influences on the Cerebral Circulation. *J. Cereb. Blood Flow Metab. : Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 1999, 19(2), 115-127.
- NG-Mak D, Fitzgerald KA, Norquist JM, Banderas B, Nelsen LM, Evans CJ, Healy C, Ho TW, Bigal M. Key concepts of migraine postdrome: A qualitative study to develop a post-migraine questionnaire. *Headache*, 2011, 51(1), 105-111.
- Oelsen J. Headache Classification Committee of the International Headache Society (IHS) The International Classification of Headache Disorders, 3rd edition. *Cephalalgia*, 2018, 38(1), 1-211.

- Park HJ, Lee Y, Lee J, Park C, Moon DE. The effects of botulinum toxin A on mechanical and cold allodynia in a rat model of neuropathic pain. *Can J Anaesth*, 2006, 53(5), 470-477
- Peterlein CD, Funk J, Holscher A, Schuh A, Placzek R. Is Botulinum Toxin A effective for the treatment of plantar fasciitis? *The clinical journal of pain*, 2012, 28(6), 527-533.
- Pietrobon D, Moskowitz M. Pathophysiology of migraine. *Annu Rev Physiol*, 2013, 75, 365-391.
- Pietrobon D. Migraine: New molecular mechanisms. *Neuroscientist*, 2005, 11(4), 373-386.
- Ranoux D, Attal N, Morain F, Bouhassira D. Botulinum toxin type a induces direct analgesic effects in chronic neuropathic pain. *Ann Neurol*, 2008, 64, 274–283.
- Rayvow, 2022., <https://www.ema.europa.eu>, pristupljeno 26.6.2022.
- Restani L, Antonucci F, Gianfranceschi L, Rossi C, Rossetto O, Caleo M. Evidence for anterograde transport and transcytosis of Botulinum neurotoxin A (BoNT/A). *J Neurosci*, 2011, 31(44), 15650-15659.
- Russo A. Calcitonin gene-related peptide (CGRP): A new target for migraine. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2015, 55, 533-552.
- Safarpour Y, Jabbari B. Botulinum Toxin Treatment of Movement Disorders. *Curr. Treat. Options Neurol*, 2018, 20, 4.
- Sahai A, Khan MS, Gregson N, Smith K, Dasgupta P. Botulinum toxin for detrusor overactivity and symptoms of overactive bladder: where are we now and where are we going. *Nat Clin Pract Urol*, 2007, 4, 379-386.
- Samizadeh S, De Bouille K. Botulinum neurotoxin formulations: overcoming the confusion. *Clin., Cosmet. Invest. Dermatol.*, 2018, 11, 273-287.
- Sažetak opisa svojstava lijeka Xeomin, 2021, https://halmed.hr/upl/lijekovi/SPC/Sazetak-opisa-svojstava-lijeka_89.pdf, pristupljeno 29.6.2022.
- Sažetak opisa svojstava lijeka Botox, 2021, <https://halmed.hr/upl/lijekovi/SPC/Sazetak-opisa-svojstava-lijeka-Botox-100-Allergan-paralelni-uvoz.pdf>, pristupljeno 29.6.2022.
- Schurch B, De Seze M, Denys P, Chartier-Kastler E, Haab F, Everaert K, Plante P, Perrouin-Verbe B, Kumar C, Fraczek S, Brin MF. 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. *J Urol*, 2005, 174(1), 196-200.
- Silberstein S, Mathew N, Saper J, Jenkins S, for the BOTOX Migraine Clinical Research Group. Botulinum Toxin Type A as a Migraine Preventive Treatment. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 2000, 40, 445–450.
- Silberstein S, Young W. Migraine Aura and Prodrome. *Seminars in Neurology*, 1995, 15(2), 175-182.
- Silberstein S. Migraine. *Lancet*, 2004, 363(9406), 381-391.
- Sutherland D, Kaufman KR, Wyatt M, Chambers HG, Mubarak SJ. Double-blind study of Botulinum A toxin injections into the gastrocnemius muscle in patients with cerebral palsy. *Gait and Posture*, 1999, 10(1), 1-9.
- Szkutnik-Fielder D. Pharmacokinetics, pharmacodynamics and drug–drug interactions of new anti-migraine drugs—Lasmiditan, gepants, and calcitonin-gene-related peptide (CGRP) receptor monoclonal antibodies. *Pharmaceutics*, 2020, 12(12), 1180.
- Tincello DG, Kenyon S, Abrams KR, Mayne C, Tooze-Hobson P, Taylor D, Slack M. Botulinum Toxin A Versus Placebo for Refractory Detrusor Overactivity in Women: A Randomised Blinded Placebo-Controlled Trial of 240 Women (the RELAY study). *Eur Urol*, 2012, 62(3), 507-514.
- Tremaine A, McCullough J. Botulinum toxin type A for the management of glabellar rhytids. *Clin Cosmet Investig Dermatol*, 2010, 3, 15-23.
- Tsui JK, Eisen A, Stoessl AJ, Calne S, Calne DB. Double-blind study of botulinum toxin in spasmodic torticollis. *Lancet*, 1986, 2(8501), 245-247.
- Wissel J, Heinen F, Schenkel A, Doll B, Ebersbach G, Muller J, Poewe W. Botulinum Toxin A in the Management of Spastic Gait Disorders in Children and Young Adults with Cerebral Palsy: A Randomized, Double-Blind Study of "High-Dose" versus "Low-Dose" Treatment. *Neuropediatrics*, 1999, 30(3), 120-124.
- Wong SM, Hui A, Tong PY, Poon D, Yu E, Kong L. Treatment of Lateral Epicondylitis with Botulinum Toxin: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Ann Intern Med*, 2005, 143(11), 793-797.

Wu JC, Lian JY, Zheng, YK, Zhang FH, Chen Y, Xie CN, Wang JL. Botulinum toxin type A for the treatment of trigeminal neuralgia: Results from a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Cephalalgia*, 2012, 32, 443–450.

Xiao L, Mackey S, Hui H, Xong D, Zhang Q, Zhang D. Subcutaneous Injection of Botulinum Toxin A Is Beneficial in Postherpetic Neuralgia. *Pain Medicine*, 2010, 11(12), 1827-1833.

Yuan RY, Sheu JJ, Yu JM, Chen WT, Tseng IJ, Chang HH, Hu CJ. Botulinum toxin for diabetic neuropathic pain: A randomized double-blind crossover trial. *Neurology*, 2009, 72, 1473–1478.

Zhang H, Lian Y, Ma Y, Chen Y, He C, Xie N, Wu C. Two doses of botulinum toxin type A for the treatment of trigeminal neuralgia: Observation of therapeutic effect from a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J. Headache Pain*, 2014, 15, 65.

7. SAŽETAK/ SUMMARY

Migrena je kompleksni poremećaj središnjeg živčanog sustava opisan kao rekurentna, epizodična ili kronična glavobolja koja pogađa veliki dio svjetske populacije. Specifična manifestacija je visok intenzitet boli, preosjetljivost na svjetlo i zvuk, mučnina, povraćanje i trajanje napadaja do 72 h, što dovodi do nefunkcionalnosti pacijenata, a time negativno utječe i na kvalitetu života. Terapiju akutne migrene čine lijekovi koji inhibiraju lučenje peptida i medijatora upale, vazodilataciju, sintezu prostaglandina, ekscitaciju trigeminalnog živca ili centar za povraćanje u produljenoj moždini. Za razliku od akutne, kroničnu migrenu koja pogađa dio pacijenata s migrenom je teže liječiti, zbog čega se empirijski koriste lijekovi iz drugih terapijskih skupina s lošom učinkovitošću, kao i širokim profilom nuspojava. BoNT-A je kao analgetik posebnih svojstava, kao što su dugo djelovanje nakon lokalne primjene u mišiće, dobar sigurnosni profil, izostanak sistemskih nuspojava, i sl. Odobren za liječenje kronične migrene temeljem studija koje pokazuju smanjenje broja dana u mjesecu s glavoboljom i intenziteta glavobolje. Pretpostavlja se da nakon injiciranja u 31-39 mjesta (mišići glave i vrata) ulazi u okončine senzornih neurona i retrogradnim transportom dolazi do središnjeg živčanog sustava gdje inhibira lučenje neurotransmitora uključenih u nocicepciju. Kriteriji za terapiju BoNT-A su: više od 15 napadaja mjesečno u trajanju od 4 ili više sati te nedjelotvornost prve i druge linije liječenja migrene. U budućnosti je potrebno standardizirati postupke unutar kliničkih studija praćenja učinkovitosti, validirati metode mjerenja terapijskog učinka i unaprijediti formulacije BoNT-A kako bi primjena bila što jednostavnija, uz održanu učinkovitost i sigurnost.

Migraine is a complex disorder of central nerve system described as recurrent, episodic or chronic headache that affects large number of world population. Specific manifestation: high pain intensity, hypersensitivity to light and sound, nausea, vomiting and duration of attack up to 72 hours leads to dysfunctionality of patients, a thus negatively affects quality of life. Migraine therapy consists of medications that inhibit secretion of peptides and inflammatory mediators, vasodilatation, prostaglandin synthesis, trigeminal nerve excitation or vomiting center in medulla oblongata. Unlike acute migraine, chronic migraine that affect some patients with migraine is more difficult to treat, which is why medications from other therapeutic groups with poor efficacy and extensive side effects profile, are used empirically. BoNT-A is, as analgesic with special properties, such as long duration after local application muscles, absence of systemic side effects, etc. approved for treating chronic migraine based on studies that

demonstrate reduced number of days per month with headache and headache intensity. It is assumed that after 31-39 local injections (head and neck muscles) travels to terminal branches of sensory neurons and with retrograde transport arrives to central nervous system, where it inhibits release of neurotransmitters involved in nociception. Criteria for BoNT-A therapy are: more than 15 attacks in duration of 4 or more hours and inefficiency of first and second migraine treatment. In the future is necessary to standardize procedure within clinical studies efficacy monitoring, validate measurements of therapeutic effect and improve formulation of BoNT-A to make the application as simple as possible with maintained efficacy and safety.

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Studij: Farmacija/Medicinska biokemija
Zavod za Farmakologiju
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

BOTULINUM TOKSIN U LIJEČENJU MIGRENE

Dora Toth

SAŽETAK

Migrena je kompleksni poremećaj središnjeg živčanog sustava opisan kao rekurentna, epizodična ili kronična glavobolja koja pogađa veliki dio svjetske populacije. Specifična manifestacija: visok intenzitet boli, preosjetljivost na svjetlo i zvuk, mučnina, povraćanje i trajanje napadaja do 72 h dovodi do nefunkcionalnosti pacijenata, a time negativno utječe i na kvalitetu života. Terapiju migrene čine lijekovi koji inhibiraju lučenje peptida i medijatora upale, vazodilataciju, sintezu prostaglandina, ekscitaciju trigeminalnog živca ili centar za povraćanje u produljenoj moždini. BoNT-A je kao analgetik posebnih svojstava (dugo djelovanje, minimalne nuspojave, smanjuje ili u potpunosti uklanja bol, smanjuje broj dana u mjesecu s glavoboljom) idealan za liječenje kronične migrene, a dodatna prednost mu je što u dozama koje se koriste nema sistemске apsorpcije pa tako ni sistemskih nuspojava. Velik broj studija potvrdio je njegovu učinkovitost na temelju čega je dobio odobrenje za ovu indikaciju. Kriteriji za terapiju BoNT-A su: više od 15 napadaja mjesečno u trajanju od 4 ili više sati te nedjelotvornost prve i druge linije liječenja migrene. Toksin se primjenjuje u obliku injekcija na 40 mjesta na području glave i vrata svaka 3 mjeseca. U budućnosti je potrebno standardizirati postupke unutar studija, validirati metode mjerenja rezultata eksperimenata i dizajnirati formulaciju BoNT-A koja bi ljudima bila prihvatljivija za primjenu. Time bi se povećao broj ljudi koji bi primjenjivali BoNT-A za liječenje migrene i drugih bolnih poremećaja te proširio dijapazon potencijalnih indikacija za koje još nije dobio odobrenje.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 54 stranice, 5 grafičkih prikaza, 4 tablice i 85 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: Migrena, botulinum toksin tip A, kliničke studije, glavobolja, bol, akutni napadaj, animalni modeli, kronična migrena

Mentor: **Dr. sc. Lidija Bach-Rojecky**, redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Ocjenjivači: **Dr. sc. Lidija Bach-Rojecky**, redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.
Dr. sc. Petra Turčić, izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.
Dr. sc. Iva Mucalo, izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad prihvaćen: srpanj 2022.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Study: Pharmacy
Department of Pharmacology
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

BOTULINUM TOXIN IN THE TREATMENT OF MIGRAINE

Dora Toth

SUMMARY

Migraine is a complex disorder of central nerve system described as recurrent, episodic or chronic headache that affects large number of world population. Specific manifestation: high pain intensity, hypersensitivity to light and sound, nausea, vomiting and duration of attack up to 72 hours leads to dysfunctionality of patients, a thus negatively affects quality of life. Migraine therapy consists of medications that inhibit secretion of peptides and inflammatory mediators, vasodilatation, prostaglandin synthesis, trigeminal nerve excitation or vomiting center in medulla oblongata. BoNT-A is, as analgesic with special properties (long duration, minimal side effects, reduces or removes pain completely, reduces number of days per month with headache) ideal for treating chronic migraine and his additional advantage is that he doesn't have systemic absorption in used doses, thus doesn't have systemic side effects. Large number of studies confirmed his efficiency on the basis of which he received approval for this indication. Criteria for BoNT-A therapy are: more than 15 attacks in duration of 4 or more hours and inefficiency of first and second migraine treatment. Toxin is administered in form of injections at 40 locations in head and neck region every 3 months. In the future is necessary to standardize procedure within studies, validate measurements of experimental results and design formulation of BoNT-A that would be more acceptable for application in humans. With that, number of people using BoNT-A for migraine and other pain disorders treatment would increase and diapason of potential indications, for which he didn't receive approval, would expand.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 54 pages, 5 figures, 4 tables and 85 references. Original is in Croatian language.

Keywords: Migraine, botulinum toxin type A, clinical studies, headache, pain, acute attack, animal models, chronic migraine

Mentor: **Lidija Bach-Rojecky, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Lidija Bach-Rojecky, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Petra Turčić, Ph.D. *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Iva Mucalo, Ph.D. *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: July 2022.