

**Aus der neurologischen Klinik der Heinrich-Heine-Universität  
Düsseldorf**

**Direktor Prof. Dr. Dr. Sven Meuth**

**Studie zur Prävalenz von Antikörpern gegen Botulinumtoxin A und  
zum klinischen Verlauf bei mit Xeomin® behandelten Patienten mit  
fokaler Dystonie**

**Dissertation**

**zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin aus der  
Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf**

**vorgelegt von**

**Raphaela Nausikaa Brauns**

**2024**

Als Inauguraldissertation gedruckt mit der Genehmigung der  
Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Dekan: Herr Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Herr Prof. Dr. med. Philipp Albrecht

Zweitgutachter: Herr Prof. Dr. med. Ulrich Germing

## **Zusammenfassung (deutsch)**

In Deutschland sind 3 Botulinumneurotoxin-Typ A-Präparate zur Behandlung von fokalen Dystonien zugelassen, von denen zwei Präparate (aboBoNT/A=Dysport®; onaBoNT/A=Botox®) noch Komponenten des von den Clostridien botulinum gebildeten Gesamtoxin-Komplexes über das reine Neurotoxin hinaus enthalten. Nur ein BoNT/A-Präparat ist hochgereinigt (inoBoNT/A=Xeomin®) und enthält keine Komplexproteine mehr. Da bei der Botulinumtoxin-Therapie körperfremdes Protein appliziert wird, ist die Entwicklung von neutralisierenden Antikörpern (NABs) eine klinisch relevante Komplikation in der Langzeitbehandlung. Seit der Zulassung von Xeomin® wird vermutet, dass Xeomin® auf Grund seines geringeren Proteingehaltes auch weniger antigen ist als die beiden anderen BoNT/A-Präparate.

In der vorliegenden Arbeit wurden zunächst 33 Patienten mit fokalen Dystonien, die ausschließlich mit Xeomin® behandelt wurden, hinsichtlich der klinischen Wirksamkeit der BoNT/A-Therapie befragt, vom Behandler diesbzgl. untersucht und auf das Vorliegen von NABs getestet. Ferner sollten diese Patienten den Verlauf des Schweregrades ihrer Erkrankung vor und nach dem Beginn der BoNT/A-Therapie zeichnen. Von besonderem Interesse war, ob Patienten eine initiale Verbesserung und danach eine sekundäre Verschlechterung (also ein sekundäres Therapieversagen (STF)) zeigten.

Danach wurden 34 Patienten mit einer zervikalen Dystonie (CD), die nur mit Xeomin® behandelt worden waren (XEO-Mono-Gruppe), mit 59 CD-Patienten verglichen, die zuvor unter einer aboBoNT/A- oder onaBoNT/A ein nahezu komplettes STF entwickelt hatten und dann auf incoBoNT/A umgestellt (Switch-Gruppe) und dann mindestens genauso lange mit incoBoNT/A behandelt worden waren wie die XEO-Mono-Gruppe).

Die 33 Patienten mit einer fokalen Dystonie berichteten ein Langzeitergebnis mit einer im Mittel 70%igen Verbesserung. Kein Patient wies einen positiven NAB-Test auf, kein Patient zeichnete nach Beginn der inoBoNT/A-Therapie einen Verlauf mit sekundärer Verschlechterung (STF).

Auch kein Patient der 34 Patienten mit CD in der XEO-Mono-Gruppe, die mit der Switch-Gruppe verglichen wurden, hatte einen positiven NAB-Test. Die Switch-Gruppe wies nach der Umstellung auf incoBoNT/A eine signifikante klinische

Verbesserung des Langzeitergebnisses auf. Aber diese Verbesserung war signifikant geringer als die Verbesserung in der XEO-Mono-Gruppe.

Damit werden in der vorliegenden Arbeit weitere Argumente dafür geliefert, dass incoBoNT/A geringer antigen ist als abo- oder onaBoNT/A. Daraus ergibt sich die klinische Empfehlung, Patienten mit fokalen Dystonien, die eine BoNT/A-Therapie benötigen, von vorneherein auf das geringer antigen wirkende incoBoNT/A-Präparat Xeomin® einzustellen.

## Summary

In Germany, three botulinum neurotoxin type A preparations are approved for the treatment of focal dystonia, of which two preparations (aboBoNT/A=Dysport®; onaBoNT/A=Botox®) still contain components of the total toxin complex formed by *Clostridium botulinum* beyond the pure neurotoxin. Only one BoNT/A preparation is highly purified (incoBoNT/A=Xeomin®) and no longer contains complex proteins. Since exogenous protein is applied during botulinum toxin therapy, the development of neutralizing antibodies (NABs) is a clinically relevant complication in long-term treatment. Since the approval of Xeomin®, it has been suspected that Xeomin® is less antigenic than the other two BoNT/A preparations due to its lower protein content.

In the present study, 33 patients with focal dystonia who were treated exclusively with Xeomin® were interviewed regarding the clinical efficacy of BoNT/A therapy, examined by the physician in this regard and tested for the presence of NABs. Furthermore, these patients were asked to plot the course of their disease severity before and after the start of BoNT/A therapy. Of particular interest was whether patients drew an initial improvement and then a secondary deterioration (i.e. secondary therapy failure (STF)).

Subsequently, 34 patients with cervical dystonia (CD) who had been treated with Xeomin® only (XEO mono group) were compared with 59 CD patients who had previously developed near-complete STF under aboBoNT/A or onaBoNT/A, then had been switched to incoBoNT/A (switch group) and then had been treated with incoBoNT/A for at least as long as the Xeo mono group.

The 33 patients with focal dystonia reported a long-term outcome with a mean 70% improvement. No patient had a positive NAB test and no patient had a course of secondary deterioration (STF) after initiation of incoBoNT/A therapy.

Also, none of the 34 patients with CD in XEO mono group compared to the Switch group had a positive NAB test. The Switch group showed significant clinical improvement in long-term outcome after switching to incoBoNT/A. However, this improvement was significantly less than the improvement in the XEO mono group.

Thus, the present work provides further arguments that incoBoNT/A is less antigenic than abo-or onaBoNT/A. This leads to the clinical recommendation that patients with

focal dystonia who require BoNT/A therapy should be switched to the less antigenic incoBoNT/A preparation Xeomin® from the outset of therapy.

# Inhaltsverzeichnis

|                                                                                                                                                                                                                                                        |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1. EINLEITUNG .....</b>                                                                                                                                                                                                                             | <b>1</b>  |
| 1.1. BOTULINUMTOXIN IN DER MEDIZIN                                                                                                                                                                                                                     | 1         |
| 1.2. ZERVIKALE DYSTONIEN ALS SPEZIELLE FOKALE DYSTONIEN                                                                                                                                                                                                | 3         |
| 1.3. THERAPIE DER FOKALEN DYSTONIEN                                                                                                                                                                                                                    | 6         |
| 1.4. BEHANDLUNG MIT BoNT/A ODER BoNT/B                                                                                                                                                                                                                 | 8         |
| 1.5. BOTULINUMTOXIN UND ANTIKÖRPERBILDUNG                                                                                                                                                                                                              | 10        |
| 1.6. XEOMIN                                                                                                                                                                                                                                            | 14        |
| 1.7. ZIEL DER ARBEIT                                                                                                                                                                                                                                   | 16        |
| <b>2. MATERIAL UND METHODEN .....</b>                                                                                                                                                                                                                  | <b>19</b> |
| 2.1. ETHISCHE ASPEKTE                                                                                                                                                                                                                                  | 19        |
| 2.2. GENERELLE VORBEMERKUNGEN UND REKRUTIERT PATIENTENN                                                                                                                                                                                                | 19        |
| 2.3. ABLAUF DER UNTERSUCHUNGEN                                                                                                                                                                                                                         | 22        |
| 2.4. ERLÄUTERUNG DES FRAGEBOGENS                                                                                                                                                                                                                       | 22        |
| 2.5. GRAPHISCHE DARSTELLUNG DES KRANKHEITSVERLAUFS                                                                                                                                                                                                     | 23        |
| 2.6. ANTIKÖRPERBESTIMMUNG                                                                                                                                                                                                                              | 24        |
| 2.7. LISTE DER VERWENDETEN PARAMETER                                                                                                                                                                                                                   | 25        |
| 2.8. DATENVERARBEITUNG UND STATISTISCHE DATENANALYSE                                                                                                                                                                                                   | 26        |
| <b>3. ERGEBNISSE .....</b>                                                                                                                                                                                                                             | <b>28</b> |
| 3.1. BESCHREIBUNG DES KOLLEKTIVS UND DER BEHANDLUNGSDATEN                                                                                                                                                                                              | 28        |
| 3.2. AUSWIRKUNGEN DER ZEIT VOR THERAPIE UND DER BEHANDLUNGSDAUER AUF DAS LANGZEITERGEBNIS                                                                                                                                                              | 29        |
| 3.3. ENTWICKLUNG VERSCHIEDENER SYMPTOME DER CD UNTER XEOMIN®-THERAPIE                                                                                                                                                                                  | 31        |
| 3.4. AUSWIRKUNGEN DER KRANKHEITSDYNAMIK VOR XEOMIN-THERAPIE AUF DAS LANGZEITERGEBNIS                                                                                                                                                                   | 33        |
| 3.5. BESCHREIBUNG DER KRANKHEITSDYNAMIK WÄHREND DER XEOMIN®-THERAPIE                                                                                                                                                                                   | 37        |
| 3.6. KORRELATIONSANALYSE                                                                                                                                                                                                                               | 41        |
| 3.7. KEINE ANTIKÖRPERENTWICKLUNG UND KEIN SEKUNDÄRES THERAPIEVERSAGEN UNTER XEOMIN®-THERAPIE                                                                                                                                                           | 42        |
| 3.8. VERGLEICH VON CD-PATIENTEN, DIE NUR MIT XEOMIN® BEHANDELT WURDEN, UND EINEM KOLLEKTIV VON PATIENTEN, DIE VOR DER UMSTELLUNG AUF XEOMIN® MIT EINEM KOMPLEXHALTIGEN BoNT-PRÄPARAT BEHANDELT WURDEN UND EIN SEKUNDÄRES THERAPIEVERSAGEN ENTWICKELTEN | 43        |
| <b>4. DISKUSSION .....</b>                                                                                                                                                                                                                             | <b>50</b> |
| 4.I) WELCHEN EINFLUSS HAT DIE VORGESCHICHTE VOR BoNT/A AUF DAS LANGZEITERGEBNIS?                                                                                                                                                                       | 51        |
| 4.II) WIE VERÄNDERT DIE BoNT/A-THERAPIE DEN VERLAUF DER SYMPTOMATIK?                                                                                                                                                                                   | 53        |
| 4.III) WELCHE KLINISCHE BEDEUTUNG HAT DER NACHWEIS VON NABS?                                                                                                                                                                                           | 56        |
| 4.IV) AUSBLICK UND THERAPIEEMPFEHLUNGEN                                                                                                                                                                                                                | 62        |

|           |                                   |           |
|-----------|-----------------------------------|-----------|
| <b>5.</b> | <b>LITERATURVERZEICHNIS.....</b>  | <b>63</b> |
| <b>6.</b> | <b>ANHANG.....</b>                | <b>77</b> |
| 6.1.      | ABBILDUNGSVERZEICHNIS             | 77        |
| 6.2.      | TABELLENVERZEICHNIS               | 78        |
| <b>7.</b> | <b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....</b> | <b>79</b> |

## Danksagung

Ich möchte ganz herzlich Herrn Prof. Hefter und Herrn Prof. Albrecht sowie meinen Mitdoktoranden, Frau Ürer und Frau Samadzadeh, die mich auf diesem langen Weg begleitet haben, meinen Dank aussprechen.

Diese Arbeit ist meinen Eltern gewidmet, in tiefer Dankbarkeit.

# 1. Einleitung

## 1.1. Botulinumtoxin in der Medizin

Botulinumtoxine (BoNTs) sind Neurotoxine, die von den Gram-positiven, stäbchenförmigen, sporenbildenden anaeroben Bakterien der Familie Clostridium botulinum produziert werden. Obwohl es sieben Hauptserotypen von Botulinumneurotoxinen (BoNT/A – BoNT/G) gibt, werden zur Zeit nur die Typen A und B klinisch verwendet (Aoki und Guyer 2001). Historisch gesehen geht die Idee, BoNT therapeutisch einzusetzen, auf Justinus Kerner in den frühen 1800er Jahren zurück (Kerner 1817, 1820, 1822). Er bezeichnete das Toxin als "Wurstgift", nachdem er dessen Auswirkungen nach dem Verzehr von verdorbenen, geräucherten Blutwürsten festgestellt hatte (Kerner 1817). 1870 prägte John Muller den Begriff "Botulismus" (die lateinische Wurzel botulus bedeutet "Wurst"). 1895 isolierte van Ermengem ein Bakterium Clostridium botulinum zum ersten Mal (Devriese 1999; Erbguth und Naumann 1999). Die Entdeckung des Bakteriums und des Toxins führten zur Untersuchung seiner Verwendungsfähigkeit zur Behandlung von Strabismus. 1989 wurde BoNT/A unter dem Handelsnamen Botox® von der U.S. Food and Drug Administration (FDA) als Therapie für Schielen, Blepharospasmus und hemifazialen Spasmus zugelassen (Carruthers und Stubbs 1987; Wabbels et al. 2011). Im Jahr 2000 erhielt Botox® die FDA-Zulassung für die Behandlung von zervikalen Dystonien (Tsui et al. 1985; Comella et al. 2000). In Europa wurde BoNT/A unter dem Handelsnamen Dysport® (**D**ystonia/**P**orton Down; Ipsen Biopharm Ltd., Wrexham, UK) im Dezember 1990 für die Behandlung bestimmter Dystonien zugelassen (Monheit und Pickett 2017). Seitdem nehmen die klinischen Anwendungen von BoNT/A kontinuierlich zu. Sowohl bei on- als auch off-label-Anwendungen wird BoNT/A in verschiedenen medizinischen Fachrichtungen für eine Vielzahl von Erkrankungen eingesetzt.

BoNTs sind effektive Exozytoseblocker, weil sie den in einem Organismus weit verbreiteten Mechanismus der Exozytose attackieren und schädigen können. BoNTs werden als inaktive, einkettige 150-kDa-Polypeptide von den Clostridien hergestellt, die durch Trypsin oder bakterielle Enzyme in eine schwere Kette von 100 kDa und eine leichte Kette von 50 kDa gespalten und durch eine di-Sulfidbrücke miteinander

verbunden werden, wodurch die BoNTs aktiviert werden (Montecucco et al. 1996). In der Doppelkette werden eine Bindungs- und eine Translokationsdomäne unterschieden. Mit der Bindungsdomäne docken BoNTs selektiv und reversibel an spezielle Rezeptoren an, die an der Zellaußenwand, wo Exozytose stattfindet, lokalisiert sind (Schiavo et al. 2000). Nach dem Andocken findet eine Endozytose statt, wodurch die BoNT-Moleküle in das Innere von neuentstandenen Endosomen gelangen. In dem sauren Milieu der Endosomen kommt es zu einer Konformationsänderung der Translokationskette, die nach Spaltung der Disulfidbrücke in die Endosomenwand integriert wird und einen Membrankanal der Endosomenwand bildet. Die leichte Kette kann nun das Endosomeninnere durch diesen Kanal verlassen und sich im Zellinneren bewegen (Simpson et al. 1993; Simpson et al. 2001). Sie attackiert nun als Peptidase intrazellulär spezifische Membranproteinkomplexe, die SNARE (soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor) genannt werden, die für die Exozytose (z.B. für die Freisetzung von Acetylcholin) absolut notwendig sind (Fon und Edwards 2001; Hay 2001). BoNT/A und BoNT/ E spalten die SNARE-Komponente SNAP-25 (synaptosomales assoziiertes Protein), während BoNT/ C sowohl SNAP-25 als auch Syntaxin spaltet (Blasi et al. 1993; Adler et al. 2001; Eleopra et al. 2004). BoNT/B, BoNT/D und BoNT/F spalten die SNARE-Komponente Synaptobrevin (vesikel-assoziiertes Membranprotein oder VAMP) (Adler et al. 2001; Eleopra et al. 2004).

Wegen der an vielen Stellen im menschlichen Körper stattfindenden Exozytose haben die hochspezialisierten BoNTs klinisch eine so hohe Effektivität. Sie blockieren die präsynaptische Freisetzung von Acetylcholin an der neuromuskulären Endplatte, so dass Muskelkontraktionen reduziert werden, sie blockieren Hyperhidrose und Hypersalivation, sie blockieren die Insulinausschüttung und blockieren die Freisetzung von Neurotransmittern, wenn sie ins zentrale Nervensystem (ZNS) gelangen. Kerner (1820, 1822) war sogar aufgefallen, dass bei BoNT-Infizierten die Ohrenschmalz-Produktion reduziert war.

Die Wirkung eines BoNTs ist vorübergehend, tritt innerhalb von 24-72 Stunden ein und hält je nach Typ, patientenspezifischen Faktoren, Indikationen und Dosierung zwischen 1 und 6 Monaten an. Die Dosierung kann in internationalen Einheiten ausgedrückt werden, wobei 1 internationale Einheit der mittleren letalen Dosis (LD50)

entspricht, die 50 % einer Mäusekolonie durch intraperitoneale Injektion tötet. Die LD50 von BoNT/A für den Menschen beträgt etwa 0,8-0,9 µg bei Inhalation, 30 ng bei Einnahme und 0,09-0,15 µg bei intravenöser Verabreichung (Dhaked et al. 2010). Die Potenzeinheiten (U) sind für jedes BoNT-Präparat spezifisch und nicht von einem Präparat auf ein anderes Präparat direkt übertragbar. Das gilt auch für den Vergleich von BoNT/A-Präparaten untereinander.

Die Behandlung mit BoNTs ist im Allgemeinen sicher und wird von den Patienten gut vertragen, wenn sie lege artis angewendet werden. Bei einer kleinen Gruppe von Patienten können jedoch Nebenwirkungen (Mahant et al. 2000) wie z.B. Erytheme, Ödeme, Blutergüsse und Schmerzen lokal begrenzt und selbstlimitierend auftreten. Systemische Komplikationen sind sehr selten. Schwerwiegende unerwünschte Wirkungen wie Muskelschwäche und allergische Reaktionen sind in der Regel dosisabhängig, wobei die Häufigkeit bei therapeutischen Behandlungen 33mal höher ist als bei kosmetischen Behandlungen. Zudem können sich lokale Nebenwirkungen verschlimmern, wenn die Patienten innerhalb eines kurzen Zeitraums mehrfach an derselben Stelle behandelt wurden oder wenn gleichzeitig neuromuskuläre Störungen vorliegen (Coté et al. 2005). Wie bei allen Verfahren, bei denen die Hautbarriere verletzt wird, sind auch Infektionen möglich. Das Management von Komplikationen konzentriert sich hierbei in der Regel auf die symptomatische Behandlung.

## **1.2. Zervikale Dystonien als spezielle fokale Dystonien**

Bei den Dystonien handelt es sich um eine Gruppe von Erkrankungen mit vielen verschiedenen klinischen Erscheinungsformen, die jedoch bestimmte gemeinsame Merkmale aufweisen (Fahn 1984; Fahn 1989). Die gemeinsamen Merkmale sind unwillkürliche anhaltende oder intermittierende Muskelkontraktionen, die abnorme Körperhaltungen und/oder sich wiederholende Bewegungen verursachen. Die dystonen Bewegungen haben häufig spezielle Muster, gelegentlich überwiegt auch eine tremorartige Bewegung. Die häufigsten Formen sind die fokalen Dystonien bei Erwachsenen (adult-onset focal dystonia; AOFD), die den Hals (cervical dystonia; CD), das obere Gesicht (Blepharospasmus; BL), Mund und Kiefer (oromandibuläre Dystonie, OMD), den Rachen und Kehlkopf (oropharyngeale Dystonie, OPD) oder

eine Extremität (z.B. Schreibkrampf und andere fokale Hand- oder Fußdystonien, OTHD) betreffen.

Die CD ist durch eine übermäßige unwillkürliche Aktivität der Hals- und Nackenmuskulatur gekennzeichnet, die zu abnormen Kopfbewegungen und Nackenschmerzen führt. Es wurden mehrere sich überschneidende Erscheinungsformen beschrieben (Chan et al. 1991; Rondot et al. 1991; Jankovic et al. 1991). Der Kopf kann sich nach rechts oder links drehen (Torticollis; Schiefhals), zu einer Seite neigen (Laterokollis) oder nach oben (Retrokollis) oder nach unten (Anterokollis) kippen. Zusätzlich zu den abnormen Kopfpositionen kann es zu zitternden Bewegungen oder krampfartigen Zuckungen des Kopfes kommen (Lalli und Albanese 2010; Quinn et al. 2011; Schiebler et al. 2011; Elble 2013). In neuerer Zeit wird zwischen den Bewegungen des Halses auf dem Rumpf und den Bewegungen des Kopfes auf dem Hals unterschieden. Diese Unterscheidung ist cap/col-Konzept (cap=caput; col=collis) genannt und erstmals in Hefter et al. 2012b erwähnt worden.

Es gibt Hinweise darauf, dass CD ätiologisch heterogen ist (Dauer et al. 1998; Singer und Velickovic 2008). Dabei ist zu beachten, dass sich für die klinische Charakteristik keine stringente Terminologie durchgesetzt hat (siehe auch den Hinweis auf das cap/col-Konzept). Es ist nicht so wie früher angenommen, dass bestimmte Manifestationen mit bestimmten Krankheiten verbunden sind. Vielmehr ist der „Anterokollis“ bei Parkinson-Syndromen eine Muskelschwäche und keine idiopathische CD. So sind auch „fixierte Manifestationen“ der CD keine idiopathischen CDs, sondern häufiger auf eine Syringa (Syringomyelie) oder ein komplexregionales Schmerzsyndrom und weniger auf eine psychogene Ursache zurückzuführen (Schrag et al. 2004; Ibrahim et al. 2009; Hawley und Weiner 2011). Formale Studien zum systematischen Vergleich verschiedener CD-Formen bei unterschiedlichen Krankheitsbildern fehlen leider (Rivest et al. 1990; Revuelta et al. 2011).

Genetischen Ursachen für Dystonien wird große Aufmerksamkeit geschenkt, da es Familien mit mehreren betroffenen Mitgliedern gibt. CD kann bei Patienten auftreten, die Defekte in Genen tragen, die häufiger mit generalisierter Dystonie in Verbindung gebracht werden, wie z.B. das TOR1A-Gen am DYT1-Lokus (Kabakci et al. 2004; Xiao et al. 2009) oder das THAP1-Gen am DYT6-Lokus (LeDoux et al. 2012). Drei neue

Kandidatengene für CD wurden durch Exom-Sequenzierung identifiziert: CIZ1, GNAL, und ANO3 (Charlesworth et al. 2012; Xiao et al. 2012; Fuchs et al. 2013; Vemula und Puschmann 2013). Das letztere Gen scheint mit der tremolösen CD assoziiert zu sein, was die Bedeutung der klinischen Subtypen verdeutlicht. Obwohl diese Gene für relativ wenige Fälle verantwortlich sind, könnte eine genetische Grundlage viele sporadische Fälle erklären, da 10-20 % der Patienten mit CD mindestens ein weiteres Familienmitglied mit AOFD haben (Waddy et al. 1991; Stojanovic et al. 1995; Leube et al. 1997).

Es gibt auch wichtige nicht-genetische Ursachen für fokale Dystonien und insbesondere CD. So verursacht die Einnahme von Dopaminrezeptor-Antagonisten sowohl akute dystone Reaktionen als auch tardive Syndrome mit ausgeprägter Dystonie (Molho et al. 1998; Cardoso 2008). Es gibt auch Assoziationen mit Traumata (O’Riordan und Hutchinson 2004; van Rooijen DE et al. 2011) oder Autoimmunerkrankungen (Baizabal-Carvallo und Jankovic 2012), obwohl kausale Zusammenhänge nicht nachgewiesen wurden. Schließlich kann die CD durch fokale Läsionen entstehen (LeDoux und Brady 2003). Diese scheinbar erworbenen Formen der CD können auf nicht genetische Mechanismen zurückzuführen sein, oder sie spiegeln eine Kombination aus einer erworbenen Schädigung und einer genetischen Veranlagung wider (Defazio et al. 2007; Lohmann und Klein 2013).

Die genauen Bereiche des Nervensystems, die für die Verursachung von CD verantwortlich sind, sind nach wie vor unklar (Neychev et al. 2011; Avanzino und Abbruzzese 2012; Sadnicka et al. 2012). CD kann sekundär auf eine lokale Hirnschädigung zurückzuführen sein, wobei Läsionen in vielen Regionen identifiziert wurden (LeDoux und Brady 2003). Bei idiopathischer CD, bei der keine fokalen Läsionen vorliegen, hat die voxelbasierte Morphometrie (VBM) ebenfalls Anomalien in vielen Regionen aufgedeckt (Egger et al. 2007; Draganski et al. 2009; Pantano et al. 2010). Die funktionelle Bildgebung des regionalen Blutflusses mit Positronen-Emissions-Tomographie (PET) oder die Stoffwechselkartierung mit Fluorodeoxyglucose-PET haben ebenfalls auf verschiedene Regionen hingewiesen (Galardi et al. 1996; Magyar-Lehman et al. 1997).

Für die durch Bildgebung identifizierten Regionen haben die meisten Studien keine offensichtlichen histopathologischen Anomalien ergeben (Holton et al. 2008; Standaert 2011). Allerdings war die Zahl der untersuchten Gehirne gering und die angewandten Methoden waren nicht geeignet, um subtile Anomalien zu erkennen. In zwei Studien wurden subtile Anomalien im Kleinhirn festgestellt. In einer Studie wurde eine geringe Dichte von Purkinje-Neuronen bei CD festgestellt (Prudente et al. 2012) und in der anderen Studie wurde festgestellt, dass der Verlust von Purkinje-Neuronen bei CD mit Tremor im Vergleich zu Tremor allein stärker ausgeprägt sind (Ma et al. 2012).

### **1.3. Therapie der fokalen Dystonien**

Fokale Dystonien werden häufig fehldiagnostiziert (Benecke et al. 2003). Das Spektrum der Fehldiagnosen reicht von psychogenen Bewegungstörungen bis hin zu orthopädischen Erkrankungen. Entsprechend breit und erfolglos ist das Spektrum der Therapieversuche, das von Gesprächstherapie bis zu operativen Maßnahmen an ZNS und/oder Skelett oder Muskulatur reicht (für einen Überblick siehe Benecke et al. 2003).

Es gibt nur wenige fokale Dystonien, die sich befriedigend medikamentös behandeln lassen. Dazu zählt in erster Linie die dopa-responsive Dystonie (DSD), die exzellent auf die Gabe von geringen Mengen L-Dopa anspricht. Auch die sekundären Dystonien bei einem Morbus Wilson lassen sich durch die Gabe von entkupfernden Chelatbildnern beherrschen. Ansonsten ist das Spektrum der angewandten Medikamente breit und z.T. wenig wirksam (siehe Details in Benecke et al. 2003).

Durch die Einführung der BoNT-Therapie haben sich die Behandlungsmöglichkeiten für fokale Dystonien drastisch gebessert. Injektionen mit BoNT lindern abnormale Bewegungen und Schmerzen (Comella et al. 2005b; Albanese et al. 2006; Hallett et al. 2009; Jankovic 2013). Bei langfristiger Anwendung kann sich jedoch eine Resistenz entwickeln (Brin et al. 2008; Ruiz et al. 2011). Darauf gehen wir weiter unten im Detail ein. Zu den Nachteilen der BoNT-Therapie gehört vor allem die Notwendigkeit, dass die Injektionen alle drei bis vier Monate wiederholt werden

müssen. Gelegentliche, in den ersten 14 Tage nach einer Injektion auftretende, vorübergehende Nebenwirkungen wie Schluckstörungen oder Kopfschmerzen werden von den Patienten angesichts des sonstigen Nutzens der Therapie gut toleriert. Außerdem ist festzustellen, dass im Laufe der Zeit höhere Dosen erforderlich sind und einige Patienten mit der Therapie unzufrieden sind (Skogseid und Kerty 2005; Sethi et al. 2012). Auch hier sehen wir einen Zusammenhang mit der Antikörperbildung (siehe Abschnitt 1.5). Zur Zeit sind nur die Serotypen BoNT/A und BoNT/B zur klinischen Anwendung zugelassen (siehe Abschnitt 1.4).

Obwohl es in der Regel möglich ist, bei der zervikalen Dystonie mit Botulinumtoxin gute therapeutische Ergebnisse zu erzielen, scheinen einige Manifestationsformen eine größere Herausforderung darzustellen. Patienten mit vorherrschendem Anterokollis sind schwieriger zu behandeln (Rivest et al. 1990; Revuelta et al. 2011; Waln und Ledoux 2011), was möglicherweise auf die Kontraktion der tiefen prävertebralen paraspinalen Muskeln zurückzuführen ist, die ohne Navigation nicht erreicht werden können (Glass et al. 2009; Bhidayasiri 2011). Selbst mit Navigation sprechen viele Patienten mit Anterokollis nicht an. Der Grund für die schlechten Ergebnisse in dieser Untergruppe besteht u.a. darin, dass die Nackenschwäche bei einem „drop head“-Zeichen als „Anterokollis“ fehlinterpretiert wird und die vordere Halsmuskulatur mit BoNT behandelt wird, was selbstverständlich wirkungslos oder sogar kontraproduktiv ist. In der Düsseldorfer BoNT-Ambulanz wurde eine Serie von Patienten mit einem echten Antecollis und einem echten Antecaput CT-gesteuert mit gutem Erfolg BoNT-behandelt. Es traten aber so schwere Schluckstörungen trotz der präzisen Applikation auf, dass keiner der erfolgreich behandelten Patienten auf Dauer diese Maßnahme durchführen ließ (siehe Hefter et al. 2012c).

Durch den Einsatz von BoNTs ist die Zahl der Patienten, die sich chirurgischen Verfahren wie der peripheren Denervierung unterziehen, erheblich gesunken, obwohl ein chirurgischer Eingriff in einigen Fällen immer noch sinnvoll ist (Arce 2007). Die tiefe Hirnstimulation (DBS) wird auch bei Dystonien immer häufiger angewandt. Sie hat sich bei generalisierten primären Dystonien und einigen sekundären Dystonien als langfristig wirksam erwiesen (Perlmutter und Mink 2006; Moro et al. 2013). Auch bei AOFDs, insbesondere bei CDs wird die DBS-OP zunehmend eingesetzt, obwohl die Kriterien für die Auswahl der Patienten nicht genau festgelegt sind (Kiss et al. 2007;

Limotai et al. 2011). Bei einem kompletten Therapieversagen nach BoNT/A oder BoNT/B-Therapie war die DBS-OP bisher Therapie der Wahl. Das ist eventuell nach der hier vorgestellten Datenlage differenzierter zu sehen (siehe den entsprechenden Abschnitt in der Diskussion).

Der potenzielle Nutzen der physikalischen Therapie ist nicht gut beschrieben (Jankovic 2013). Viele Patienten fordern sie, und viele Anbieter empfehlen sie, weil sie intuitiv sinnvoll erscheint. Die optimalen Methoden sind jedoch nicht systematisch untersucht worden, wobei die verschiedenen Therapeuten jeweils unterschiedliche Strategien und Techniken auf der Grundlage persönlicher Erfahrungen empfehlen (Tassorelli et al. 2006; Zetterberg et al. 2008; Boyce et al. 2012). Es gibt keine groß angelegten randomisierten Studien, in denen Strategien verglichen oder ihre Wirksamkeit nachgewiesen werden. Einige der objektivsten Studien konnten sogar keinen Nutzen nachweisen (Boyce et al. 2012). Ob dies auf den fehlenden Nutzen der Physiotherapie, die Verwendung ungeeigneter Methoden oder mangelhafter Ergebnismessungen zurückzuführen ist, bleibt unbekannt.

#### **1.4. Behandlung mit BoNT/A oder BoNT/B**

Die derzeit im Handel erhältlichen BoNT-Produkte enthalten entweder BoNT/A- oder BoNT/B-Serotypen. Zu den BoNT/A-Medikamenten gehören onaBoNT/A (Botox®), aboBoNT/A (Dysport®) und incoBoNT/A (Xeomin®). Das einzige im Handel erhältliche BoNT/B -Medikament ist rimaBoNT/B (Myobloc® oder NeuroBloc®).

Die Aktivität dieser Medikamente wird mit dem Letalitätsassay (LD50) bewertet, der in Mäuseeinheiten (MU) gemessen wird. Die Assays der Hersteller unterscheiden sich jedoch, so dass ein direkter Vergleich der Wirksamkeit der verschiedenen BoNT-Präparate nicht möglich ist (Dressler und Bigalke 2017). Von einigen Autoren werden folgende Umrechnungsfaktoren empfohlen: 1 Einheit onaBoNT/A entspricht 1 Einheit incoBoNT/A (Dirk et al. 2008) und 2,5 Einheiten aboBoNT/A (Ranoux et al. 2002) und 50 Einheiten rimaBoNT/B (Comella et al. 2005a). BoNT-A scheint effektiver motorisch zu wirken, während BoNT/B eine stärkere autonome Wirkungen hat, was sich z.B. als Mundtrockenheit aufgrund verminderter Speichelsekretion bei der Behandlung der CD

mit BoNT/B bemerkbar macht (Dressler und Benecke 2003; Dressler und Bigalke 2017).

In den USA ist verfügbar DaxibotulinumtoxinA (daxiBoNT/A). Es besteht wie incoBoNT/A aus einem gereinigten Kernneurotoxin ohne NAPs, weist aber noch ein stabilisierendes Hilfsstoffpeptid auf, das sich an das Neurotoxin bindet (Jankovic et al. 2018). Dieses Peptid soll angeblich die Diffusion des Neurotoxins verringern und seine Wirkungsdauer verlängern. In einer offenen Phase-2-Studie mit daxiBoNT/A bei 33 CD-Patienten wurde eine mittlere Wirkungsdauer von 25,3 Wochen festgestellt, länger als die typischen Wirkungsauern anderer BoNT/A-Formulierungen (Jankovic et al. 2018). Eine ähnlich lange Wirkungsdauer wurde in einer anderen Phase-2-Studie festgestellt, in der die Verwendung von daxiBoNT/A zur Behandlung von Glabellafalten untersucht wurde (Carruthers et al. 2017). Diese Ergebnisse müssen jedoch noch durch größere Phase-3-Studien bestätigt und durch die Anwendung von unterschiedlichen Assays verifiziert werden, da es sich auch um ein Dosierungsproblem handeln kann, da die Wirkdauer eines Präparates auch von der Dosis abhängt.

Bei Mäusen ist die Wirkungsdauer von BoNT/A am längsten und von BoNT/B, BoNT/F und BoNT/E am kürzesten (Dolly et al. 2002). Beim Menschen scheint dieses Verhältnis das gleiche zu sein (Mezaki et al. 1995; Sloop et al. 1997; Eleopora et al. 1998). Innerhalb bestimmter Grenzen kann die Wirkungsdauer durch die Menge des applizierten BoNT verändert werden. Die Muster der Diffusion in Muskeln unterscheiden sich für BoNT/A, BoNT/B, BoNT/C1 und BoNT/F nicht signifikant (Eleopora et al. 2004).

Sobald Zellen über geeignete Rezeptoren verfügen, an die die BoNTs andocken können, können BoNTs endozytiert werden. Das ist neben den cholinergen Endigungen an der neuromuskulären Verbindung auch bei den autonomen prä- und postganglionären Synapsen und den synapsenreichen Bereichen des Hippocampus und des Kleinhirns sowie den Renshaw-Zellen der Fall (Kitamura 1976; Hagenah et al. 1977; Gundersen und Howar 1978; Black und Dolly 1987; Schiavo et al. 2000). BoNT/A kann also viele Neurotransmitter blockieren (Comella et al. 2005b). Die autonomen und nicht-cholinergen Wirkungen von BoNTA bilden die Grundlage für die

klinische Anwendung von BoNT/A bei hypersekretorischen Zuständen und Schmerzzuständen (Cordivari et al. 2004; Naumann und Jost 2004). BoNT/A ist bei der Blockierung neuromuskulärer Verbindungen effektiver, wenn der Zielmuskel aktiv ist (Koman et al. 1993; Eleopora et al. 1997; Hesse et al. 1998), wodurch ein "Autofokussierungseffekt" entsteht (Hallett 2002). Diese Aktivierung kann durch selbsttätige Bewegungen oder durch elektrische Stimulation hervorgerufen werden. Therapeutische Wirkungen bei Muskelhyperaktivitätsstörungen können durch die Blockade extrafusaler Muskelfasern, aber auch durch die Blockade intrafusaler Muskelfasern hervorgerufen werden (Filippi et al. 1993; Rosales et al. 1996). Die Blockade der Muskelspindel-Afferenzen mit einer Lidocain-Ethanol-Kombination führte bei Dystonie-Patienten zu einer ähnlichen Wirkung wie die von BoNT (Kaji 2002; Rosales und Delgado 2004).

Es gibt keine Belege dafür, dass intaktes BoNT/A die Blut-Hirn-Schranke in einem therapeutischen Umfeld überwindet (Boroff und Chen 1975; Curra et al. 2004). Der retrograde axonale Transport von Teilen von des BoNT/A in das Rückenmark und den Nucleus abducens wurde bei Tieren nachgewiesen (Wiegand et al. 1976; Moreno-Lopez et al. 1977). Direkte oder indirekte Reflexveränderungen können auftreten, da die Schwächung eines Muskels das Längen-Spannungs-Verhältnis sowohl während der aktiven als auch der passiven Kontraktion verändert (Berardelli et al. 2002). Die Verringerung der Kraft und Amplitude unwillkürlicher Bewegungen reduziert wahrscheinlich Schmerzen und andere sensorische Reize, die eine übermäßige Reflexaktivität verstärken können.

### **1.5. Botulinumtoxin und Antikörperbildung**

Es gibt Patienten, die durch das Auftreten einer Immunresistenz als Folge der Bildung von neutralisierenden Antikörpern (neutralizing antibodies; NABs) nicht mehr auf BoNT-Injektionen ansprechen. Primäre Non-Response (PNR) bezieht sich auf eine Situation, in der sich bei einem Patienten von der ersten Injektion an die Symptome nicht bessern (Dressler 2004). Sekundäres Nichtansprechen (SNR) liegt vor, wenn Patienten von mindestens einer Injektion deutlich profitiert haben und diesen Nutzen im Laufe der folgenden Injektionszyklen aber wieder verlieren. Der Verlust des Ansprechens kann entweder teilweise (pSNR) oder vollständig (cSNR) sein. Es soll

angeblich viele Gründe für die Entwicklung eines SNR geben (Lange et al. 2009; Ferreira et al. 2015). Dafür liegen aber keine überzeugenden Argumente vor. Nach unserer Einschätzung spricht eine fehlende Wirksamkeit einer Injektion, die durch Optimierung der Dosis oder der Applikationsmethode wieder verbessert werden kann, nicht für ein SNR, sondern für eine insuffiziente Behandlung.

Jede Komponente eines BoNTs kann immunogen wirken. Dabei entstehen Antikörper, die z.B. an akzessorische Proteine oder klinisch irrelevante Stellen am Kernneurotoxin andocken und die Funktion des BoNTs nicht beeinflussen. Andere Antikörper, die z.B. an die Bindungsstelle der schweren Kette attackieren oder an Bereiche der leichten Kette von BoNT/A binden (Oshima et al. 2018), können die Aufnahme des Kerneurotoxins oder die Bindung der leichten Kette an ihr Zielsubstrat SNAP-25 beeinträchtigen und die Funktion des BoNTs deutlich reduzieren (neutralisierende Antikörper (NAbs; (Atassi et al. 2008 und 2011))).

Wenn ein relevanter NAb-Titer aufgetreten ist, wird empfohlen, die Therapie mit BoNT zunächst zu beenden. Nach Absetzen von BoNT dauert es einen längeren Zeitraum, bis die NAbs nicht mehr nachweisbar sind. In einer Studie konnten gezeigt werden, dass zwischen dem Nachweis von NAbs und der anschließenden Umkehrung zum NAb-negativen Status im Durchschnitt 30 Monate lagen (Spanne 10-78 Monate) (Sankhla et al. 1998). In einer anderen Studie fielen die Titer von 60 % der Patienten über einen mittleren Zeitraum von 6 Jahren ab (Dressler und Bigalke 2002). Die immunologische Reaktion auf denselben BoNT-Serotyp kann durch erneute Behandlungen reaktiviert werden (Sankhla et al. 1998; Dressler et al. 2018). Bei einigen Patienten mit partieller SNR in Verbindung mit NAbs kann eine weitere Erhöhung der BoNT-Dosierung den therapeutischen Nutzen verbessern, was jedoch das Steigern der Dosis um das Vierfache erfordern kann (Dressler et al. 2018). Die Entfernung von NAbs mittels Plasmapherese kann eine Wiederaufnahme der Therapie ermöglichen, ist jedoch mit hohen Kosten verbunden (Dressler 2004) und hat sich klinisch zur Behandlung des SNR nicht durchgesetzt. Die intravenöse Gabe von Immunglobulinen in Dosen von bis zu 35 g hat sich zur Reduzierung von BoNT/A-induzierten NAbs nicht als wirksam erwiesen (Naumann et al. 2013, Dressler et al. 2000).

Die gegen BoNT gerichteten IgG-Antikörper sind serospezifisch. Daher sprechen Patienten mit gegen BoNT/A gerichteten NAbS nach der Umstellung auf BoNT/B in der Regel klinisch wieder an. Entgegen der Sorge, dass sich wegen der 30%igen strukturellen Homologie der schweren Ketten von BoNT/A und BoNT/B eine Kreuzimmunität bilden könnte (Dolimbek et al. 2012), konnte aber in mehreren Studien gezeigt werden, dass Patienten, die ein SNR gegen onaBoNT/A entwickelt haben, zunächst auf rimaBoNT/B ansprechen. Danach entwickeln sie aber häufig ein zweites SNR gegen BoNT-B (Dressler 2004; Atassi et al. 2008; Dressler et al. 2018). Das liegt an der hohen Antigenität des BoNT/B-Präparates. Auch die Verwendung von niedrigen BoNT/B-Dosen verzögert nur die NAb-Bildung gegen BoNT/B um einige Injektionszyklen (Hefter et al. 2020b). Ein sehr hohes Risiko für eine NAb-Bildung wurde in auch in Studien beobachtet, in denen von BoNT/A auf BoNT/F umgestellt wurde (Chen et al. 1998; Dressler 2004).

Eine weitere Strategie zur Wiedererlangung der klinischen Ansprechbarkeit bei Patienten mit SNR besteht darin, sie auf BoNT/A-Präparat umzustellen, das keine komplexbildenden Proteine aufweist und daher potenziell eine geringere Immunogenität hat. Dressler et al. verfolgten prospektiv acht Patienten mit CD und SNR nach abo- oder onaBoNT/A-Behandlung nach der Umstellung auf incoBoNT/A (Dressler et al. 2018). Nach dem Abwarten eines vollständigen Rückgangs ihrer NAb-Titer nahmen sie die Injektionsbehandlung bei diesen Patienten mit incoBoNT/A wieder auf. Alle diese acht Patienten hatten den Nutzen der BoNT-Therapie wiedererlangt, und bei keinem der Patienten kam es zu einer weiteren SNR oder einem weiteren Anstieg der BoNT/A-Titer über einen mittleren Follow-up von  $1895,4 \pm 1211,4$  Tagen (Dressler et al. 2018). Trotz der geringen Stichprobengröße legte diese Studie bei Patienten mit SNR nach Behandlung mit ona- oder aboBoNT/A einen Therapieversuch mit incoBoNT/A nahe, nachdem die NAbS verschwunden sind.

Antikörper gegen die nicht-neurotoxin assoziierten Proteine des Gesamt-BoNT-Komplexes (NAPs) führen zwar nicht zu einem Verlust der Wirksamkeit und sind daher nicht so klinisch relevant wie Antikörper gegen die schweren oder leichten Ketten (Joshi et al. 2011). Früher war angenommen worden, dass NAPs dazu dienen, den Zugang zu den antigenen Stellen des Kernneurotoxins zu blockieren und so die

Immunogenität zu verringern (Naumann et al. 2013). Dies gilt aber als widerlegt, seit gezeigt werden konnte, dass NAPs bereits bei der Herstellung der Injektionslösung vom Kernneurotoxin sich lösen und wegdiffundieren (Eisele und Taylor 2008, Eisele et al. 2011). Auch eine Studie, in der die Bildung von Antikörpern als Reaktion auf eine Impfung mit BoNT bei Kaninchen untersucht wurde und eine höhere AK-Titerbildung nach aboBoNT/A im Vergleich zu ona BoNT/A zeigte trotz des geringeren NAP-Gehalts des aboBoNT/ A-Präparates, kann nicht als Argument herangeführt werden (Naumann et al. 2013), dass NAPs keine Rolle bei der Entwicklung eines SNRs spielen. Das Dysport®-Präparat enthält nämlich Flagellin, das mit Toll-like-Rezeptoren interagiert, die an der angeborenen Immunität beteiligt sind und Antigene mit hochkonservierten Molekularstrukturen erkennen (Yoon et al. 2012). Mittlerweile haben weitere Studien (Lee et al. 2005; Kukreja et al. 2009; Naumann et al. 2013) eine adjuvante Wirkung von NAPs nahegelegt. Zwar wurden methodische Bedenken wie z.B. eine atypische Zubereitung oder eine übermäßige Dosierung erhoben (Naumann et al. 2013). Aber die Theorie, dass NAPs eine adjuvante Wirkung haben, ist inzwischen durch Studien weitgehend belegt, die bei mit incoBoNT/A-behandelten Patienten eine geringe Häufigkeit der Antikörperbildung nachweisen (Fabbri et al. 2016; Dressler und Bigalke 2017; Albrecht et al. 2019).

Ein weiterer Faktor, der mit der Struktur des BoNT selbst zusammenhängt, ist das Verhältnis von aktivem zu inaktivem Kernneurotoxin, das die Immunogenität eines Präparates beeinflusst. Inaktives Protein ist z.B. das 150 kD-Vorläuferprotein, das vor einer weiteren Proteasespaltung in eine 100 kD schwere Kette und eine 50 kD leichte Kette gebildet wird. Obwohl dieses 150 kD-Protein inaktiv ist, trägt es die gleichen Epitope wie die schwere und leichte Kette und bleibt immunogen (Aoki and Guyer 2001). Folglich haben Produkte mit einem höheren Verhältnis von inaktivem zu aktivem Toxin eine höhere Antigenität und eine geringere spezifische biologische Aktivität, die das Verhältnis von biologischer Aktivität zu antigenem Toxin angibt (Dressler und Bigalke 2017).

Das historisch bemerkenswerteste Beispiel für eine Produkteigenschaft, die sich auf die Antigenität auswirkt, hat sich bei der Entwicklung von der ursprünglichen Formulierung von onaBoNT/A („old Botox®“) zur neueren Formulierung von onaBONT/A („new Botox®“) gezeigt im Jahr 1997 (Naumann et al. 2013). Die ursprüngliche Formulierung enthielt höhere Mengen an inaktivem Protein (bis zu 90

%), mit 25 ng Neurotoxin pro 100 MU-Fläschchen im Vergleich zu 5 ng Neurotoxin in der neueren Zubereitung (Lange et al. 2009). Die Wahrscheinlichkeit der Bildung von Antikörpern war bei der ursprünglichen Formulierung sechsmal höher als bei der neueren Formulierung (Jankovic et al. 2003).

BoNT-A wird bei der Herstellung im Allgemeinen bis zu 95 % aktiviert. Bei BoNT/B , bleiben aber etwa 25-30 % inaktiv, was die hohe Antigenität des BoNT/B-Präparates erklärt (Callaway 2004; Jankovic et al. 2006). Die Unterschiede in der Proteininaktivierung sind aber nicht der alleinige Grund für die Unterschiedlichkeit in der Antigenität der unterschiedlichen Präparate. Auch eine höhere Menge von inaktiven Kernneurotoxin-Fragmenten erhöht die Antigenität eines Präparates (Frevert 2015). Ferner können Unterschiede im Herstellungsprozess zu Veränderungen der dreidimensionalen Struktur führen, und der Abbau während der Lagerung kann zu einer unbeabsichtigten Inaktivierung des Toxins führen (Gottlieb 2008; Naumann et al. 2013).

Auch der Immunstatus der Patienten kann die Immunoreaktion beeinflussen. Möglicherweise haben einige Patienten bereits Antikörper, die auf frühere Botulismuserkrankungen oder Impfungen zurückzuführen sind. Es ist sogar die Theorie aufgestellt worden, dass Tetanusimpfungen zur Bildung von BoNT-NAbs beitragen könnten, da Tetanustoxin eine mehr als 50%ige Homologie der Aminosäuren zu BoNT/A und BoNT/B aufweist. Dies wurde jedoch nicht durch Tierversuche belegt, und menschliche Daten dazu sind derzeit nicht verfügbar (Naumann et al. 2013).

## **1.6. Xeomin**

Xeomin® (incoBoNT/A; Hersteller: Merz Pharmaceuticals, Frankfurt, Deutschland) ist eine neuere, hochgereinigte, gefriergetrocknete Formulation von BoNT/A, der die komplexbildenden Proteine entzogen wurden, die mit dem nativen inaktiven Toxin assoziiert sind (Frevert 2015). Im Gegensatz dazu enthalten die beiden anderen BoNT/A-Präparate Botox® und Dysport® nach wie vor die komplexbildenden Proteine (Frevert 2010). Xeomin® ist seit Juni 2005 in Deutschland für die Behandlung der Zervikalen Dystonie und des Blepharospasmus zugelassen. Es wird hauptsächlich in

Europa, Mexiko und Argentinien zur Behandlung von Blepharospasmus und zervikaler Dystonie eingesetzt. 2009 wurde incoBoNT/A für ästhetische Indikationen unter dem Namen Bocouture® lizenziert. In den Vereinigten Staaten wurde Xeomin® 2011 von der FDA zur vorübergehenden Verbesserung der Ästhetik von mittelschweren bis schweren Glabellafalten bei Erwachsenen zugelassen.

Xeomin® wurde so konzipiert, dass ein Dosisverhältnis zu Botox® von 1:1 besteht (Carruthers und Carruthers 2007). In Studien, die Botox® und Xeomin® verglichen, wurden keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf Sicherheit und Wirksamkeit festgestellt. Da Xeomin® frei von therapeutisch überflüssigen Komplexproteinen ist, ist davon auszugehen, dass seine reinere Formulierung zu einer hohen Wirksamkeit bei einem geringeren Risiko einer Antikörperbildung führt (Jost et al. 2007).

In Xeomin® wird die BoNT-Komponente aus dem Wildtyp-Stamm von Clostridium botulinum Typ A (ATCC 3502) gewonnen (Frevert und Dressler 2010). Aus den Produktbeschreibungen geht hervor, dass CP-haltige BoNT-Präparate eine Haltbarkeit von 2 Jahren (Dysport®) bzw. 3 Jahren (Botox®, NeuroBloc®) haben und bei Temperaturen zwischen 2°C und 8°C gelagert werden müssen. Dagegen hat Xeomin® eine Haltbarkeit von 4 Jahren und unterliegt keinen Temperaturbeschränkungen bei der Lagerung (Grein et al. 2008). Bei Raumtemperatur (25 °C) sind alle Bestandteile von Xeomin®, einschließlich BoNT, Saccharose und Humanserumalbumin, sowie die biologische Aktivität von Xeomin® mindestens 48 Monate lang stabil (Grein et al. 2008). Bei 30°C ist Xeomin® mindestens 18 Monate, bei 40°C mindestens 6 Monate und bei 60°C 1 Monat lang stabil. Bei 80°C nimmt die biologische Aktivität von Xeomin® nach 5 Tagen ab, während die proteolytische Aktivität länger intakt bleibt, was auf eine höhere Temperaturempfindlichkeit der Bindungs- und/oder Translokationsdomänen als des katalytischen Zentrums der leichten Kette hinweist (Grein et al. 2008).

Obwohl komplexbildenden Proteine (complexing proteins; CPs) die Größe der BoNT-Komponente beträchtlich erhöhen, deuten sowohl klinische als auch präklinische Daten darauf hin, dass CP-haltige und CP-freie BoNT-Medikamente nicht unterschiedlich in die Zielgewebe diffundieren (Benecke et al. 2005; Roggenkämper et al. 2006; Dressler 2009). Der Grund dafür ist die schnelle Dissoziation von dem

Kernneurotoxin von den CPs bereits unmittelbar nach der Herstellung der Injektionslösung (Eisele et al. 2011). Die Messung des Gesamtmuskelaktionspotentials des Abductor hallucis und des Extensor digitorum brevis zeigt keine Diffusion von Botox® und Xeomin® von einem dieser Muskeln zum anderen (Wohlfarth et al. 2007). Die Messung des neuronalen Zelladhäsionsmoleküls (N-CAM) zeigt nur eine begrenzte Diffusion von Botox®, Dysport® und Xeomin® (Dosisumrechnungsfaktor 1:4:1) in benachbarte Muskeln, wobei die Diffusion von Dysport® etwas größer war als die von Botox® oder Xeomin® (Carli et al. 2009).

Xeomin® zeigt im Vergleich zu herkömmlichen BoNT-Präparaten eine verbesserte spezifische biologische Aktivität (SBA) und eine verbesserte Stabilität, während die Potenz und die Diffusion mit Botox® identisch sind (Dressler 2012). Die SBA beschreibt die biologische Aktivität in Mauseinheiten (MU) pro Gewichtseinheit des gesamten (d.h. aktiven und inaktivierten) BoNT in Nanogramm (ng). Die SBA beschreibt also die immunologische Qualität von BoNT-Präparaten. Ein hoher SBA wird mit einer geringen Antigenität assoziiert und vice versa. Die verbesserte SBA von Xeomin® lässt auf eine verbesserte Antigenität schließen. Es sind zum einen Tierversuche und zum anderen Therapieverlaufsstudien erforderlich, um diese Hypothese zu bestätigen.

## **1.7. Ziel der Arbeit**

Das Spektrum der Indikationen für die klinische Anwendung von BoNT/A nimmt kontinuierlich zu. Mitunter wird derselbe Patient wegen mehrerer Indikationen mit BoNT/A behandelt: z.B. wegen Migräne und zervikaler Dystonie oder wegen einer Spastik und einer Hypersalivation oder wegen einer Blasenstörung und einer Spastik. Deshalb spielt das Problem der Bildung neutralisierender Antikörper und des sekundären Therapieversagens klinisch eine immer relevantere Rolle.

Mit dem seit 2005 zugelassenen Präparat Xeomin® (incoBoNT/A) steht ein Präparat zur Verfügung, das, wie oben dargelegt, aus theoretischen Gründen eine sehr geringe Antigenität zu haben scheint. Da vergleichende Studien zur Antigenität von abo-, ona-

und incoBoNT/A bisher fehlen, soll in den hier durchgeführten Untersuchungen ein Beitrag zu dem Problem geleistet werden, ob sich in der Tat incoBoNT/A in der klinischen Praxis als sehr gering antigen erweist.

Dazu werden Patienten, die nur mit incoBoNT/A behandelt worden waren, einerseits hinsichtlich Faktoren untersucht, die das Langzeitergebnis negativ beeinflussen könnten, um so Einflussgrößen zu kontrollieren, die ein sekundäres Therapieversagen verstärken oder vortäuschen könnten. Sie werden andererseits hinsichtlich des Vorliegens von Antikörpern und der Entwicklung eines SNR untersucht. Schließlich wird ihr Langzeitergebnis verglichen mit dem von Patienten, die auf incoBoNT/A umgestellt worden waren, nachdem zuvor sich unter abo- oder onaBoNT/A ein SNR entwickelt hatte.

Im Einzelnen werden folgende Untersuchungen durchgeführt:

1. Mit Hilfe eines selbstentworfenen Fragebogens wird die Dauer der Vorgeschichte vor der incoBoNT/A-Therapie erfasst, um deren Einfluss auf das Langzeitergebnis zu studieren.
2. Die Patienten werden aufgefordert, den Verlauf der Symptomatik vor der incoBoNT/A-Therapie zu zeichnen, um zu analysieren, ob nicht nur die Dauer der Vorgeschichte, sondern auch der gesamte Verlauf das Langzeitergebnis beeinflusst.
3. Die Patienten werden befragt, welche Symptome zu Beginn der incoBoNT/A-Therapie bestanden und welche Symptome nach der incoBoNT/A-Therapie bestanden.
4. Die Patienten werden aufgefordert, den Verlauf der Symptomatik nach Beginn der incoBoNT/A-Therapie bis zum Zeitpunkt der Rekrutierung für die vorliegende Studie zu zeichnen, um zu analysieren, ob sich verschiedene Verläufe mit unterschiedlichem Langzeitergebnis gegeneinander abgrenzen lassen.

5. Bei den Patienten werden AKs mit Hilfe des Mausdiaphragma-Testes (MHDA) bestimmt, ob sich unter Xeomin® Antikörper entwickeln.
6. Danach wird das Langzeitergebnis von Patienten mit zervikaler Dystonie, die nur mit incoBoNT/A behandelt worden waren, verglichen mit dem Langzeitergebnis von CD-Patienten, die unter abo- oder onaBoNT/A ein SNR entwickelt hatten und danach auf incoBoNT/A umgestellt worden waren.
7. Schließlich wird analysiert, ob bei Patienten mit oder ohne überschwelligen AK-Titern diese mit der klinischen Symptomatik korrelieren, ob also den AK-Titern eine klinische Bedeutung beizumessen ist.

## **2. Material und Methoden**

### **2.1. Ethische Aspekte**

Die durchgeführten Untersuchungen wurden von der Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf genehmigt (Votumnummer: 4085, Genehmigung am 26.06.2017). Alle in diese Kombination aus einer retrospektiven Analyse und einer Querschnittsanalyse eingeschlossenen Patienten wurden über die Nutzung der Patientendaten für Studienzwecke aufgeklärt und haben die schriftliche Einwilligung zur Untersuchungsteilnahme erteilt. Die Untersuchungen folgten den Empfehlungen der STROBE (strengthening the reporting of observational studies in epidemiology) Guidelines für retrospektive Kohortenstudien und wurden in Übereinstimmung mit der Deklaration von Helsinki des Weltärztebundes und den einschlägigen lokalen Vorschriften durchgeführt.

### **2.2. Generelle Vorbemerkungen und rekrutierte Patientenn**

Laut der Untersuchungsplanung sollte bei den rekrutierten Patienten eine Befragung durchgeführt werden. Danach sollte der Krankheitsverlauf bis zum Beginn der BoNT/A-Therapie und dann vom Beginn der BoNT/A Therapie bis zur Rekrutierung gezeichnet werden. Abschließend sollte eine Blutprobe für die Antikörperbestimmung abgenommen werden. Die Befragung, das Zeichnen der Krankheitsverläufe und die Blutabnahme sollten im Rahmen einer routinemäßigen ambulanten Vorstellung in der Spezialsprechstunde für die Behandlung mit BoNT der Neurologischen Klinik des Universitätsklinikums Düsseldorf erfolgen. Deshalb wurden die Patienten als erstes darüber informiert, dass die nächste ambulante Vorstellung ca. 1-2 Stunden länger dauern würde.

Nicht alle Fragebögen wurden komplett ausgefüllt, nicht alle Patienten waren in der Lage, ihren Krankheitsverlauf vor und nach der BoNT-Therapie zu zeichnen und nicht alle abgenommenen Blutproben erreichten das Ziellabor. Deshalb wird ausführlich dargestellt, wie sich die Patientenkollektive für die finale Datenanalyse zusammensetzten.

Da die Patienten im Rahmen ihrer routinemäßigen ambulanten Behandlung rekrutiert und nicht gesondert einbestellt wurden, zog sich die Rekrutierung über ein Jahr hin. Und weil die Analyse aller Blutproben auf das Vorliegen von Antikörpern erst nach Abschluss der Rekrutierung zusammen erfolgte, um die Analyse der Proben unter

denselben Laborbedingungen zu garantieren, mussten einige Patienten mehr als ein Jahr auf das Ergebnis der Antikörpertestung warten.

In der vorliegenden Arbeit werden 3 Patientenpopulationen untersucht: die Patienten des Kollektiv I, die Patienten des Kollektiv II und die Patienten der „Switcher“-Gruppe (SWI-Gruppe). Die Rekrutierung dieser 3 Kollektive wird ausführlich erläutert.

Für die Rekrutierung der Patienten wurden die Krankenakten aller Patienten in der Botulinumtoxin-Ambulanz der Neurologischen Klinik der Universität Düsseldorf (Deutschland) gesichtet, um zu evaluieren, ob ein Patient die Behandlung mit incoBoNT/A (Xeomin®) in der BoNT-Ambulanz des Universitätsklinikums Düsseldorf (UKD) begonnen hatte und seitdem ausschließlich mit incoBoNT/A behandelt worden war. Wenn dieses Kriterium erfüllt war, wurde genauer nachgeschaut, ob alle Rekrutierungskriterien erfüllt waren.

Rekrutiert wurden Patienten, wenn sie 1) älter als 18 Jahre waren, 2) an einer fokalen Dystonie erkrankt waren, 3) nicht unter gesetzlicher Betreuung standen, 4) ihre incoBoNT/A-Behandlung in der BoNT-Ambulanz der Neurologischen Klinik des UKD begonnen hatten, 5) keine Unterbrechung der incoBoNT/A-Therapie von mehr als 5 Monaten hatten und 6) eine schriftliche Einverständniserklärung zur Teilnahme an den Untersuchungen abgegeben hatten. Insgesamt wurden 44 Patienten rekrutiert: 37 Patienten mit einer zervikalen Dystonie, 4 Patienten mit einem Meige-Syndrom und 3 Patienten mit einem Blepharospasmus.

Für die Aufnahme in das Kollektiv I war als Zusatzeinschlusskriterium gefordert, dass die Patienten in der Lage waren, einen weiter bearbeitbaren Verlauf ihrer Erkrankung vor Beginn der BoNT/A-Therapie (**course of disease before BoNT/A; (CoDB-Graph)**) und nach Beginn der Xeomin®-Behandlung bis zur Rekrutierung (**course of disease after BoNT/A (CoDA-Graph)**) zu zeichnen, und einen aktuellen Antikörperstatus hatten. 9 Patienten mit einer zervikalen Dystonie waren nicht in der Lage, einen digitalisierbaren CoDA- und CoDB-Graphen zu produzieren. Bei zwei Patienten mit zervikaler Dystonie gingen die Blutproben auf dem Transport ins Ziellabor in Hannover verloren. Das Kollektiv I umfasste also schließlich 33 Patienten:  $37 - 9 - 2 = 26$  Patienten

mit einer zervikalen Dystonie, 4 Patienten mit einem Meige-Syndrom und 3 Patienten mit einem Blepharospasmus.

Für die Aufnahme in das Kollektiv II war zusätzlich zu den Einschlusskriterien 1-6 als Zusatzeinschlusskriterium gefordert, dass die Patienten an einer zervikalen Dystonie erkrankt waren und einen aktuellen Antikörperstatus hatten. Einer der rekrutierten Patienten zog vor Bestimmung des AK-Status seine Einwilligung zurück. Das Kollektiv II umfasste schließlich:  $37-2-1=34$  Patienten.

Patienten, die für die SWI-Gruppe rekrutiert wurden, mussten als generelles Screening und Einschlusskriterium erfüllen, dass (i) die BoNT/A-Behandlung ab ihrem Beginn in der BoNT-Ambulanz der Neurologischen Klinik des UKD dokumentiert war oder der Verlauf auswärts von Anbeginn lückenlos dokumentiert war inklusive des neurologischen Befundes, so dass TSUI-Scores berechnet werden konnten, und dass (ii) sich unter der Behandlung mit ona- oder aboBoNT/A ein teilweises oder sekundäres Therapieversagen entwickelt hatte.

Rekrutiert wurden für das SWI-Kollektiv Patienten, wenn sie 1) älter als 18 Jahre waren, 2) an einer zervikalen Dystonie erkrankt waren, 3) nicht unter gesetzlicher Betreuung standen, 4) nach der Entwicklung eines p- oder cSTF eine incoBoNT/A-Behandlung in der BoNT-Ambulanz der Neurologischen Klinik des UKD begonnen hatten, 5) keine Unterbrechung dieser incoBoNT/A-Therapie von mehr als 5 Monaten hatten bis zur Rekrutierung hatten, 6) einen aktuellen Antikörperstatus aufwiesen und 7) eine schriftliche Einverständniserklärung zur Teilnahme an den Untersuchungen abgegeben hatten. Es wurden 61 Patienten rekrutiert. Ein Patient zog vor Bestimmung des AK-Status seine Einwilligung zurück. Das SWI-Kollektiv umfasste schließlich 60 ( $=61-1$ ) Patienten mit einer zervikalen Dystonie, Bei einem Patienten war auswärts nicht dokumentiert worden, ob die erste BoNT/A-Behandlung mit ona- oder aboBoNT/A durchgeführt worden war.

**Die endgültige Analyse basiert auf 33 Patienten in KOL-I, 34 in KOL-II (auch XEO-Mono-Gruppe genannt) und 60 Patienten in der SWI-Gruppe.**

Das SWI-Kollektiv wurde von der Mitdotorandin Beyza Ürer von Prof. Hefter untersucht. Auch diese Patienten wurden befragt und mussten den Verlauf der incoBoNT/A-Behandlung zeichnen. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen finden sich in der Dissertation von Frau Ürer. („Studie zum Verlauf von Klinik und Antikörpern bei Patienten mit zervikaler Dystonie mit sek. Therapieversagen nach Botulinum - Neurotoxin Therapie“, Inauguraldissertation von Beyza Ürer, Heinrich Heine Universität Düsseldorf, 2022) Für den Vergleich mit dem Kollektiv II wurden von Frau Ürer nur die demographischen und behandlungsrelevanten Daten inklusive der TSUI-Scores aus den Akten der Patienten zur Verfügung gestellt.

### **2.3. Ablauf der Untersuchungen**

Nachdem die Patienten ihr Einverständnis schriftlich dokumentiert hatten, wurde Ihnen ein Fragebogen (siehe unten) vorgelegt. Nach dessen Beantwortung sollten sie den Verlauf ihrer Erkrankung von der ersten Manifestation an bis zum Beginn der Xeomin®-Behandlung aufzeichnen (course of disease before BoNT/A; CoDB-Graph). Die Größe der Zeichnung war vorgegeben (siehe Abschnitt 2.5). Anschließend sollten sie den Verlauf der Erkrankung von Beginn der Xeomin®-Behandlung bis zur Rekrutierung zeichnen (course of disease after BoNT/A; CoDA-Graph). Danach erfolgte die routinemäßig anfallende BoNT/A-Injektion. Wenn der Patient eine zervikale Dystonie (CD) aufwies, wurde vom Behandler der Schweregrad der CD mit Hilfe des TSUI-Scores (TSUI et al. 1985) bewertet. Anschließend erfolgte eine Blutabnahme von 5-10 ml Vollblut, dessen Serum nach Zentrifugation eingefroren wurde. Nach Abschluss der Rekrutierung wurden alle Blutproben auf Trockeneis an das Toxogen®-Labor an der Medizinischen Hochschule Hannover (MHH) versandt. Nach dem Vorliegen der Antikörpermessung erfolgte die statistische Auswertung des Fragebogens, der Zeichnungen der Patienten und der demographischen und behandlungsspezifischen Daten.

### **2.4. Erläuterung des Fragebogens**

Der Fragebogen enthielt folgende Fragen: A) Wann traten die ersten Symptome auf? B) Wann wurden Sie erstmals mit Botulinumtoxin behandelt? C) Welche der folgenden Symptome lagen bei Ihnen vor als Sie zum ersten Mal mit Botulinumtoxin behandelt wurden? Zur Beantwortung mussten Kästchen angekreuzt werden, die neben den

folgenden Symptomen standen: 1) Schmerzen im Kopf-, Hals- oder Schulterbereich, 2) Verspannungen der Kopf-, Hals- oder Schultermuskeln, 3) reduzierte Kopfbeweglichkeit, 4) abnorme Kopfposition, 5) Kopfzittern und 6) andere Symptome, wobei diese in ein freies Feld geschrieben werden mussten. D) Welche der folgenden Symptome lagen in den letzten Tagen vor der heutigen Wiedervorstellung bei Ihnen vor? Zur Beantwortung wurde dieselbe Liste mit Symptomen zum Ankreuzen vorgelegt wie bei Frage C, eventuell ergänzt um die anderen Symptome, die der Patient beim ersten Durchlauf unter 6) angegeben hatte.

## **2.5. Graphische Darstellung des Krankheitsverlaufs**

Um den Verlauf des Schweregrads der Erkrankung vom Beginn der Symptome bis zum Beginn der BoNT/A-Therapie (CoDB-Graph) zu zeichnen, saßen die Patienten bequem vor einem Schreibtisch und legten beide Hände auf den Tisch, wobei eine Hand ein Blatt Papier mit einem Quadrat von 10 × 10 cm Größe und die andere einen Stift hielt. Der Untersucher erklärte dem Patienten, dass die untere Kante des Quadrats (x-Achse) der Zeit vom Auftreten der Symptome bis zum Beginn der BoNT-Therapie und die nach oben gerichtete Kante (y-Achse) dem Schweregrad der Erkrankung entsprechen sollte. Die rechte obere Ecke sollte den Schweregrad der Erkrankung bei Beginn der BoNT-Therapie darstellen. Der Patient musste den CoDB-Graphen von der linken unteren Ecke (=0%) bis zur rechten oberen Ecke (=100%) ohne Unterbrechung einzeichnen. Geling es dem Patienten nicht, einen durchgehenden Graphen zu zeichnen, sondern hatte er mehrere Linienfragmente erzeugt, musste ein zweiter durchgehender Graph in ein neues Quadrat gezeichnet werden. Auch ein dritter Versuch war erlaubt, nicht aber ein vierter. Auch verbale Unterstützung durch den Versuchsleiter war erlaubt, aber keine Zeichenhilfe. Um eine ungewünschte Beeinflussung zu vermeiden, wurde dem Patienten kein Beispiel eines anderen Patienten oder des Untersuchers gezeigt.

Um den Verlauf des Schweregrads der Erkrankung vom Beginn der BoNT/A-Therapie bis zum Tag der Rekrutierung zu zeichnen (CoDA-Graph), wurde ein zweites Blatt Papier mit einem Quadrat von 10 × 10 cm vorgelegt. Die rechte Kante des Quadrats diente als visuelle Analogskala: Auf dieser Kante musste der aktuelle Schweregrad der Erkrankung (actual severity of CD; ASCD) im Verhältnis zum Schweregrad der

Erkrankung zu Beginn der Therapie (=100%) markiert werden. Dadurch ergab sich die durch Zeichnung des CoDA-Graphen geschätzte Verbesserung der Erkrankung (IMPD in %) als  $(10 - \text{ASCD}) \times 10$ . Dann musste der CoDA-Graph kontinuierlich von der linken oberen Ecke (=100 %) bis zur Markierung der ASCD am rechten Rand des Quadrats gezeichnet werden. Auch für das Zeichnen des CoDA-Graphen waren 3 Versuche erlaubt. Das Zeichnen des CoDA-Graphen war schwieriger als das des CoDB-Graphen, so dass nicht alle Patienten einen vollständigen CoDB- und CoDA-Graphen produzierten.

Die vollständigen CoDA- und CoDB-Graphen wurden mit einem Standardscanner gescannt. Die CoD-Graphen wurden mit einer handelsüblichen Software DIGITIZEIT® (Braunschweig, Deutschland) digitalisiert. Nachdem Ursprung und Ende der x-Achse, der y-Achse und des CoDB-Graphen markiert worden waren, erzeugte die Software eine x,y-Tabelle, wenn ein Stift entlang des Scans des CoD-Graphen vom Ursprung zum Ende des Graphen bewegt wurde.

Die digitalisierten CoD-Graphen wurden abhängig von ihrer Form in drei verschiedene Typen von Graphen eingeteilt. Bei den CoDB-Graphen ergaben sich der schnell beginnende RO-Typ (rapid onset), der sich kontinuierlich verschlechternde Typ (continuous onset) und der mit einer Verzögerung sich verschlechternde DO-Typ (delayed onset). Entsprechend wurden bei den CoDA-Graphen der sich rasch bessernde RR-Typ (rapid response), der sich kontinuierlich bessernde (CR)-Typ (continuous response) und der Typ mit verzögertem Ansprechen (delayed response; DR-Typ) unterschieden.

Die Patienten des Kollektiv I wurden einmal unterteilt in Abhängigkeit von dem Typen des CoDB-Graphen in eine RO-, CO- und DO-Untergruppe und einmal in Abhängigkeit von dem CoDA-Graphen in eine RR-, CR- und DR-Untergruppe.

## **2.6. Antikörperbestimmung**

Zum Zeitpunkt der Rekrutierung wurden die entnommenen Blutproben zentrifugiert und die Seren tiefgefroren bis alle Patienten (n=44 für Kol I oder II, n=61 für das SWI-Kollektiv) eingeschlossen waren. Danach wurden die Blutseren kodiert und gekühlt an

das Toxogen®-Labor (Hannover, Deutschland) geschickt, das die Proben auf das Vorhandensein neutralisierender Antikörper mit Hilfe des MHDA-Tests (mouse hemidiaphragma assay) analysierte. Das Labor wurde nicht über den Zweck der Studie informiert und war bezüglich der klinischen Daten völlig verblindet. Nach der Durchführung des MHDA übermittelte das Toxogen®-Labor eine Liste mit den Paralysezeiten (TPAR, dem Ergebnis des MHDA-Tests) der einzelnen kodierten Seren und ob die Probe als positiv oder negativ bezgl. der Antikörperbildung zu bewerten war.

Das Ergebnismaß des MHDA-Tests ist die Paralysezeit (TPAR). Bei der Durchführung des MHDA-Tests wird eine Hälfte eines isolierten Mauszwerchfells in einen Kraftaufnehmer in einem Präparatebad eingespannt und über den bei der Präparation erhaltenen Nervus phrenicus stimuliert. Durch Zugabe von Botulinumtoxin in das Bad nehmen die Kontraktionen zunehmend an Amplitude ab. Die Zeit bis zum Erreichen der halben Maximalkraft wird Paralysezeit genannt. Wird Patientenblut vor der Botulinumtoxinzugabe in das Präparatebad eingebracht, wird abhängig von dem Antikörpertiter die Wirkung von Botulinumtoxin abgeschwächt und die Paralysezeit verlängert. Eine TPAR von 60 Minuten markiert den oberen Normbereich.

Für die statistische Analyse wurde die SWI-Gruppe zweimal in zwei Untergruppen eingeteilt. Zum einen in eine ABO- oder ONA-Untergruppe in Abhängigkeit davon, mit welchem BoNT/A-Präparat die BoNT-Therapie begonnen worden war und unter welchem BoNT/A-Präparat sich das p- oder cSTF eingestellt hatte. Und zum anderen in eine AK-pos- und eine AK-neg-Gruppe in Abhängigkeit davon, ob der AK-Status positiv oder negativ von dem Toxogen®-Labor beurteilt worden war.

## **2.7. Liste der verwendeten Parameter**

Aus den Akten der Patienten wurden folgende Parameter extrahiert: Alter des Patienten (AGE), initiale Dosis von incoBoNT/A (IDOSE), Dosis von incoBoNT/A bei Rekrutierung (ADOSE) und die Steigerung der Dosis während der incoBoNT/A-Therapie (INDOSE). Die Beantwortung des Fragebogens erlaubte die Berechnung des Alters bei Symptombeginn (AOS), die Berechnung der Zeitdauer zwischen Auftreten der ersten Symptome bis zum Beginn der incoBoNT/A-Therapie (DURS) und die Berechnung der Dauer der Therapie (DURT). Die im Fragebogen angegebene

Besserung (IMPQ) wurde ebenfalls für die Auswertung herangezogen. Aus den CoDA-Graphen wurde die gezeichnete Verbesserung extrahiert (IMPD).

Für alle Patienten mit zervikaler Dystonie wurde der Schweregrad der CD bei Beginn (ITSUI), der beste dokumentierte TSUI-Score (BTSUI) und der TSUI bei Rekrutierung (ATSUI) extrahiert. Auch die Zeit von Beginn der BoNT/A-Therapie bis zum Erreichen des BTSUI wurde bestimmt (TTB) wie auch die Dosis zu diesem Zeitpunkt (BDOSE). Bei den Patienten der SWI-Gruppe wurde zusätzlich der Zeitpunkt der Umstellung auf incoBoNT/A dokumentiert, die Zeit seit Beginn der BoNT/A-Therapie bis zur Umstellung bestimmt (TTS), der Schweregrad der CD zum Zeitpunkt der Umstellung (STSUI) und die initiale incoBoNT/A-Dosis (SDOSE) extrahiert.

Da in der SWI-Gruppe initial die Patienten mit onaBoNT/A (=Botox®) oder aboBoNT/A (Dysport®) behandelt worden waren, wurden die entsprechenden Dosisangaben auf unified dose units (uDU) umgerechnet. Dabei wurden Botox® und Xeomin®-Dosen unverändert gelassen und Dysport®-Dosen durch 3 geteilt. Dieses Dosisverhältnis wurde in mehreren Veröffentlichungen benutzt und liegt auf der Linie der Empfehlungen einer Consensus-Gruppe (Contarino und van den Dool 2017).

Als weiterer Parameter wurde die Paralysezeit (TPAR) für die Analyse herangezogen.

## **2.8. Datenverarbeitung und statistische Datenanalyse**

Für die verschiedenen Parameter wurde die deskriptive Statistik berechnet und wurden Mittelwerte, Standardabweichung und minimale und maximale Werte bestimmt. Wenn Korrelationen berechnet wurden, wurde sowohl der Spearman-rho Rang-Koeffizient als auch die parametrische Produktmoment-Korrelation ausgerechnet. Für die Geschlechts- und Antikörperverteilung wurde ein  $\chi^2$ -Test eingesetzt.

Zum Vergleich der Parameter der RO-, CO-, DO-Untergruppen von KOL I wurde eine 3-Gruppen ANOVA mit Messwiederholung berechnet.

Auch für den Vergleich der Parameter der RR-, CR-, DR-Untergruppen von KOL I wurde eine 3-Gruppen ANOVA mit Messwiederholung berechnet.

Für den Vergleich der ONA- und ABO-Untergruppe der SWI-Gruppe mit KOL II (=XEO-Mono-Gruppe) wurde ebenfalls eine 3-Gruppen ANOVA mit Messwiederholung berechnet.

Auch für den Vergleich der AK-pos- und AK-neg-Untergruppe der SWI-Gruppe mit KOL II (=XEO-Mono-Gruppe) wurde ebenfalls eine 3-Gruppen ANOVA mit Messwiederholung berechnet.

Alle verwendeten statistischen Methoden waren Bestandteil des Statistikpakets SPSS (Version 25; IBM, Armonck, USA).

### 3. Ergebnisse

#### 3.1. Beschreibung des Kollektivs und der Behandlungsdaten

In das erste Kollektiv (Kol I) wurden 33 Patienten eingeschlossen, die nur mit Xeomin® behandelt wurden. Es waren 18 Patienten weiblich und 15 männlich. Das Alter (AGE) schwankte zwischen 28,6 und 82,2 Jahren und betrug im Mittel 58,7 Jahre mit einer Standardabweichung von 13,1 Jahren. Bei Beginn der Symptomatik (AOS) waren die Patienten zwischen 13,2 und 73,9 Jahre und im Mittel 47,5 Jahre alt mit einer Standardabweichung von 15,1 Jahren. Die Zeit zwischen Beginn der Symptomatik (DURS) und Beginn der Xeomin®-Behandlung betrug im Mittel 5,2 Jahre mit einer Standardabweichung von 8,1 Jahren. Bei den Patienten mit einer zervikalen Dystonie schwankte der initiale Schweregrad (ITSUI), abgeschätzt mit dem TSUI-Score zwischen 4 und 16 und betrug im Mittel 7,0 mit einer Standardabweichung von 3,3. Die initiale Dosis (IDOSE) variierte zwischen 30 und 300 uDU und betrug im Mittel 164 uDU mit einer Standardabweichung von 85 uDU.

Die Behandlungsdauer (DURT) betrug im Mittel 6,36 Jahre mit einer Standardabweichung von 2,11 Jahren. Während dieser Zeit wurde die Dosis (INDOSE) im Mittel um 96 uDU erhöht mit einer Standardabweichung von 77 uDU. Die Dosis bei Rekrutierung (ADOSE) betrug 260 uDU mit einer Standardabweichung von 111 uDU. Wenn die Patienten nach der Verbesserung gefragt wurden (IMPQ), gaben sie im Mittel eine Verbesserung um 69,4% mit einer Standardabweichung von 19,0% an. Wenn sie die Verbesserung auf einer visuellen Analog-Skala einzeichnen sollten (IMPD), gaben sie eine Verbesserung um 69,6% mit einer Standardabweichung von 18,2% an.

Bei den Patienten mit einer zervikalen Dystonie schwankte der initiale Schweregrad (ITSUI), abgeschätzt mit dem TSUI-Score zwischen 4 und 16 und betrug im Mittel 7,6 mit einer Standardabweichung von 3,3. Während der Behandlung verbesserte sich der Schweregrad der Erkrankung. Der beste TSUI-Wert betrug im Mittel 1,5 mit einer Standardabweichung von 1,5. Die Dosis, die zum Zeitpunkt des besten TSUI-Wertes verabreicht wurde, betrug im Mittel 249 uDU mit einer Standardabweichung von 92 uDU. Bei Rekrutierung betrug der aktuelle Schweregrad (ATSUI) 4,0 mit einer Standardabweichung von 3,0. Die Verbesserung entsprechend dem TSUI-Score (IMPTSUI=ITSUI-ATSUI) betrug 3,9 (=48,9%) mit einer Standardabweichung von 4,4.

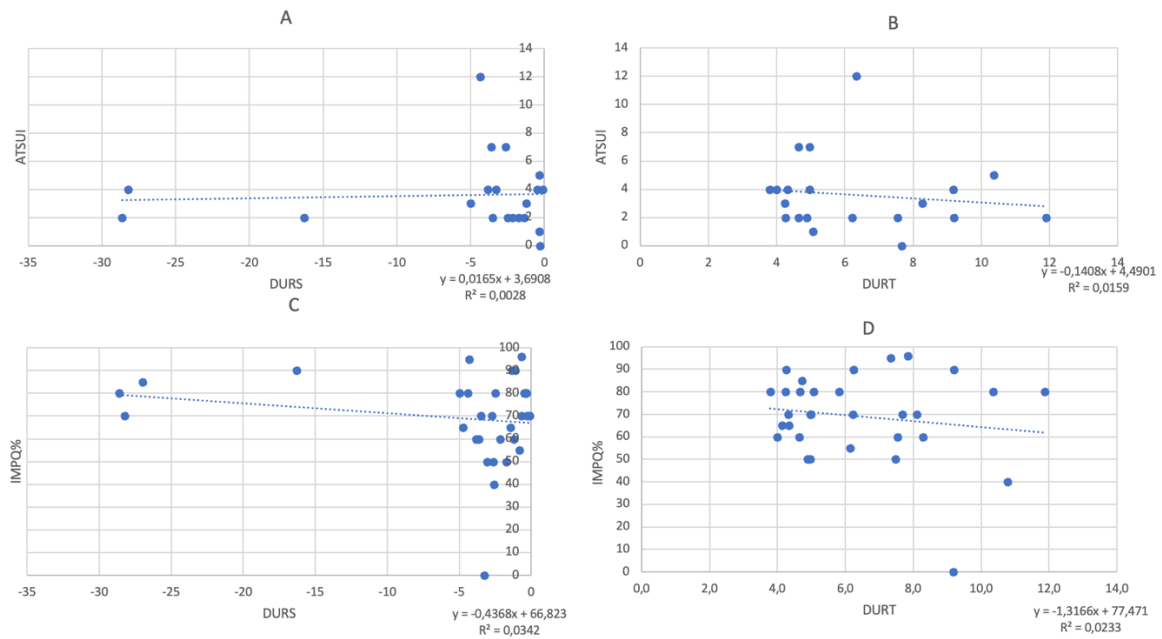
Die Patienten mit einer zervikalen Dystonie schätzten also den Therapieerfolg höher ein als die behandelnden Neurologen.

Die demographischen und behandlungsbezogenen Daten von KOL I werden in der Spalte „Alle“ in Tab. 1 zum Vergleich noch einmal übersichtlich präsentiert.

### **3.2. Auswirkungen der Zeit vor Therapie und der Behandlungsdauer auf das Langzeitergebnis**

Um zu überprüfen, ob ein längeres Bestehen von Symptomen sich negativ auf das Langzeitergebnis auswirkt, wurde einerseits bei den Patienten mit zervikaler Dystonie der aktuell vom Untersucher bestimmte Schweregrad der CD (ATSUI; Teil A) und andererseits die bei allen Patienten im Fragebogen geschätzte Besserung (IMPQ%; Teil C) mit der Zeit vom ersten Auftreten der Symptome bis zur Xeomin®-Therapie (DURS) korreliert. Hierbei ergaben sich keine signifikanten Korrelationen, weil nur bei 4 Patienten die Zeit vom Auftreten der Symptome bis zur Therapie mehr als 5 Jahre betrug.

Wurde ATSUI gegen die Behandlungsdauer (DURT) aufgetragen (Teil B), ergab sich eine zunehmende, aber nicht signifikante Besserungstendenz. Auch IMPQ% wies keine signifikante Korrelation mit der Behandlungsdauer auf (Teil C).

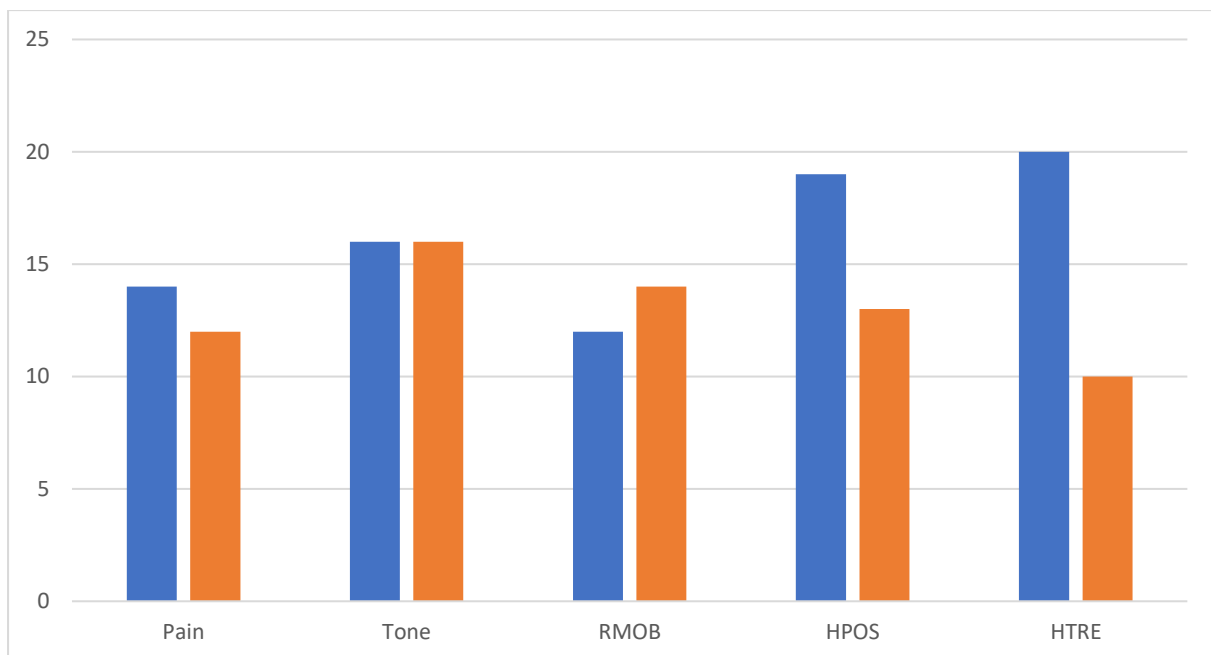


**Abb. 1:** Dargestellt sind in den linken Bildteilen die Korrelationen zwischen dem aktuellen Schweregrad (ATSUI; Teil A) und der subjektiven Einschätzung der Verbesserung (IMPQ%; Teil C) mit der Zeit vor Beginn der Xeomin®-Therapie (x-Achse; DURS). In den rechten Bildteilen sind die Korrelationen zwischen dem aktuellen Schweregrad (ATSUI; Teil B) und der subjektiven Einschätzung der Verbesserung (IMPQ%; Teil D) mit der Behandlungsdauer (x-Achse; DURT) dargestellt. Keine der 4 Korrelationen ist signifikant.

### 3.3 Entwicklung verschiedener Symptome der CD unter Xeomin®-Therapie

Im folgenden Abschnitt werden alle Patienten (mit zervikaler Dystonie) des zweiten Kollektivs (Kol II; n=34) analysiert. Wie in der Einleitung ausgeführt, leiden die Patienten mit zervikaler Dystonie an einer Reihe von Symptomen. Einige dieser Symptome wie Muskelanspannung und veränderte Kopfposition werden durch die BoNT/A-Therapie direkt beeinflusst, wohingegen andere Symptome wie die Kopfmobilität oder Schmerz nur indirekt beeinflusst werden. Es ist also davon auszugehen, dass verschiedene Symptome unterschiedlich gut auf die BoNT/A-Therapie ansprechen.

Dies wurde mit Hilfe eines einfachen, (selbst entworfenen) Fragebogens untersucht (siehe Anhang). Die Patienten wurden befragt, ob 5 verschiedene Symptome zu Beginn der Xeomin®-Therapie vorhanden waren. In einer zweiten Befragung mussten die Patienten angeben, welche dieser 5 Symptome bei Rekrutierung noch vorhanden waren. Das Ergebnis dieser Befragung ist in Abb. 2 dargestellt.



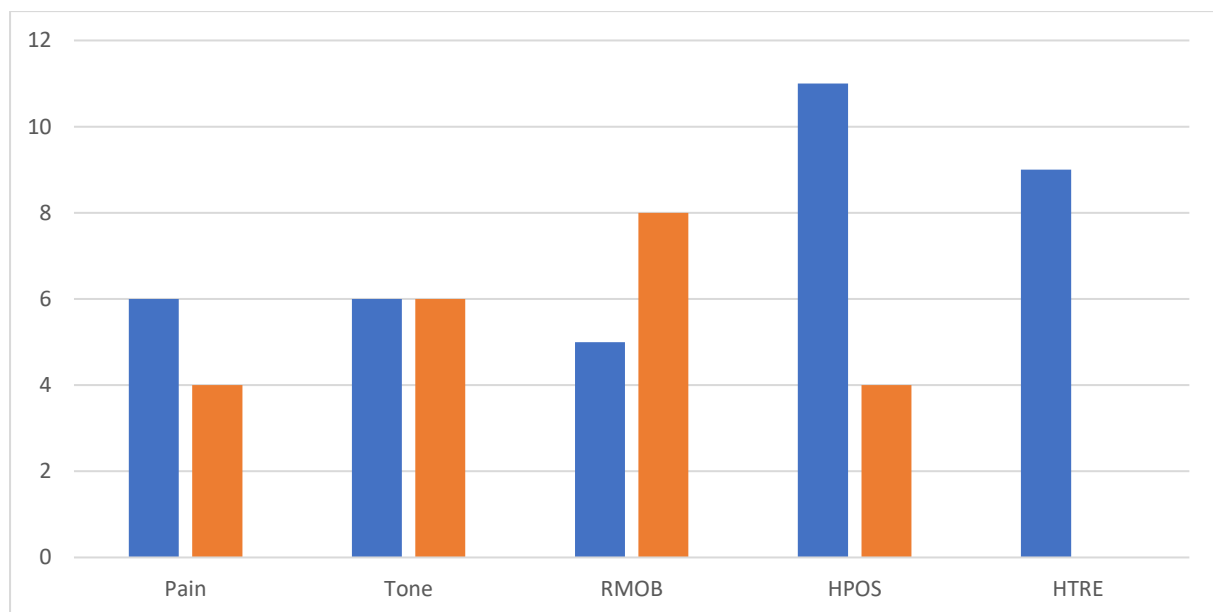
**Abb. 2:** Dargestellt sind die Prävalenzen vor Xeomin®-Therapie (blaue Balken) und nach Xeomin®-Therapie von 5 verschiedenen Symptomen der CD (Pain, Tone, RMOB, HPOS, HTRE; die Erläuterungen dieser Abkürzungen findet sich in den Methoden). In mehr als 50% der Patienten bestand ein Kopftremor oder eine abnorme Kopfposition.

In dem untersuchten Kollektiv bestand vor Xeomin®-Therapie (blaue Balken) bei 20 (=58,8%) Patienten ein Kopftremor (HTRE) und bei 19 (=55,9%) Patienten eine

abnorme Kopfposition (HPOS). Nur 12 (=35,3%) Patienten beklagten eine reduzierte Kopfmobilität (RMOB).

Bei Rekrutierung nach jahrelanger Xeomin®-Therapie (orange Balken) scheint sich nur wenig an der Symptomkonstellation geändert zu haben. Die Prävalenzen von 3 Parametern (Pain, Tone, RMOB) sind nahezu gleich zu den Prävalenzen vor Therapie. Es wäre jedoch eine falsche Schlussfolgerung anzunehmen, dass sich durch die Xeomin®-Therapie fast nichts geändert hätte, da aus den Prävalenzen nicht geschlossen werden kann, dass es sich um dieselben Patienten handelt, die diese Symptome vor und nach Xeomin®-Behandlung aufweisen.

Deshalb wurde in einem zweiten Schritt analysiert, bei wie vielen Patienten ein bestimmtes Symptom nach der Xeomin®-Therapie nicht mehr vorhanden war (blaue Balken in Fig. 3) oder bei wie vielen Patienten es neu aufgetreten war unter der Xeomin®-Therapie (orange Balken in Fig. 3).



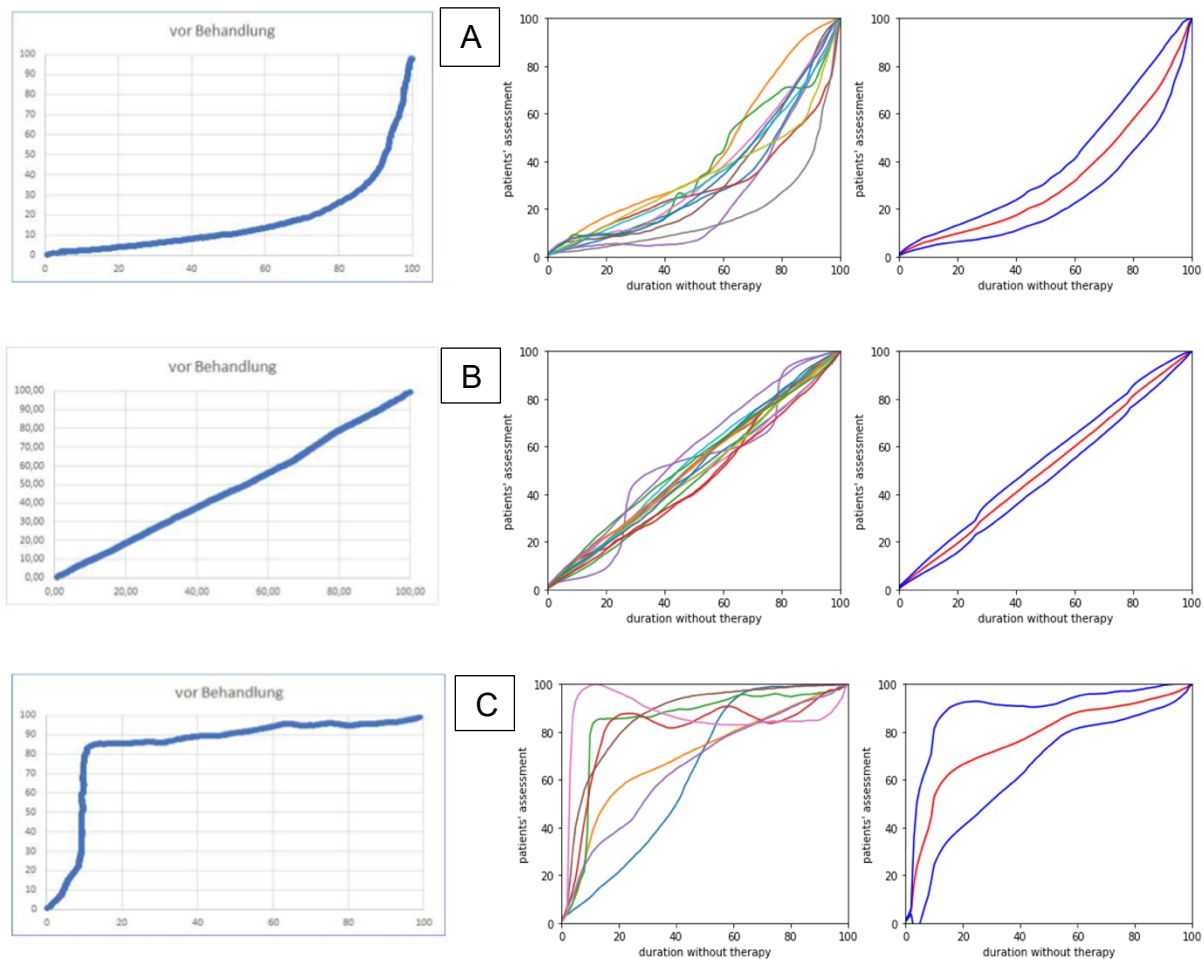
**Abb. 3:** Dargestellt ist die Häufigkeit des Verschwindens unter der Xeomin®-Therapie (blaue Balken) oder des Neuauftretens trotz Xeomin®-Therapie (orange Balken) von 5 verschiedenen Symptomen der CD (Pain, Tone, RMOB, HPOS, HTRE; die Erläuterungen dieser Abkürzungen findet sich in den Methoden). Am häufigsten verschwindet der Kopftremor (HTRE) oder die abnorme Kopfposition (HPOS). Am häufigsten treten eine reduzierte Kopfmobilität (RMOB) oder Verspannungen der Kopf- und Nackenmuskulatur (Tone) neu auf.

Bei 11 (=57,9%) von 19 Patienten verschwand die abnorme Kopfposition (HPOS), bei 9 (=45%) von 20 Patienten der Kopftremor. Die Schmerzen verschwanden bei 6 (=42,9%) von 14 Patienten und die Muskelverspannungen bei 6 (=37,5%) von 16 Patienten. Die reduzierte Kopfmobilität verschwand bei 5 (=41,7%) von 12 Patienten.

Am häufigsten (bei 8 Patienten) trat eine reduzierte Kopfmobilität neu auf. Kein Patient entwickelte unter der Xeomin®-Therapie einen Kopftremor. Diese Analyse zeigt, dass unter der Xeomin®-Therapie erhebliche Veränderungen der Symptomkonstellation im Gesamtkollektiv auftreten.

### **3.4 Auswirkungen der Krankheitsdynamik vor Xeomin-Therapie auf das Langzeitergebnis**

In der Einleitung war erwähnt worden, dass der Schweregrad einer Dystonie, insbesondere der CD, sehr unterschiedlich verlaufen kann. Schomaecker (2021) hatte in ihrer Dissertation erstmals Patienten mit zervikaler Dystonie den Verlauf der Erkrankung vor und nach BoNT/A-Therapie zeichnen lassen, die Zeichnungen digitalisiert und dann die Patienten nach dem Typ des Verlaufes klassifiziert. Die Zeichnungen des Krankheitsschweregrades (course of disease; CoD) vor BoNT-Therapie wurden CoDB-Graphen, die CoD-Zeichnungen nach BoNT-Therapie CoDA-Graphen genannt. („Einfluss des Beschwerdeverlaufes von der Botulinumtoxintherapie zervikaler Dystonien auf das Langzeitergebnis“, Inauguraldissertation Isabelle Schomaecker, Heinrich Heine Universität Düsseldorf, 2022) Diese Methode wurde auch auf das vorliegende Kollektiv I angewandt. Die Abb. 4 stellt geordnet nach 3 Verlaufstypen alle ausgeführten CoDB-Graphen vor.



**Abb. 4:** Dargestellt sind auf der linken Seite typische Einzelverläufe, in der Mitte alle Verläufe dieses Typs im Kollektiv und auf der rechten Seite die Mittelwertkurve eines bestimmten Typs mit dem Bereich der einfachen Standardabweichung von 3 unterschiedlichen Verlaufstypen. Im oberen Teil A sind die Verläufe mit einer verzögerten Verschlechterung (DO; delayed onset) dargestellt, in der Mitte (B) Verläufe mit einer kontinuierlichen Verschlechterung (CO; continuous onset) und im unteren Teil (C) mit einer rapiden initialen Verschlechterung (RO; rapid onset).

Bei einem Schweregradverlauf vom DO-Typ (delayed onset) ist die Krankheit durch eine allmähliche Verschlimmerung im Laufe der Zeit gekennzeichnet, gefolgt von einer raschen Verschlechterung kurz vor Beginn der Behandlung. Diese Art des Verlaufs ist in dem vorliegenden Kollektiv bei einem Drittel der Patienten ( $n=11$ ; 33,3%) zu beobachten (Abb. 4A).

Der Schweregrad beim CO-Typ (continuous onset) ist durch eine kontinuierlich zunehmende Symptomatik nach Beginn der Manifestation ohne wesentliche Krankheitsschübe oder Remissionen bis zum Beginn der BoNT-Therapie gekennzeichnet. Fast die Hälfte der Patienten ( $n=15$ ; 45,5%) zeichnete diesen Verlaufstyp (Abb. 4B).

Bei dem RO-Typ (rapid onset) zeichneten die Patienten eine rasch zunehmende Schwere der Symptomatik und anschließend eine nur noch geringe Zunahme der Symptomatik bis zum Beginn der Therapie. In dem vorliegenden Kollektiv wiesen nur 7 Patienten (=21,2%) diesen Verlaufstyp auf (Abb. 4C).

Um zu analysieren, ob die Krankheitsdynamik auf das Langzeitergebnis einen signifikanten Einfluss hat, wurden die Patienten des KOL I in 3 Untergruppen entsprechend ihres CoDB-Verlaufes eingeteilt (DO-Gruppe: n=11; CO-Gruppe: n=15; RO-Gruppe: n=7).

Es wurde mit einer  $\chi^2$ -Testung die Alters- und Geschlechtsverteilung der 3 CoDB-Verlaufstypgruppen auf Unterschiede geprüft. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in der Alters- oder Geschlechtsverteilung (Tab. 1).

Mit einer 3-Gruppen-ANOVA wurden das Alter und die anderen Parameter der 3 CoDB-Verlaufstyp-Gruppen verglichen. Für 4 Parameter konnte die ANOVA signifikante Unterschiede nachweisen: 3 Dosis-Parameter (IDOSE, ADOSE, BDOSE) und IMPQ. Für den CO-Typ waren die 3 Dosis-Parameter signifikant niedriger als für die anderen Kurvenverläufe. Das ist hochgradig wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass ITSUI in der CO-Gruppe sehr niedrig war. Bei der IMPQ wies der DO-Typ die niedrigsten Werte auf und der RO-Typ die höchsten, was zu den entsprechenden ATSUIs passt.

**Tab.1:** Statistischer Vergleich der demographischen und Behandlungsdaten der 3 Untergruppen klassifiziert nach CoDB-Graphen sowie die Daten des Gesamtkollektivs I

| parameter   |           | RO          | CO          | DO          | ALL           | significance-level (p<...) |
|-------------|-----------|-------------|-------------|-------------|---------------|----------------------------|
| n=          |           | 7           | 15          | 11          | 33            |                            |
| female/male |           | 3/4         | 11/4        | 4/7         | 18/15         | .40; n.s.                  |
| AGE (years) | MV/SD     | 53,9/14,1   | 59,67/13,13 | 60,5/13,1   | 58,72/13,15   | .55; n.s.                  |
|             | MIN - MAX | 28.62-71.58 | 34.76-82.22 | 30.35-81.44 | 28.62 – 82.22 |                            |

|                              |           |                |                |                 |                 |                   |
|------------------------------|-----------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|-------------------|
| AOS<br>(years)               | MV/SD     | 43.4/17.6      | 46.46/14.20    | 51.4/15.0       | 47.57/15.04     | .54; n.s.         |
|                              | MIN - MAX | 15.89-63.01    | 13.18-67.03    | 22.38-73.89     | 13.18-73.89     |                   |
| DURS<br>(years)              | MV/SD     | 5.6/11.6       | 6.09/9.03      | 3.5/4.4         | 5.17/8.08       | .73; n.s.         |
|                              | MIN - MAX | 0.00-28.00     | 0.36-28.00     | 0.12-16.00      | 0.00-16.00      |                   |
| DURT<br>(years)              | MV/SD     | 5.28/1.79      | 7.00/2.47      | 6.00/2.00       | 6.36/2.11       | .14 n.s.          |
|                              | MIN - MAX | 4.00-9.00      | 4.00-11.00     | 4.00-9.00       | 4.00-11.00      |                   |
| IDOSE<br>(uDU)               | MV/SD     | 202.86/69.63   | 105.50/71.95   | 218.64/58.66    | 163.86/84.91    | <b>p&lt;.0004</b> |
|                              | MIN - MAX | 100.00-300.00  | 30.00-230.00   | 80.00 – 300.00  | 30.00-300.00    |                   |
| ADOSE<br>(uDU)               | MV/SD     | 314.29/69.01   | 198.67/108.31  | 309.55/100.56   | 260.15/111.52   | <b>p&lt;.011</b>  |
|                              | MIN - MAX | 200.00-400.00  | 35.00 – 400.00 | 160.00 – 500.00 | 35.00– 500.00   |                   |
| INDOSE<br>(uDU)              | MV/SD     | 111.43/23.22   | 93.17/77.91    | 90.91/99.64     | 96.29/76.97     | .85; n.s.         |
|                              | MIN – MAX | 80.00-150.00   | 0.00 – 300.00  | -40.00 – 260.00 | -40.00 – 300.00 |                   |
| ITSUI                        | MV/SD     | 9.67/3.67      | 5.57/2.15      | 7.75/2.96       | 7.57/3.25       | .07; n.s.         |
|                              | MIN – MAX | 6.00-16.00     | 4.00 – 10.00   | 4.00 - 12.00    | 4.00-16.00      |                   |
| ATSUI                        | MV/SD     | 3.00/1.55      | 3.75/1.67      | 5.00/4.42       | 4.4/2.6         | .45; n.s.         |
|                              | MIN – MAX | 1.00 – 5.00    | 2.00 – 7.00    | 0.00 – 12.00    | 0.00 – 12.00    |                   |
| IMPTSUI                      | MV/SD     | 6.67/3.88      | 1.86/2.73      | 3.63/5.13       | 3.90/4.36       | .14; n.s.         |
|                              | MIN – MAX | 1.00 – 12.00   | -1.00 – 7.00   | -4.00 – 12.00   | -4.00 – 12.00   |                   |
| IMPQ                         | MV/SD     | 77.86/8.09     | 73.73/16.07    | 57.00/23.24     | 69.41/19.00     | <b>p&lt;.04</b>   |
|                              | MIN – MAX | 65.00 -  90.00 | 40.00-96.00    | 0.00– 90.00     | 0.00-96.00      |                   |
| IMPD                         | MV/SD     | 73.54/21.88    | 71.44/15.78    | 64.58/19.57     | 69.60/18.22     | .53; n.s.         |
|                              | MIN - MAX | 29.60-100.00   | 35.20– 88.00   | 33.8 – 98.60    | 29.60-100.00    |                   |
| Best<br>Dose<br>in (MU)      | MV/SD     | 274.29/95.54   | 185.00/70.91   | 301.67/73.40    | 249.42/92.42    | <b>p&lt;.01</b>   |
|                              | MIN-MAX   | 170.00-400.00  | 60.00-300.00   | 200.00-400.00   | 60.00-400.00    |                   |
| Best<br>TSUI                 | MV/SD     | 1.86/1.68      | 0.89/1.17      | 1.78/1.79       | 1.48/1.56       | .38; n.s.         |
|                              | MIN-MAX   | 0.00-4.00      | 0.00-3.00      | 0.00-5.00       | 0.00-5.00       |                   |
| Time of<br>paralysis<br>2017 | MV/SD     | 48.86/3.13     | 48.54/3.55     | 46.00/2.49      | 47.71/3.28      | .09; n.s.         |
|                              | MIN-MAX   | 44.00-52.00    | 43.00-55.00    | 41.00-51.00     | 41.00-55.00     |                   |

**Tab. 1:** Mit Hilfe einer 3-Gruppen-ANOVA (außer Spalte „AGE“, wo eine  $\chi^2$ -Testung durchgeführt wurde) wird verglichen, ob für die in der linken Spalte aufgeführten Parameter sich signifikante Unterschiede zwischen den 3 verschiedenen Untergruppen (RO-, CO-, DO-Gruppe) des Kollektivs ergeben. Die für die Parameter benutzten Abkürzungen in der ganz linken Spalte werden in den Methoden erläutert. Das Signifikanzniveau des Vergleiches findet sich in der ganz rechten Spalte. Die Spalte „Alle“ präsentiert die Daten des Gesamtkollektivs. w=weiblich, m=männlich, MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, n.s.=nicht signifikant.

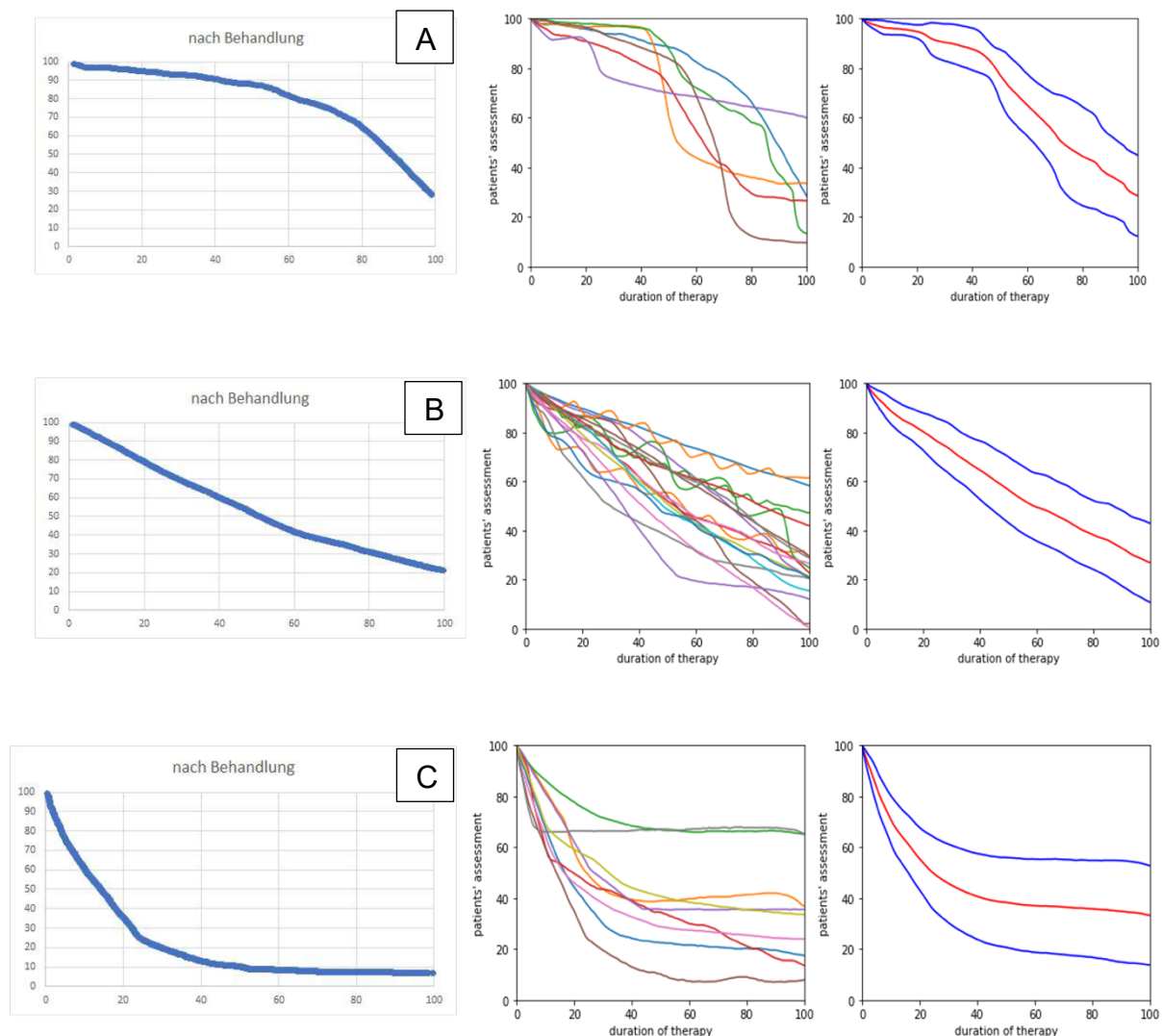
### **3.5 Beschreibung der Krankheitsdynamik während der Xeomin®-Therapie**

Auch nach dem Behandlungsbeginn mit BoNT/A weisen die Zeichnungen der Patienten sehr unterschiedliche Verläufe des Schweregrades auf (CoDA-Graphen). Schomaecker hatte in ihrer Dissertation 5 verschiedene Verlaufstypen unterschieden, von denen aber in dem vorliegenden Kollektiv nur 3 beobachtet wurden. Warum zwei Typen nicht auftraten, wird in dem Abschnitt 3.7 erläutert.

Bei einem Schweregradverlauf vom DR-Typ (delayed response) persistiert zunächst die Schwere der Krankheit noch eine Zeit lang. Dann setzt aber eine deutliche Besserung ein. Diese Art des Verlaufs nach Xeomin®-Therapie ist in dem vorliegenden Kollektiv bei 6 Patienten (=18,2%) zu beobachten gewesen (Abb. 5A).

Der Schweregrad beim CR-Typ (continuous response) bessert sich kontinuierlich nach Beginn der Xeomin®-Therapie ohne wesentliche Krankheitsschübe oder Remissionen bis zur Rekrutierung. Mehr als die Hälfte der Patienten (n=18; 54,5%) zeichnete diesen Verlaufstyp nach Beginn der Xeomin®-Therapie (Abb. 5B).

Bei dem RR-Typ (rapid onset) zeichneten die Patienten eine rasch abnehmende Schwere der Symptomatik nach Beginn der Xeomin®-Therapie und anschließend eine nur noch geringe Zunahme der Verbesserung. In dem vorliegenden Kollektiv wiesen nur 9 Patienten (=27,3%) diesen Verlaufstyp auf (Abb. 5C).



**Abb. 5:** Dargestellt sind auf der linken Seite typische Einzelverläufe, in der Mitte alle Verläufe dieses Typs im Kollektiv und auf der rechten Seite die Mittelwertkurve eines bestimmten Typs mit dem Bereich der einfachen Standardabweichung von 3 unterschiedlichen Verlaufstypen. Im oberen Teil A sind die Verläufe mit einem verzögerten Ansprechen (DR; delayed response) dargestellt, in der Mitte (B) Verläufe mit einer kontinuierlichen Verbesserung (CR; continuous response) und im unteren Teil (C) mit einer rapiden initialen Verbesserung (RR; rapid response).

Um zu analysieren, ob die Krankheitsdynamik nach dem Beginn der Xeomin®-Therapie auf das Langzeitergebnis einen signifikanten Einfluss hat, wurden die Patienten in 3 Untergruppen entsprechend ihres CoDA-Verlaufes eingeteilt (DR-Gruppe: n=6; CR-Gruppe: n=18; RR-Gruppe: n=9).

Wie in Tab. 2 zu sehen, überwogen in der RR-Gruppe die männlichen Patienten, wohingegen in der CR- und DR-Gruppe die weiblichen Patienten. Mit einer  $\chi^2$ -Testung wurde die Geschlechtsverteilung der 3 CoDA-Verlaufstypgruppen auf Unterschiede geprüft. Der p-Wert lag über dem Signifikanzniveau von 0,05, so dass die Testung formal nicht signifikant genannt werden kann. Aber die Unterschiede in

der Geschlechtsverteilung in den einzelnen Response-Untergruppen sind schon offensichtlich.

**Tab.2:** Statistischer Vergleich der demographischen und Behandlungsdaten der 3 Untergruppen klassifiziert nach CoDA-Graphen sowie die Daten des Gesamtkollektivs I

| parameter       |           | RR           | CR              | DR            | ALL            | significance<br>-level p < |
|-----------------|-----------|--------------|-----------------|---------------|----------------|----------------------------|
| n=              |           | 9            | 18              | 6             | 33             |                            |
| female/male     |           | 2/7          | 12/6            | 4/2           | 18/15          | .31; n.s.                  |
| AGE<br>(years)  | MV/SD     | 60.0/11.32   | 55.27/14.09     | 67.17/9.79    | 58.72/13.15    | .15; n.s.                  |
|                 | MIN - MAX | 44.87-76.57  | 28.62-81.44     | 56.1-82.22    | 28.62 – 82.22  |                            |
| AOS<br>(years)  | MV/SD     | 47.56/17.63  | 45.94/15.72     | 52.5/8.41     | 47.57/15.03    | .67 n.s.                   |
|                 | MIN - MAX | 13.18-64.93  | 15.89-72.89     | 41.75-67.30   | 13.18-72.89    |                            |
| DURS<br>(years) | MV/SD     | 7.35/9.40    | 3.74/6.34       | 6.15/10.08    | 5.10/7.99      | .55; n.s.                  |
|                 | MIN - MAX | 0.67-26.97   | 0.10-28.23      | 0.50-28.62    | 0.10-28.62     |                            |
| DURT<br>(years) | MV/SD     | 6.23/1.94    | 3.74/1.77       | 7.80/3.00     | 6.36/2.16      | .21; n.s.                  |
|                 | MIN - MAX | 4.30-9.204   | 4.00-10.4       | 3.80-11.90    | 3.80-11.90     |                            |
| IDOSE<br>(uDU)  | MV/SD     | 140.83/92.94 | 186.11/76.50    | 131.67/91.91  | 163.86/84.91   | .26 n.s.                   |
|                 | MIN - MAX | 30.00-300.00 | 30.00-300.00    | 35.00-275.00  | 30.00 – 300.00 |                            |
| ADOSE<br>(uDU)  | MV/SD     | 215.0/130.0  | 286. 4/89.53    | 249.17/137.86 | 260.15/111.6   | .29; n.s.                  |
|                 | MIN - MAX | 35.00-400.00 | 100.00 – 500.00 | 80.00-400.00  | 35.00 – 500.00 |                            |
| INDOSE<br>(uDU) | MV/SD     | 74,17/70,47  | 100,27/72,52    | 117,5/102,99  | 163.9/84.9     | .55 n.s.                   |
|                 | MIN – MAX | 0.00-200.00  | -40.00-260.00   | 0.00-300.00   | -40.00– 300.00 |                            |
| ITSUI           | MV/SD     | 6,20/2,28    | 7.54/2.75       | 10.0/6.0      | 7.6/3.25       | .29; n.s.                  |
|                 | MIN – MAX | 4.00 – 9.00  | 4.00 – 12.00    | 4.00 – 16.00  | 4.00 – 16.00   |                            |
| ATSUI           | MV/SD     | 4.00/2.12    | 3.77/3.06       | 2.67/1.15     | 3.96/2.99      | .78; n.s.                  |
|                 | MIN – MAX | 2.00 – 7.00  | 0.00 – 12.00    | 2.00-4.00     | 0.00 – 12.00   |                            |
| IMPTSUI         | MV/SD     | 1.25/3.49    | 3.77/4,7        | 7.33/5.03     | 3.9/4.36       | .14; n.s.                  |
|                 | MIN – MAX | 1.00 – 2.00  | -4.00 – 12.00   | 2.00-12.00    | -4.00 – 12.00  |                            |
| IMPQ            | MV/SD     | 70.11/29.9   | 67.06/11.18     | 75.0/18,71    | 69.4/18.99     | .69; n.s.                  |
|                 | MIN – MAX | 60.00-96.00  | 0.00 – 80.00    | 40.00-90.00   | 0.00 – 96.00   |                            |
| IMPD            | MV/SD     | 67.61        | 70.52/16.44     | 69.82 /19.49  | 69.6/18.22     | .93; n.s.                  |

|                        |           |               |               |               |               |           |
|------------------------|-----------|---------------|---------------|---------------|---------------|-----------|
|                        | MIN - MAX | 29.60-91.50   | 33.80 –100.00 | 35.20-88.00   | 29.6 – 100.00 |           |
| BEST DOSE in (MU)      | MV/SD     | 218.57/106.53 | 246.79/88.1   | 257.50/117.86 | 260.15/111.6  | .77; n.s. |
|                        | MIN-MAX   | 60.00-400.00  | 100.00-400.00 | 130.00-400.00 | 60.00-400.00  |           |
| BEST TSUI              | MV/SD     | 1.43/1.81     | 1.26/1.49     | 2.67/1.15     | 1.68/1.8      | .38; n.s. |
|                        | MIN-MAX   | 0.00-5.00     | 0.00-4.00     | 0.00-4-00     | 0.00-5.00     |           |
| Time of paralysis 2017 | MV/SD     | 48.56/3.32    | 47.7/3.41     | 46.20/2.77    | 47.71/3.28    | .45 n.s.  |
|                        | MIN-MAX   | 44.00-55.00   | 41.00-52.00   | 44.00-51.00   | 41.00-55.00   |           |

**Table 2:** demographical and treatment related data and outcome measures in the four RR-, CR-, DR-and STF-subgroups and the entire cohort

**Tab. 2:** Mit Hilfe einer 3-Gruppen-ANOVA wird verglichen (außer Spalte „AGE“, wo eine chi<sup>2</sup>-Testung durchgeführt wurde), ob für die in der linken Spalte aufgeführten Parameter sich signifikante Unterschiede zwischen den 3 verschiedenen Untergruppen (RR-, CR-, DR-Gruppe) des Kollektivs ergeben. Die für die Parameter benutzten Abkürzungen in der ganz linken Spalte werden in den Methoden erläutert. Das Signifikanzniveau des Vergleiches findet sich in der ganz rechten Spalte. Die Spalte „Alle“ präsentiert die Daten des Gesamtkollektivs. w=weiblich, m=männlich, MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, n.s.=nicht signifikant.

Für keinen der 15 Parameter, die in Tab. 2 in der ganz linken Spalte aufgeführt sind, konnte mit einer 3-Gruppen-ANOVA ein signifikanter Gruppenunterschied (vergl. ganz rechte Spalte in Tab. 2) nachgewiesen werden.

Der niedrigste p-Wert von 0,14 fand sich für IMPTSUI. Der Grund dafür liegt einerseits an dem niedrigen mittleren initialen Schweregrad von 6,2 in der RR-Gruppe, zu dessen Behandlung eine niedrige mittlere initiale Dosis von 141 U verwandt wurde, die nur um 74 U im Verlauf der Behandlung gesteigert wurde, so dass schließlich ein mittlerer aktueller TSUI-score von 4,00 und eine niedrige Besserung um 36,3% resultierte. Andererseits war der mittlere initiale Schweregrad in der DR-Gruppe mit 10,0 überdurchschnittlich hoch, zu dessen Behandlung initial ebenfalls eine niedrige mittlere Dosis von 132 U verwandt wurde, die aber im Verlauf um 118 U deutlich gesteigert wurde, so dass schließlich ein mittlerer aktueller TSUI-Score von 2,67 und eine Besserung um 73,3% resultierte.

### 3.6 Korrelationsanalyse

Die Korrelationsanalyse für die Variablen der Gesamtkohorte ist in Tab. 3 dargestellt. Im oberen Teil von Tab. 3 finden sich die Rang-Korrelationskoeffizienten, in dem unteren Teil von Tab. 3 die entsprechenden p-Werte. Im Folgenden sollen nur einige der signifikanten Korrelationen besprochen werden.

Je früher die Symptome auftraten, desto länger war die Zeit bis zur Behandlung (AOS/DURS:  $r=-0,519$ ;  $p<0,01$ ).

Konsistent findet sich eine signifikante Korrelation zwischen dem Schweregrad und der verwendeten Dosis (ITSUI/IDOSE:  $r=0,614$ ;  $p<0,0031$ ; BTSUI/BDOSE:  $r=0,658$ ;  $p<0,003$ ; ATSUI/ADOSE:  $r=0,410$ ;  $p<0,049$ ). Die initiale Dosis (IDOSE) korrelierte hochsignifikant mit der aktuellen Dosis bei Rekrutierung (IDOSE/ADOSE:  $r=0,725$ ;  $p<0,0011$ ). Bemerkenswert ist die Korrelation der Verbesserung, die die behandelnden Ärzte mit Hilfe der TSUI-Skala feststellen (IMPTSUI) und der geschätzten Verbesserung durch die Patienten im Fragebogen (IMPQ) (IMPTSUI/IMPQ:  $r=0,443$ ;  $p<0,04$ ).

Bemerkenswert ist auch, dass alle demographischen Parameter (AGE, AOS, DURS, DURT) mit keinem der Behandlungsparameter korrelierten (vergl. die 4 linken Spalten in Tab. 3). Die Paralysezeit korrelierte weder mit demographischen noch mit Behandlungsparametern, also mit keinem Parameter.

**Tab. 3:** Korrelationen zwischen Alters- und Behandlungsdaten

|         | AGE  | AOS  | DURS  | DURT | IDOSE | ADOSE  | INDOSE | ITSUI  | ATSUI | IMPQ   | IMPD  | IMPTSUI | BDOSE | BTSUI | TPAR  |
|---------|------|------|-------|------|-------|--------|--------|--------|-------|--------|-------|---------|-------|-------|-------|
| AGE     | .    | .829 | -.100 | .130 | -.050 | -.120  | -.120  | -.160  | .180  | -.080  | -.150 | -.240   | .040  | .300  | -.020 |
| AOS     | .001 | .    | -.519 | .010 | -.090 | -.020  | .070   | -.030  | .290  | -.170  | -.320 | -.020   | .290  | .250  | .040  |
| DURS    | .    | .010 | .     | .120 | -.200 | -.190  | -.050  | -.210  | .009  | .150   | .090  | -.180   | -.320 | .140  | -.230 |
| DURT    | .    | .    | .     | .    | -.270 | -.100  | .160   | -.230  | -.110 | -.170  | .020  | -.100   | -.270 | -.280 | -.280 |
| IDOSE   | .    | .    | .     | .    | .     | .725   | -.050  | .614   | .270  | -.340  | -.040 | .300    | .792  | .560  | -.150 |
| ADOSE   | .    | .    | .     | .    | .0001 | .      | .650   | .720   | .410  | -.310  | -.040 | .430    | .808  | .465  | -.140 |
| INDOSE  | .    | .    | .     | .    | .     | .00004 | .      | .260   | .260  | -.090  | .009  | .220    | .260  | .060  | -.040 |
| ITSUI   | .    | .    | .     | .    | .0031 | .0031  | .      | .      | -.090 | .130   | .150  | .802    | .718  | .340  | -.120 |
| ATSUI   | .    | .    | .     | .    | .     | .0490  | .      | .      | .     | -.280  | -.541 | -.670   | .410  | .475  | -.340 |
| IMPQ    | .    | .    | .     | .    | .     | .      | .      | .      | .     | .      | .646  | .230    | -.160 | .040  | .220  |
| IMPD    | .    | .    | .     | .    | .     | .      | .      | .      | .010  | .00007 | .     | .443    | -.090 | .040  | .220  |
| IMPTSUI | .    | .    | .     | .    | .     | .      | .      | .00001 | .0009 | .      | .040  | .       | .370  | .040  | .110  |
| BDOSE   | .    | .    | .     | .    | .0003 | .0001  | .      | .0002  | .     | .      | .     | .       | .     | .658  | -.070 |
| BTSUI   | .    | .    | .     | .    | .0036 | .020   | .      | .      | .020  | .      | .     | .       | .0003 | .     | -.120 |
| TPAR    | .    | .    | .     | .    | .     | .      | .      | .      | .     | .      | .     | .       | .     | .     | .     |

**Tab. 3:** Rang-Korrelationskoeffizienten von 15 erhobenen Parametern untereinander sind oberhalb der Diagonalen dargestellt. Von den Korrelationskoeffizienten, die signifikant von 0 verschieden sind, sind unterhalb der Diagonalen die Signifikanzniveaus angegeben. Die Abkürzungen der 15 Parameter sind in den Methoden erläutert worden.

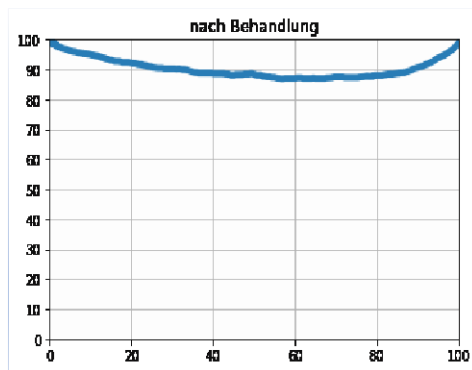
### **3.7 Keine Antikörperentwicklung und kein sekundäres Therapieversagen unter Xeomin®-Therapie**

Das Vorliegen eines nachweisbaren Antikörpertiters wurde mit Hilfe des sensitiven Maushemidiaphragma-Tests (MHDA) untersucht, der von der Firma Toxigen® in Hannover durchgeführt wird.

Dabei wird eine Hälfte eines isolierten Mauszwerchfells in einen Kraftaufnehmer in einem Präparatebad eingespannt und über den bei der Präparation erhaltenen Nervus phrenicus stimuliert. Durch Zugabe von Botulinumtoxin in das Bad nehmen die Kontraktionen zunehmend an Amplitude ab. Die Zeit bis zum Erreichen der halben Maximalkraft wird Paralysezeit genannt. Wird Patientenblut vor der Botulinumtoxinzugabe in das Präparatebad eingebracht, wird abhängig von dem Antikörpertiter die Wirkung von Botulinumtoxin abgeschwächt und die Paralysezeit verlängert. Eine Paralysezeit von 60 Minuten markiert den oberen Normbereich.

Von den 33 eingesandten Seren des Kollektivs I wies kein Patient eine Paralysezeit von mehr als 60 Minuten auf. **Damit waren alle Patienten als antikörpernegativ einzustufen.**

Im Folgenden soll das Problem des primären und sekundären Therapieversagens analysiert werden. Schomaecker (2021) hatte in einem Kollektiv von 66 Patienten mit zervikaler Dystonie 12 CoDA-Graphen von Patienten entdeckt, die eine Verbesserung von weniger als 20% gezeichnet hatten. Diese Patienten wiesen also ein primäres Therapieversagen (primary non-response, PNR) auf. Ferner fanden sich in ihrem Kollektiv 17 Patienten, die nach einer deutlichen initialen Verbesserung eine sekundäre Verschlechterung aufwiesen. Ein Beispiel für einen Patienten aus dem in Abschnitt 3.8 vorgestellten Kollektiv, der sowohl ein primäres als auch ein sekundäres Therapieversagen aufwies, ist in Abb. 6 gezeigt.



**Abb. 6:** Dargestellt ist ein CoDA-Graph mit einem Verlaufstyp, der in dem untersuchten Kollektiv I nicht gezeichnet wurde mit einem Ansprechen von weniger als 20% (primäres Therapieversagen) und zusätzlich noch mit einer deutlichen Verschlechterungstendenz (sekundäres Therapieversagen) am Ende des Therapieverlaufes. Diese Zeichnung wurde dem Kollektiv entnommen, das in Abschnitt 3.8 vorgestellt wird.

Kein Patient aus dem hier untersuchten Kollektiv I zeichnete einen CoDA-Graphen, der eine geringere Verbesserung als 20% zeigte. **Damit wies kein Patient ein primäres Therapieversagen auf.**

Mit einer Inzidenz von mehr als einem Prozent tritt bei einer Behandlung mit einem komplexhaltigen BoNT/A-Präparat ein sekundäres Therapieversagen auf (Hefter et al. 2022a). Aber kein Patient unter Xeomin®-Mono-Therapie zeichnete eine deutliche Verschlechterung nach anfänglicher Besserung. **Damit wies auch kein Patient ein sekundäres Therapieversagen auf.**

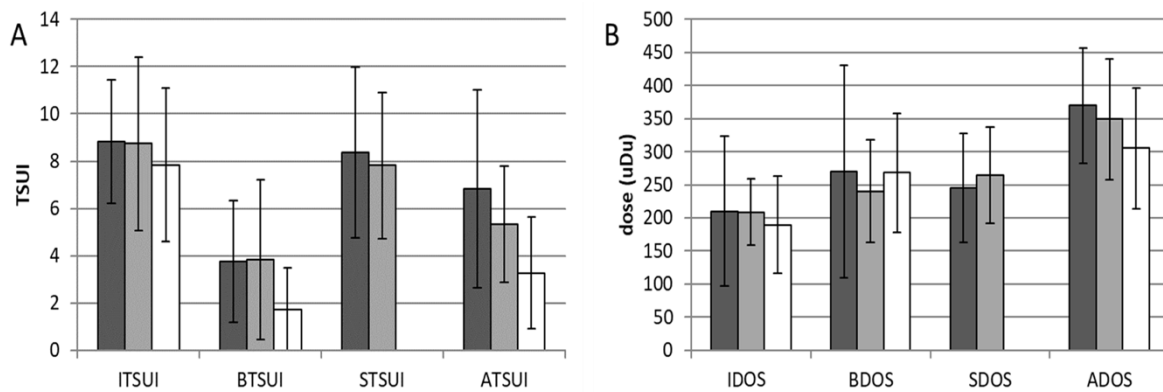
### **3.8 Vergleich von CD-Patienten, die nur mit Xeomin® behandelt wurden, und einem Kollektiv von Patienten, die vor der Umstellung auf Xeomin® mit einem komplexhaltigen BoNT-Präparat behandelt wurden und ein sekundäres Therapieversagen entwickelten**

Von den 34 eingeschlossenen Patienten des zweiten Kollektivs (Kol II), das nur aus Patienten mit einer zervikalen Dystonie bestand, die nur mit Xeomin® behandelt wurden, waren 19 weiblich und 15 männlich. Das Verhältnis Frauen/Männer betrug also 1,3:1. Das Alter bei Beginn der Symptomatik betrug im Mittel 51,0 Jahre mit einer Standardabweichung von 12,2 Jahren. Der initiale Schweregrad (ITSUI) betrug im Mittel 7,8 mit einer Standardabweichung von 3,3. Die initiale Dosis (IDOSE) betrug im Mittel 189 uDU mit einer Standardabweichung von 73 uDU. Die Behandlungsdauer (DURT) betrug im Mittel 6,3 Jahre mit einer Standardabweichung von 2,3 Jahren. Die

Dosis bei Rekrutierung (ADOSE) betrug 305 uDU mit einer Standardabweichung von 91 uDU. Während der Behandlung verbesserte sich der Schweregrad der Erkrankung von 7,8 auf 3,3 also um 57,7%. Wenn die Patienten nach der Verbesserung gefragt wurden (IMPQ), gaben sie im Mittel eine Verbesserung um 70,2% mit einer Standardabweichung von 22,0% an. Der beste TSUI-Wert betrug im Mittel 1,7 mit einer Standardabweichung von 1,8. Die mittlere Dosis, die zum Zeitpunkt des besten TSUI-Wertes verabreicht wurde, betrug im Mittel 267 uDU mit einer Standardabweichung von 90 uDU. Die Dauer bis zum Erreichen des besten TSUI-Scores betrug im Mittel 2,5 Jahre mit einer Standardabweichung von 1,9 Jahren. **Damit unterscheiden sich die Behandlungsdaten des Kollektivs I nicht wesentlich von denen des Kollektivs II.**

Die Daten des KOL II (im Folgenden auch XEO-Mono-Gruppe genannt) wurden mit den Daten von 59 CD-Patienten verglichen, die zunächst mit ONA-BoNT/A (n=11) oder mit ABO-BoNT/A (n=48) behandelt worden waren, darunter ein sekundäres Therapieversagen entwickelt hatten und auf Xeomin® umgestellt wurden (im Folgenden SWI-Gruppe genannt). Weder das Alter bei Beginn der Symptomatik noch die Geschlechtsverteilung waren in der XEO-Mono- und SWI-Gruppe unterschiedlich. Das Verhältnis von Frauen zu Männern lag bei 1,6 und unterschied sich nicht zu dem in der XEO-Mono-Gruppe.

In der SWI-Gruppe wurde die BoNT/A-Therapie mit einem Durchschnittsalter von  $46,8 \pm 12,6$  Jahren begonnen. Nach den Ergebnissen des Vergleiches von ITSUI (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung:  $8,8 \pm 3,4$ ) und den besten TSUI-Werten (BTSUI) ( $4,0 \pm 3,3$ ) wurde in der SWI-Gruppe zu Beginn der BoNT/A-Behandlung eine deutliche Besserung beobachtet. Die BTSUI-Werte waren signifikant niedriger ( $p < 0.001$ ) als die ITSUI-Werte (vergl. Abb. 7 und Tab. 4).



**Abb. 7:** Vergleich der Beurteilung des Schweregrades der CD (in Teil A) und der assoziierten BoNT/A-Dosen (in Teil B) zu vier verschiedenen Zeitpunkten zwischen der ONA-Gruppe (dunkelgraue Balken), der ABO-Gruppe (hellgraue Balken) und der XEO-Mono-Gruppe (weiße Balken). Da die Patienten in der XEO-Mono-gruppe nicht umgestellt wurden, konnte kein STUI und SDOS erhoben werden. Die BTSUI-Werte waren in allen 3 Gruppen signifikant niedriger als die ITSUI-Werte (Teil A). Die BTSUI-Werte der XEO-Mono-Gruppe waren signifikant niedriger als die der ABO-Gruppe. Die STUI-Werte waren signifikant schlechter als die BTSUI-Werte, aber nicht unterschiedlich zu den ITSUI-Werten. In allen 3 Gruppen waren die ATSUI-Werte signifikant niedriger als die ITSUI-Werte und in der ONA- und ABO-Gruppe auch zu den STSUI-Werten. ATSUI in der XEO-Mono-Gruppe war signifikant niedriger als in der ONA- und ABO-Gruppe. Bei den Dosisvergleichen (Teil B) ergab sich kein signifikanter Unterschied.

Die besten TSUI-Werte wurden im Mittel nach  $3,7 \pm 3,6$  Jahren (TTB) beobachtet. Nach Erreichen des besten TSUI-Wertes trat bei den Mitgliedern der SWI-Gruppe nach einem unterschiedlich langen Zeitraum (TTS) eine sekundäre signifikante ( $p < 0,001$ ) Verschlechterung auf, was sich aus dem Vergleich von BTSUI und STSUI ergibt.

Wegen dieses sekundären Therapieversagens (SNR=secondary non-response) erfolgte die Umstellung der Patienten auf das Präparat Xeomin® nach durchschnittlich  $7,7 \pm 5,3$  Jahren (TTS). Bemerkenswert ist, dass der mittlere TSUI-Wert (STSUI) zum Zeitpunkt der Umstellung  $8,32 \pm 3,43$  betrug, ein Wert, der sich nicht signifikant vom ITSUI-Wert zum Zeitpunkt der BoNT/A-Therapie-Initiierung unterschied. Die Symptomatik der CD bei den Patienten in der SWI-Gruppe waren also nach 7,7 Jahren fast so stark ausgeprägt wie zu Beginn der BoNT/A-Therapie.

In der SWI-Gruppe wurden die Patienten durchschnittlich  $7,6 \pm 3,1$  Jahre lang mit incoBoNT/A behandelt.

Das ist deutlich länger als bei den Patienten in der XEO-Mono-Gruppe. Es gab einen signifikanten Unterschied ( $p < 0.001$ ) zwischen dem TSUI-Score zum Zeitpunkt der

Umstellung (STSUI) und dem TSUI-Score am Tag der Rekrutierung (ATSUI). Die Umstellung auf Xeomin® hat also für die Patienten in der SWI-Gruppe eine signifikante Verbesserung gebracht. Die rm-ANOVA zeigte einen signifikanten Unterschied zwischen den wiederholten Messungen ( $F=26,0$ ;  $p<0.001$ ), also zwischen den TSUI-Werten (ITSUI vs. BTSUI; BTSUI vs. STSUI; STSUI vs. ATSUI).

Aber der Schweregrad in der ONA- oder ABO-Gruppe war bei Rekrutierung (ATSUI) signifikant schlechter (vergl. die Zeile ATSUI in Tab. 4) als in der XEO-Mono-Gruppe, obwohl die Patienten in der SWI-Gruppe mindestens genauso lange mit incoBoNT/A behandelt worden waren wie in der XEO-Mono-Gruppe. Die Besserung des TSUI-Scores nach Umstellung auf incoBoNT/A betrug im Mittel in der ONA-Gruppe 1,5 und in der ABO-Gruppe 2,5. Dennoch gaben die Patienten in der ONA-Gruppe im Mittel einen Behandlungserfolg von 52,3% und in der ABO-Gruppe nur von 39,6% an. Der Behandlungserfolg in der ONA- und ABO-Untergruppe war im Vergleich zur XEO-Mono-Gruppe (70,2%) signifikant niedriger (vergl. Tab. 4).

**Tab. 4:** Vergleich der Behandlungsdaten der ONA-, ABO- und XEO-Mono-Untergruppen (T-Test)

| Parameter            | ONA group        | ABO group          | XEO-Mono Group   | p-value ONA/ABO | p-value ONA/XEO | p-value ABO/XEO |
|----------------------|------------------|--------------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| n=                   | 11               | 48                 | 34               |                 |                 |                 |
| NAB-pos              | 1 (9.1%)         | 14 (29.1%)         | 0 (0%)           | n.s.            | n.s.            | 0.05            |
| female/male          | 6/5              | 31/17              | 19/15            | n.s.            | n.s.            | n.s.            |
| age at onset (years) | 44.93/8.01       | 47.25/13.69        | 50.98/12.19      | n.s.            | n.s.            | n.s.            |
| ITSUI                | 8.83/2.61        | 8.74/3.67          | 7.84/3.25        | n.s.            | n.s.            | n.s.            |
| IDOS (U)             | 210/113 (Botox®) | 620/150 (Dysport®) | 189/73 (Xeomin®) | n.s.            | n.s.            | n.s.            |
| BTSUI                | 3.75/2.59        | 3.83/3.36          | 1.71/1.77        | n.s.            | n.s.            | 0.005           |
| BDOS (U)             | 321/229 (Botox®) | 843/697 (Dysport®) | 267/90 (Xeomin®) | n.s.            | n.s.            | n.s.            |
| TTB (days)           | 1085/739         | 1354/1362          | 920/679          | n.s.            | n.s.            | n.s.            |
| STSUI                | 8.36/3.60        | 7.82/3.09          | n.a.             | n.s.            | n.a.            | n.a.            |
| SDOS (uDU)           | 245/82 (Xeomin®) | 265/73 (Xeomin®)   | n.a.             | n.s.            | n.a.            | n.a.            |
| TTS (days)           | 2639/1540        | 2849/2015          | n.a.             | n.s.            | n.a.            | n.a.            |
| ATSUI                | 6.82/4.20        | 5.32/2.46          | 3.27/2.35        | n.s.            | 0.001           | 0.008           |
| ADOS (uDU)           | 370/87 (Xeomin®) | 349/92 (Xeomin®)   | 305/91 (Xeomin®) | n.s.            | n.s.            | n.s.            |
| DUR (days)           | 3150/984         | 2604/1113          | 2283/844         | n.s.            | 0.005           | n.s.            |
| IMPQ(%)              | 52.3/25.6        | 39.6/37.7          | 70.2/22          | n.s.            | 0.05            | 0.001           |

**Tab. 4:** Eine Gruppe von 11 Patienten mit sekundärem Therapieversagen, ONA-Vorbehandlung und Umstellung auf Xeomin® wird verglichen einerseits mit einem Kollektiv von 48 Patienten mit sekundärem Therapieversagen, ABO-Vorbehandlung und Umstellung auf Xeomin® und andererseits mit 34 Patienten, die nur mit Xeomin® behandelt wurden. Die verglichenen Parameter sind in den Methoden erläutert worden. Die Signifikanzniveaus der 3-Vergleiche finden sich in den 3 rechten Spalten.

Bei keinem der Patienten in der XEO-Mono-Gruppe konnten auf der Grundlage des MHDA-Tests NABs festgestellt werden. In der ONA-Gruppe fand sich 1 Patient (=9.1%) mit einem positiven MHDA-Test, in der ABO-Gruppe fanden sich 14 Patienten (=29.1%) mit einem positiven MHDA. Die  $\chi^2$ -Testung zeigte, dass sich die Häufigkeit MHDA-positiv zu sein, zwischen der ABO- und XEO-Mono-Gruppe signifikant ( $p < 0,05$ ) unterschied, nicht aber zwischen der ONA-Gruppe und der XEO-Mono-Gruppe oder der ONA- und der ABO-Gruppe.

In einer Vorarbeit (Hefter et al. 2012a) war gezeigt worden, dass bei MHDA-positiven Patienten nach Umstellung auf Xeomin® die Antikörpertiter so stark fallen können, dass nach 4-5 Jahren der MHDA wieder negativ wird. Da das KOL II im Mittel 7,6 Jahre mit Xeomin® behandelt worden waren, sollte die Untergruppe von Patienten, die noch immer MHDA-positiv waren, eine Negativauswahl darstellen. Deshalb wurde die SWI-Gruppe in 16 MHDA-positive und die 44 MHDA-negative Patienten unterteilt und mit der XEO-Mono-Gruppe verglichen. Die Ergebnisse des Vergleiches sind in Tab. 5 dargestellt.

**Tab. 5:** Vergleich der Behandlungsdaten der NAB-pos-, der NAB-neg- und XEO-Mono-Untergruppen (T-Test)

| Parameter    | NAB-pos<br>Group | NAB-neg<br>group | XEO-Mono<br>group   | p-value<br>NAB-pos/<br>NAB-neg | p-value<br>NAB-pos/<br>XEO | p-value<br>NAB-neg/<br>XEO |
|--------------|------------------|------------------|---------------------|--------------------------------|----------------------------|----------------------------|
| n=           | 16               | 44               | 34                  |                                |                            |                            |
| female/male  | 11/5             | 26/18            | 19/15               | n.s.                           | n.s.                       | n.s.                       |
| age at onset | 44.98/11.15      | 47.79/8.75       | 50.98/12.19         | n.s.                           | n.s.                       | n.s.                       |
| ITSUI        | 9.86/3.66        | 8.18/3.27        | 7.84/3.25           | n.s.                           | n.s.                       | n.s.                       |
| IDOS (uDU)   | 216/70           | 211/76           | 189/73<br>(Xeomin®) | n.s.                           | n.s.                       | n.s.                       |
| BTSUI        | 4.14/3.07        | 3.81/3.34        | 1.71/1.77           | n.s.                           | n.s.                       | n.s.                       |
| BDOS (uDU)   | 247/72           | 252/117          | 267/90<br>(Xeomin®) | n.s.                           | n.s.                       | n.s.                       |

|            |           |           |                     |       |       |       |
|------------|-----------|-----------|---------------------|-------|-------|-------|
| TTB (days) | 1707/1410 | 1197/1211 | 920/679             | n.s.  | 0.005 | n.s.  |
| STSUI      | 8.19/2.63 | 8.00/3.57 | n.a.                | n.s.  | n.a.  | n.a.  |
| SDOS (uDU) | 294/66    | 243/74    | n.a.                | 0.023 | n.a.  | n.a.  |
| TTS (days) | 3014/1762 | 2722/1960 | n.a.                |       | n.a.  | n.a.  |
| ATSUI      | 6.44/2.00 | 5.29/3.28 | 3.27/2.35           | n.s.  | 0.001 | 0.012 |
| ADOS (uDU) | 384/82    | 338/91    | 305/91<br>(Xeomin®) | n.s.  | 0.013 | n.s.  |
| DUR (days) | 2633/1103 | 2822/1130 | 2283/844            | n.s.  | n.s.  | n.s.  |
| IMPQ(%)    | 18/43     | 54/23     | 70.2/22             | 0.009 | 0.001 | 0.05  |

**Tab. 5:** Der statistische Vergleich von demographischen und behandlungsbezogenen Daten bei 16 Patienten mit SNR und persistierenden AKs und 44 Patienten mit SNR ohne nachweisbare AKs und 34 Patienten, die nur mit incoBoNT/A behandelt worden waren und keine AKs aufwiesen, zeigt, dass das Langzeitergebnis bei beiden SNR-Gruppen schlechter war als in der XEO-Mono-Gruppe und dass die AK-pos-Gruppe ein deutlich schlechteres Langzeitergebnis aufwies als die Patienten mit SNR aber ohne AKs.

Der Vergleich des Langzeitergebnisses (ATUI) nach Beurteilung der Patienten zeigt bei den MHDA-positiven Patienten erwartungsgemäß ein schlechteres Ergebnis als bei den MHDA-negativen Patienten. Die Verbesserung des TSUI-Scores seit der Umstellung auf Xeomin® betrug in der MHDA-positiven-Gruppe im Mittel 1,75 (=21,4%), in der MHDA-negativen-Gruppe im Mittel 2,7 (=33,8%). Dem entspricht auch die Einschätzung der Patienten, die den Xeomin®-Behandlungserfolg mit 18% in der MHDA-positiven und mit 54% in der MHDA-negativen-Gruppe angeben. Der Behandlungserfolg wird also in den beiden Gruppen signifikant unterschiedlich bewertet.

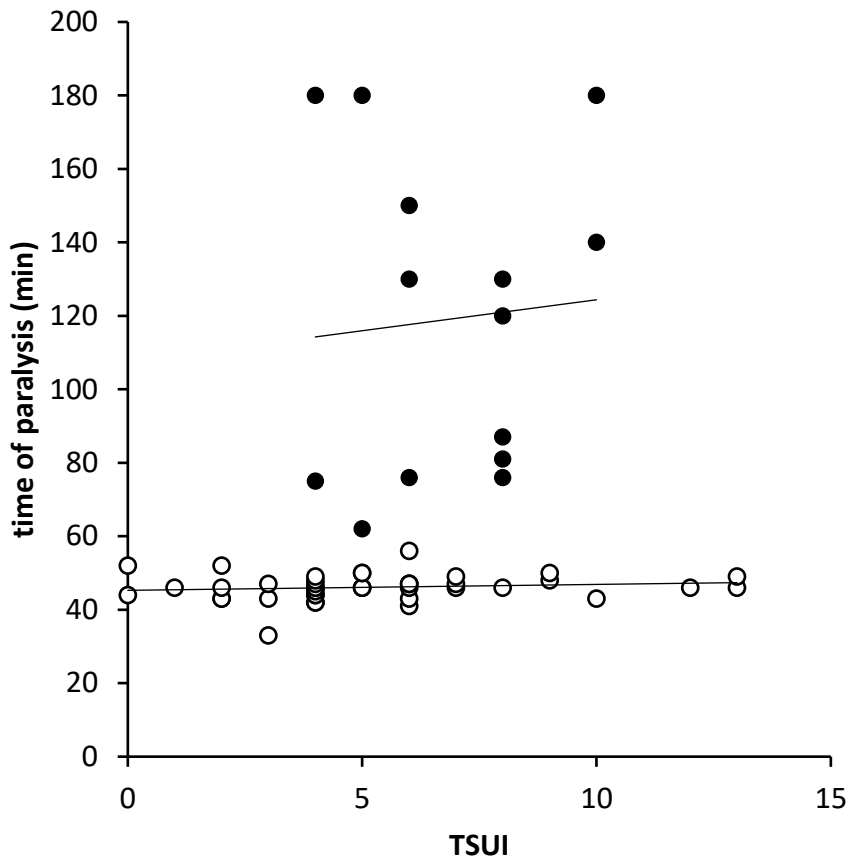
Im Vergleich zur XEO-Mono-Gruppe sind die verwendeten Dosen in den beiden anderen Untergruppen höher, der Unterschied ist zwischen MHDA-Positiven und der XEO-Mono-Gruppe signifikant. Nach der Einschätzung der behandelnden Ärzte (ATSUI) und der Patienten (IMPQ%) ist das Langzeitergebnis in der XEO-Mono-Gruppe signifikant besser als in der MHDA-positiven- und in der MHDA-negativen-Untergruppe.

**Damit ist klar, dass die Patienten, die unter ona- oder abo-BoNT/A ein sekundäres Therapieversagen entwickelt haben, nach Umstellung auf Xeomin® im Mittel weniger gut auf Xeomin® ansprechen als die Patienten, die von vorneherein auf Xeomin® eingestellt wurden. Besonders schlecht profitieren**

**die Patienten, bei denen die Antikörper trotz Umstellung auf Xeomin® persistieren.**

Das legt die Frage nahe, ob nicht nur die Präsenz von Antikörpern wichtig ist, sondern ob der Höhe des Antikörpertiters eine klinische Rolle beizumessen ist. Dazu wurde der TSUI-Score mit der Paralyse-Zeit des MHDA korreliert. Berechnet man den Rangkorrelationskoeffizienten ergab sich ein signifikantes (Spearman) rho von  $r=0,362$  ( $p<0,006$ ). Bei Berechnung mit Hilfe des parametrischen Produktmoment-Korrelationskoeffizienten ergab sich kein signifikantes Ergebnis ( $r=0,227$ ;  $p=0,092$ , n.s.; Details in Hefter et al. 2022 S5996).

Zur weiteren Untersuchung wurden die MHDA-negativen-Patienten mit den XEO-Mono-Patienten zu einer AK-negativen-Gruppe (offene Kreise in Abb. 8) gepoolt und mit den MHDA-Positiven (geschlossene Kreise in Abb. 8) verglichen. Es wurden sowohl Rang- als auch Produktmoment-Korrelationskoeffizient für diese beiden Untergruppen berechnet. Für beide Gruppen und für beide Korrelationskoeffizienten ergab sich dabei keine signifikante Korrelation. Die Korrelation zwischen Paralysezeit und TSUI ist bei den AK-Negativen (offene Kreise in Abb. 8) absolut flach und die Steigung gleich null. Auch bei den AK-Positiven (volle Kreise in Abb. 8) findet sich nur eine schwache Tendenz für eine Zunahme des Antikörpertiters mit zunehmendem klinischen Schweregrad der CD.



**Abb. 8:** Bei den antikörpernegativen Patienten (offene Kreise) und bei den antikörperpositiven Patienten (geschlossene Kreise) ist die Korrelation zwischen Schweregrad (x-Achse) und der Paralysezeit (y-Achse) nicht signifikant von 0 verschieden.

Damit besteht kein offensichtlicher Zusammenhang zwischen klinischem Schweregrad der CD und der Paralysezeit im MHDA, die ein Maß für die Höhe des Antikörpertiters ist.

## 4. Diskussion

Unter dem Abschnitt „Ziel der Arbeit“ waren sieben Fragestellungen aufgeführt worden, die in etwas veränderter Reihenfolge in den Ergebnissen beantwortet wurden. In der vorliegenden Diskussion werden die 7 Fragestellungen unter 3 Hauptaspekten diskutiert:

### 4.1) Welchen Einfluss hat die Vorgeschichte vor BoNT/A auf das Langzeitergebnis?

Dieser Aspekt behandelt die Fragestellungen 1. und 2.

#### **4.II) Wie verändert die BoNT/A-Therapie den Verlauf der Symptomatik?**

Dieser Aspekt behandelt die Fragestellungen 3. und 4.

#### **4.III) Welche klinische Bedeutung hat der Nachweis von NABs?**

Dieser Aspekt behandelt die Fragestellungen 5. – 7.

#### **4. IV) Ausblick und Therapieempfehlungen**

In diesem Abschnitt werden Therapieempfehlungen gegeben, die sich aus der Diskussion der vorgelegten Resultate ergeben.

#### **4.I) Welchen Einfluss hat die Vorgeschichte vor BoNT/A auf das Langzeitergebnis?**

Die Frage, ob die Vorgeschichte das Langzeitergebnis beeinflusst, ist im Zusammenhang mit dem Problem des sekundären Therapieversagens von erheblicher klinischer Relevanz. Dies ist auch bei der Evaluation der Effektivität einer tiefen Hirnstimulations-OP zur Behandlung einer primär generalisierten Dystonie deutlich geworden. Zu zwei Zeitpunkten wurde das Langzeitergebnis der DBS bei generalisierten Dystonien kontrolliert, zweimal ergab sich, dass von allen Faktoren, die das Langzeitergebnis beeinflussen können, die Zeit vom Beginn der Symptomatik bis zum Eingriff der relevanteste war (Isaias et al. 2008; Isaias et al. 2011).

In ihrer Dissertation hatte deshalb bereits Schomaecker 2021 den Einfluss der Zeitspanne vom Beginn der klinischen Manifestation einer zervikalen Dystonie bis zum Beginn der BoNT/A-Therapie (DURS) untersucht und einen ähnlich negativen, signifikanten Einfluss von DURS auf das Langzeitergebnis (ATSUI) gefunden (Hefter et al. 2020). Überraschenderweise war in einem Kollektiv von 74 CD-Patienten die Korrelation von DURS mit dem Schweregrad der initialen Symptomatik (ITSUI) nicht signifikant, wohl aber die negative Korrelation zwischen DURS und ATSUI nach einer mittleren Therapiedauer von 9,9 Jahren (SD: 6,9 Jahre). Auch wenn die Patienten nach der Gesamtverbesserung durch die BoNT-Therapie befragt wurden (**im**provement according to a specific **q**uestionnarre=IMPQ) ergab sich eine signifikante negative Korrelation zwischen der DURS (MW: 5,9 Jahre, SD: 7,75 Jahre; Schwankungsbereich: 0,1 – 36,6 Jahre).

In dem hier untersuchten Kollektiv I fand sich eine etwas kürzere mittlere Dauer von 5,07 Jahren mit fast derselben SD von 7,97 Jahren. Aber nur 4 Patienten wiesen eine

DURS von mehr als 5 Jahren auf. Die Korrelationen von ATSUI mit DURS und von IMPQ und DURS waren nicht signifikant (siehe Fig. 1).

Die Korrelation zwischen ATSUI und der Dauer der Therapie (DURT) war negativ, wenn auch nicht signifikant. Je länger die Therapie durchgeführt wurde, desto besser war das Langzeitergebnis. Das steht im Gegensatz zu der positiven Korrelation von ATSUI und DURT bei Schomaecker (2021). Darauf werden wir genauer eingehen, wenn wir das sekundäre Therapieversagen und die AK-Bildung diskutieren. Bei ausreichend hoher Dosierung und guter Dosisanpassung darf man in der Tat mit einer zunehmenden Besserung mit Dauer der Therapie rechnen, wenn kein sekundäres Therapieversagen eintritt, wie dies bei einigen der von Schomaecker (2021) untersuchten Patienten der Fall war.

Aber nicht nur die Dauer der Symptomatik vor der Behandlung mit BoNT-Therapie beeinflusst das Langzeitergebnis, sondern auch der gesamte Verlauf der Erkrankung, wie er sich in dem CoDB-Graphen darstellt. Wenn Schomaecker (2021) die Patienten in 3 Gruppen in Abhängigkeit vom Typ des CoDB-Graphen (RO-, CO- und DO-Gruppe) einteilte, fiel die kleine RO-Gruppe mit 23% der Patienten wegen des hohen Männeranteiles, des jüngsten Alters bei Beginn der Symptomatik (MW-AOS: 42.9 Jahre; SD: 11.6), des hohen initialen Schweregrades (MW-ITSUI: 9.2; SD: 1,8), der höchsten initialen Dosis (MW-IDOSE: 205,2 uDU; SD: 96,5) und der besten Bewertung durch die Patienten im Fragebogen (MW-IMDQ: 56.7%; SD: 30.5) und laut ihrer Zeichnungen (MW-IMPD: 66.0%; SD: 29.9%) auf. Auch in KOL I war die RO-Gruppe am kleinsten (21%), hatte mit Abstand das jüngste Alter bei Manifestation der CD (MW-AOS: 43.4 Jahre; SD: 17.6), wies mit Abstand den höchsten initialen Schweregrad auf (MW-ITSUI: 9,67; SD: 3,67), wurde mit hohen initialen Dosen behandelt (MW-IDOSE: 202,9 U Xeomin®; SD: 69,6), wies die höchste Dosissteigerung und die höchste aktuelle Dosis auf (siehe Tab. 1) und erhielt von den Patienten die besten Bewertungen laut Fragenbogen (MW-IMPQ: 77,9%; SD: 8,1%) und Zeichnungen (MW-IMPD: 73,5%; SD: 21,9).

Dies scheint eine Untergruppe von CD-Patienten zu sein, die nicht nur eine besonders heftige Manifestation aufweisen, sondern auch ein besonders gutes Langzeitergebnis aufweisen. Dies liegt zum einen daran, dass sie signifikant früher zur BoNT/A-Therapie kommen (Heftner et al. 2021) und mit hohen Dosen bei guter Dosisanpassung behandelt werden. In KOL I weisen diese Patienten auch das beste

Langzeitergebnis auf (MW-ATSUI: 3,00; SD: 1,55). Das ist aber bei Schomaecker (2021; Hefter et al. 2021b) nicht der Fall, im Gegenteil hat diese Gruppe das schlechteste Langzeitergebnis (MW-ATSUI: 4,7; SD: 3,1). Der Grund ist, dass diese kleine Untergruppe die meisten Patienten enthielt, die ein STF in den CoDA-Graphen gezeichnet hatten und den höchsten Prozentsatz an Patienten mit einem positiven MHDA-Test enthielt. Dies werden wir weiter unten noch detaillierter diskutieren.

Leider gibt es außer der Arbeit von Schomaecker 2021 keine Untersuchungen zu CoDA- und CoDB-Graphen, so dass sich die vorliegende Diskussion auf den Vergleich mit den Ergebnissen von Schomaecker 2021 und Hefter et al. 2021b beschränken muss.

#### **4.II) Wie verändert die BoNT/A-Therapie den Verlauf der Symptomatik?**

Bevor diese Frage beantwortet werden kann, ist eine andere Frage zu stellen: Wie wäre der Verlauf der Symptomatik gewesen, wenn keine BoNT-Therapie durchgeführt worden wäre. Diese Frage ist zwar nicht direkt beantwortbar. Aber die Analyse der CoDB-Graphen hat ja gezeigt, dass der Verlauf von fokalen Dystonien keineswegs statisch ist, sondern durchaus eine Dynamik aufweist und dass der Beginn der BoNT/A-Therapie in eine Phase der Verschlechterung fällt, so dass es zu einer Interaktion des Spontanverlaufes mit der einsetzenden BoNT/A-Therapie kommt.

Dies haben wir versucht, durch die Befragung zu erfassen. Es konnte gezeigt werden, dass sich die Prävalenz bestimmter Symptome in KOL II über einen Behandlungszeitraum von im Mittel 6,3 Jahren (SD: 2,3 Jahre) kaum änderte (Fig. 2). Aber da auch bestimmt werden konnte, welche Symptome unter der incoBoNT/A komplett verschwinden und welche Symptome neu auftreten (Fig. 3), zeigte sich, dass die BoNT/A-Therapie, die nicht nur eine sich verschlechternde Symptomatik kompensierte, sondern sogar bestehende Symptome besserte, wirkungsvoller war als die Prävalenzen von Symptomen in KOL II auswiesen.

Die Befragung, welche Symptome verschwinden und welche treten neu auf, war auch von Schomaecker (2021) durchgeführt worden. In diesem größeren Kollektiv von 74

CD-Patienten überwog das Neuauftreten von Symptomen eindeutig das Verschwinden von Symptomen (Hefter et al. 2020c, Schomaecker 2021). Da in diesem Kollektiv einige Patienten auch neutralisierende AK entwickelt hatten, stellt sich die Frage, ob das vermehrte Neuauftreten von Symptomen nicht doch auf eine reduzierte Wirksamkeit der BoNT-Therapie durch NAbs zurückzuführen ist.

Spielt man einmal theoretisch die Möglichkeiten durch, dass eine sich verschlechternde Symptomatik auf den Einsatz einer Therapie trifft, die eine kontinuierliche Verbesserung bewirkt, trifft, ergeben sich folgende Fallmöglichkeiten: 1) die initiale Besserung ist gut und schwächt sich durch die Progredienz der Erkrankung im weiteren Verlauf ab. Ein Patient mit solch einer Konstellation würde im CoDA-Graphen einen RR-Typ, einen CR-Typ oder auch einen STF-Typ zeichnen.

2) die initiale Besserung reicht soeben aus, um die Verschlechterung zu kompensieren. Ein Patient mit solch einer Konstellation wäre ein primärer Non-Responder. Wenn sich durch eine Dosiserhöhung die Wirksamkeit der BoNT-Therapie im Verlauf steigern ließe, würde ein Patient einen CoDA-Graphen vom DR-Typ zeichnen.

Zusammengefasst lässt sich also das Auftreten jedes beobachteten Types eines CoDA-Graphen mühelos erklären, ohne dass die zusätzliche Induktion von NAbs gefordert werden müsste.

In diesem Zusammenspiel von Spontanverlauf und BoNT-Wirkung kommt es also auch darauf an, wie der Behandler die Dosisanpassung durchführt. Eine Dosiserhöhung im Verlauf ist von mehreren Studien berichtet worden (Mejia et al. 2005; Mohammadi et al. 2009; Ruiz et al. 2011; Hefter et al. 2016; Hefter et al. 2021b und Tab. 2). Wahrscheinlich ist eine mangelnde Dosisanpassung eine wesentliche Ursache für die Entwicklung eines „Pseudo-sekundären Therapieversagens“ bei Progredienz der Symptomatik. Im Prinzip handelt es sich also nicht um ein echtes sekundäres Therapieversagen, sondern um eine insuffiziente Behandlung, weil durch eine Dosis- und Schema-Anpassung die sekundäre Verschlechterung kompensiert werden könnte (Bellows und Jankovic 2018). Dies ist bisher nicht so explizit dargelegt worden. Aber z.B. Lange et al. 2009 und Ferreira et al. 2015 und Fabbri et al. 2016 in ihren Übersichtsartikeln haben vor einer Überbetonung der Bedeutung der Antikörper gewarnt, weil sich in ca. 50% der Patienten mit STF keine NAbs nachweisen lassen.

Schaut man sich die CoDA-Graphen in KOL I genauer an, sieht man, dass kein Patient eine Verbesserung von weniger als 20% gezeichnet hatte. Damit wurden in KOL I keine primären Non-Responder beobachtet. Das war in dem Kollektiv von Schomaecker (2021) deutlich anders. Hier hatten 18% ein Ansprechen von weniger als 20%. Die mittlere aktuelle Dosis betrug 218 uDU (SD: 114,7), wohingegen die mittlere Dosis in KOL I dagegen mit 260 uDU (SD: 111,5) deutlich höher lag. Dies unterstreicht den möglichen Einfluss, den eine gute Dosisanpassung auf das Langzeitergebnis hat.

Aber in KOL I zeichnete auch kein Patient ein sekundäres Therapieversagen, also keinen CoDA-Graphen mit einer initialen Verbesserung gefolgt von einer deutlichen Verschlechterung. Auch hier stellt sich nach den oben angestellten Überlegungen die Frage nach der Dosisanpassung. Bei Schomaecker 2021 (Hefter et al. 2022c) findet sich eine mittlere Dosiserhöhung von 50.6 uDU (SD: 87,2), wohingegen in KOL I eine Dosiserhöhung von 96 uDU (SD: 77,0). Ganz offensichtlich hat die deutlich höhere Dosisanpassung in KOL I nicht zu einer NAB-Induktion geführt. Das unterstreicht noch einmal das niedrige Risiko unter einer Monotherapie mit incoBoNT/A, ein NAB-induziertes STF auszulösen.

Vergleicht man in KOL I den mittleren besten TSUI-Score (BTSUI: 1,48) mit dem aktuellen TSUI-Score (ATSUI: 4,4) und die Dosisanpassung vom Auftreten des BTSUI bis zur Rekrutierung (ADOSE-BDOSE: 260-249=11!) sieht man, dass wahrscheinlich auch in diesem Kollektiv die Dosisanpassung nicht ganz optimal war. Die hauptsächliche Dosisanpassung erfolgte offensichtlich bis zum Erreichen des besten TSUI-Scores. Danach erfolgte leider keine wesentliche Anpassung mehr.

**Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Progredienz einer fokalen Dystonie trotz BoNT/A-Therapie nicht unterschätzt und eine großzügige Dosisanpassung im Verlauf der Therapie vorgenommen werden sollte.**

Dies kann aber nur dann empfohlen werden, wenn eine Dosiserhöhung nicht zu einem nennenswerten Anstieg des Risikos führt, neutralisierende Antikörper zu induzieren!

#### **4. III) Welche klinische Bedeutung hat der Nachweis von NABs?**

Über das Problem, welche klinische Bedeutung ein positiver Nachweis von NABs hat, wird auch weiterhin unter den BoNT-Anwendern heftig diskutiert. Das liegt daran, dass kein Präparat-Hersteller Interesse an der genauen Abklärung der Antigenität seines Produktes hat und auch die meisten Ärzte keinen Nachweis darüber erbringen möchten, bei wie vielen Patienten sie Antikörper induzieren, so dass die Datenlage zu diesem Thema bei genauerer Analyse spärlich ist. Deshalb schicken wir dem Kapitel III der Diskussion einen Abschnitt voraus, in dem wir die systematischen methodischen Probleme und Fehler beleuchten, die bei der Analyse von NABs gegen BoNT gemacht werden.

Im Allgemeinen berichten Studien zur Antikörperbildung unter einer BoNT/A-Behandlung über niedrige „Antikörperbildungsraten“ (vergl. die Meta-Analyse von Fabbri et al. 2016). Dabei werden meistens ausgewählte Patienten auf Antikörper getestet. Die Anzahl der so entdeckten antikörperpositiven Patienten wird ins Verhältnis zum Gesamtkollektiv gesetzt: das ergibt die Antikörperrate. Wenn in einer solchen Studie wenig Patienten ausgewählt werden, ist als Folge auch die Zahl der antikörperpositiven Patienten niedrig. Ein solches Vorgehen entspricht einer „self full-filling prophecy“ und sollte eigentlich aus wissenschaftlicher Sicht obsolet sein.

Im Gegensatz zu Prävalenz und Inzidenz ist die Antikörperrate jedoch kein klar definierter statistischer Begriff. Bei der Bestimmung der Prävalenz werden alle Mitglieder einer Kohorte auf das Vorhandensein eines bestimmten Merkmales getestet. Für die exakte Bestimmung der NAB-Prävalenz müssen alle Patienten eines Kollektivs auf das Vorliegen von NABs getestet werden, es muss also eine Querschnittsstudie durchgeführt werden. Das ist eine sehr teure Angelegenheit. Für die Bestimmung der Inzidenz müssen alle Mitglieder einer Kohorte zu Anfang und zu Ende eines definierten Zeitraumes auf das Vorliegen eines Merkmales getestet werden. Es muss also zu Beginn und am Ende eines Zeitraumes eine Querschnittsstudie gemacht werden. Damit wird die Inzidenz-Bestimmung doppelt so teuer wie die Prävalenz-Bestimmung.

Wird für die NAB-Bestimmung der „MLA (mouse letality assay)“ herangezogen, müssen für eine Bestimmung 100 Mäuse getötet werden. Wird dagegen der „MHDA

(mouse hemidiaphragm assay)“ verwandt, werden für 2 Bestimmungen eine Maus benötigt. Aber mit Kosten von € 120-200,- pro MHDA ist zu rechnen. Dies zeigt, dass zur Zeit kein NAB-Test zur Verfügung steht, der für den Einsatz in der täglichen Routine geeignet wäre. Und es wird klar, dass die hohen Kosten für die exakte Bestimmung von Prävalenz/Inzidenz gescheut werden.

Daher haben z.B. Kranz et al. 2008 als Kompromiss vorgeschlagen, eine repräsentative Untergruppe z.B. mit dem Schweißtest auf NABs konsequent durchzutesten und dann auf die Gesamtkohorte hochzurechnen. Diese Methode wird z.B. auch für Hochrechnungen bei politischen Wahlen benutzt. Sie ergab sehr hohe NAB-Prävalenz-Werte (>40%; Kranz et al. 2008), die sogar über den Prävalenz-Werten lagen, die im Rahmen von zwei Querschnittsstudien ermittelt wurden. Hefter et al 2016 fanden bei 212 MHDA-untersuchten CD-Patienten 31 Positive (=14.6%). Diese Studie wurde in Düsseldorf auch auf andere Indikationen ausgedehnt, wobei sich bei 596 untersuchten Patienten 83 Positive (=13,9%) fanden (Albrecht et al. 2019).

Dies zeigt, dass Antikörper im Laufe der BoNT/A-Therapie bei relativ vielen Patienten auftreten. Dabei wird bei der Prävalenz-Bestimmung nicht einmal die Dauer der Behandlung berücksichtigt. Das ist aber unbedingt notwendig und wird mit einer Kaplan-Meier-Analyse durchgeführt. Dafür wird in Abhängigkeit von der Dauer der Therapie die Wahrscheinlichkeit berechnet, NAB-positiv zu bleiben. Die bisher veröffentlichten KM-Analysen weisen nichtlineare Abhängigkeiten nach: mit Dauer der BoNT/A-Therapie nimmt die Anzahl der positiven Patienten überproportional zu. Die KM-Kurven liefern Wahrscheinlichkeitswerte für die NAB-Positivität, die in derselben Größenordnung liegen wie die Ergebnisse von Kranz et al.. Nach einer Behandlung von 10-20 Jahren mit relevanten Dosen liegt die Wahrscheinlichkeit MHDA-positiv zu sein zwischen 30 und 50% (Hefter et al. 2016; Albrecht et al. 2019).

Die Analyse der Risikofaktoren für die NAB-Induktion zeigt, dass auch die Dosis pro Behandlung ein wesentlicher NAB-induzierender Faktor ist. Dabei scheint es Schwellenphänomene zu geben. Die KM-Kurven für die Wahrscheinlichkeit MHDA-negativ zu bleiben in Abhängigkeit von der verwendeten Dosis pro Injektionsbehandlung verläuft hochgradig nichtlinear. Unter einer Dosis von 300-400 U Dysport® treten kaum MHDA-positive Behandlungsfälle auf, wohingegen bei der

Verwendung einer Dosis über 1000 U Dysport® die MHDA-positiven Fälle exponentiell zuzunehmen scheinen (Hefter et al. 2016; Albrecht et al. 2019).

Angesichts dieser hohen Prävalenzen für die NAB-Bildung unter einer längerfristigen BoNT/A Behandlung ist es erstaunlich, dass bisher in keiner Studie berichtet worden ist, dass ein Patient unter der Behandlung mit einer länger durchgeführten incoBoNT/A (Xeomin®) Monotherapie NABs entwickelt hätte (siehe z.B. Hefter et al. 2020a). Dazu passt, dass weder in KOL I noch in KOL II ein Patient mit einem positiven MHDA-Test gefunden werden konnte. Legt man die realistischen Prävalenz-Bestimmungen und Inzidenz-Abschätzungen von 1-2%/Jahr aus Hefter et al. 2016 oder Albrecht et al. 2019 zu Grunde, hätte man bei einer mittleren Behandlungsdauer von 6,3 Jahren in KOL II mit 2 – 4 MHDA-positiven Patienten ( $34/100 \cdot 6,3 = 2,14$ ) rechnen können. Offensichtlich ist incoBoNT/A geringer antigen als abo- oder onaBoNT/A. Dies konnte kürzlich von der Düsseldorfer Arbeitsgruppe statistisch untermauert werden (Hefter et al. 2022a).

Dazu passt die Beobachtung, dass wenn man eine Vorbehandlung von im Mittel 5-6 Injektionen mit abo- oder onaBoNT/A durchführt und dann auf incoBoNT/A umstellt, das Risiko, NABs zu induzieren, nicht mehr 0 ist wie unter einer Monotherapie mit incoBoNT/A. In einem Kollektiv mit 39 Patienten mit einer fokalen Dystonie, die im Mittel 527 Tage mit abo- oder onaBoNT/A behandelt und dann auf incoBoNT/A umgestellt worden waren, fanden sich 2 Patienten mit sehr langen Paralysezeiten (Hefter et al. 2020a).

Dazu passt erst recht die Beobachtung, dass bei Patienten, die unter abo- oder onaBoNT/A NABs entwickelt haben, die Paralysezeiten, die ein Maß für die Antikörper-Titer sind, unter der laufenden Behandlung mit incoBoNT/A kontinuierlich langsam sinken, z.T. mit einer Geschwindigkeit, die der Abnahme nach komplettem BoNT-Behandlungstopp entsprechen (Hefter et al. 2012a; Hefter et al. 2021a). In dem Switch-Kollektiv mit 60 Patienten, deren Daten von Frau Ürer zur Verfügung gestellt worden waren (Ürer 2022), die ein STF entwickelt hatten, fanden sich nach der Umstellung auf incoBoNT/A und einer Behandlungsdauer von 7,4 Jahren noch 15 Patienten mit einem positiven MHDA-Test (=25.4%). Das ist deutlich mehr als in einem konsekutiv rekrutierten Kollektiv von Respondern wie in Schomaecker 2021, die in

ihrem Kollektiv von 74 Patienten 10 MHDA-Positive ( $10/74=13,5\%$ ) hatte, oder in den Querschnittsstudien mit 14,6% in Hefter et al. (2016) und 13,9% in Albrecht et al. (2019). Aber es ist auch deutlich weniger als 50% MHDA-Positive, wie von anderen Kollektiven von Patienten mit STF beschrieben (z.B. in Lange et al. 2009). Denkbar ist, dass unter der Behandlung mit incoBoNT/A der Prozentsatz an MHDA-positiven Patienten deutlich gesunken ist.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass das Risiko, dass sich unter einer Therapie mit incoBoNT/A NABs bilden, sehr gering ist, und dass unter einer incoBoNT/A-Therapie NAB-Titer fallen können. Ob dies auch eine klinische Bedeutung hat, soll im Folgenden diskutiert werden.

Bei den meisten Indikationen müssen wiederholte Injektionen von Botulinum-Neurotoxin verabreicht werden, um ein bestimmtes Maß an Verbesserung zu erreichen (Simpson und Hallett 2016; Jost et al. 2019; Romanov et al. 2019). Diese wiederholten Injektionen werden transdermal durchgeführt, alarmieren das Immunsystem, aktivieren dendritische Zellen (Van Kooyk 2008) und induzieren B- und T-Zell-Reaktionen mit dem Risiko der NAB-Bildung und der Entwicklung von sekundärem Therapieversagen (Atassi et al. 2011). Die Analyse von B-Zellen bei mit BoNT/A behandelten Patienten zeigt, dass das Vorhandensein von BoNT/A-Molekülen bei den meisten langfristig behandelten Patienten vom Immunsystem erkannt und durch die Entwicklung von spezifischen Antikörpern (AKs) beantwortet wird (Atassi et al. 2011). Wenn diese AKs die Wirkung von BoNT/A abschwächen, spricht man von neutralisierenden AKs (NABs).

Stellt man fest, dass der klinische Effekt der BoNT-Behandlung systematisch nachlässt, spricht man von einem sekundären Therapieversagen (STF). Das STF ist also ein klinisches Problem, das vom Patienten berichtet oder vom Behandler beobachtet wird, im Gegensatz zur Präsenz von ABs, die erst mühsam nachgewiesen werden müssen. Da es Patienten gibt, die ein klares STF aufweisen, bei denen aber keine NABs nachgewiesen werden können, und es Patienten mit NABs gibt, die klinisch trotzdem gut auf BoNT-Injektionen antworten, ist klar, dass Präsenz von NABs und Vorliegen von STF unterschiedliche Problemkreise sind. Als Ursachen für das Auftreten eines STF ohne NAB-Induktion sind Veränderungen in dem Muster der

muskulären Hyperaktivität, Fehlinjektionen mit der Behandlung nicht betroffener Muskeln, das „Auslaufen“ des Placebo-Effekts oder das Fortschreiten der Krankheit genannt worden (Dressler 2004; Mohammadi et al. 2009).

Es ist ein wichtiges Ergebnis der vorliegenden Arbeit, dass kein Patient unter einer incoBoNT/A-Monotherapie ein STF gezeichnet hatte. Es gibt kein standardisiertes Verfahren, ein STF festzustellen. Deshalb ist das Zeichnen des Therapieverlaufes, wie es von Frau Schomaecker entwickelt worden ist, eine mögliche, klinisch anwendbare Methode. Die Methode, Patienten den Verlauf ihrer Erkrankung zeichnen zu lassen, ist längst bekannt. Solche Zeichnungen zu digitalisieren und statistisch weiter behandelbar zu machen, ist das wissenschaftliche Verdienst von Frau Schomaecker. In ihrem Kollektiv konnten von 74 rekrutierten Patienten 66 einen verwertbaren „course of disease after BoNT/A therapy“ (CoDA-Graphen zeichnen, von denen 17 (>25.7%) einen STF-Graphen mit einer deutlichen initialen Besserung und einer anschließenden sekundären Verschlechterung zeichneten. Damit ist das STF in diesem Kollektiv zirka 2x so häufig wie der Antikörpernachweis, passend zu den Ergebnissen, dass in ca. 50% der STF-Patienten NABs gefunden werden (Lange et al. 2009; Fabbri et al. 2016).

Darin scheint tatsächlich Einmütigkeit zu herrschen, dass bei Patienten, die klinisch einen deutlichen Wirkungsverlust der BoNT-Therapie, also ein STF aufweisen, der Prozentsatz an NAB-positiven Patienten deutlich erhöht ist ((Mejia et al. 2005); siehe auch die Meta-Analyse von Fabbri et al. 2016) gegenüber normal respondierenden Patienten (Brin et al. 2008; Naumann et al. 2013). In einigen Studien bei Patienten mit STF wurde eine Häufigkeit von NABs zwischen 33 und 100 % festgestellt (Greene et al. 1994, Jankovic und Schwartz 1995; Göschel et al. 1997; Kessler et al. 1999; Jankovic et al. 2003; Cordivari et al. 2006). Dabei muss im Auge behalten werden, dass sich in vielen Zentren die Umstellung von dem sehr antigenen „old Botox®“, das sehr viel biologisch inaktives, aber immunologisch aktives Neurotoxin enthielt (Borodic et al. 1996), auf das deutlich geringer antigene „new Botox®“ (Aoki et al. 1999; Jankovic et al. 2003; Jankovic et al. 2006; Brin et al. 2008) langsam und schleichend vollzogen hat. Dadurch weisen einige Studien, die auch bei rezenten Übersichtsartikeln und Meta-Analysen berücksichtigt wurden, noch höhere NAB-Raten auf, weil mit „old Botox®“-behandelte Patienten mitberücksichtigt wurden.

Beispielsweise wurden 9 von 32 Studien über dystone Patienten in der Meta-Analyse von Fabbri et al. berücksichtigt, die vor dem Jahr 1999 veröffentlicht wurden (Jankovic et al. 1991; Hambleton et al. 1992; Zuber et al. 1993; Greene et al. 1994; Hatheway und Dang 1994; Mezaki et al. 1994; Jankovic und Schwartz 1995; Göschel et al. 1997; Hanna und Jankovic 1998).

Für Patienten mit BoNT/A-Behandlung wegen einer CD konnte eine formale Definition des STF gegeben werden (Details in Hefter et al. 2014). Mit Hilfe dieser formalen Definition des STF wurden 33 Patienten mit STF identifiziert, die auf incoBoNT/A umgestellt und die prospektiv bzgl. NABs getestet wurden. 26 dieser 33 Patienten (>78%) waren MHDA-positiv. Daraus wurde der Schluss gezogen, dass je formaler oder restriktiver die Definition des STF gewählt wird, um so häufiger weisen diese STF-Patienten NABs auf (Hefter et al. 2021a).

Im Einzelfall muss der Nachweis von NABs keine klinische Konsequenz haben. Es konnten 8 Patienten mit NAB-Induktion unter abo- und onaBoNT/A über einige Jahre verfolgt werden, ohne dass eine wesentliche Boosterung der AB-Titer oder eine wesentliche klinische Verschlechterung festzustellen gewesen wäre (Hefter et al. 2022b). Dennoch kann man daraus nicht den Schluss ziehen, dass NABs keine klinische Bedeutung haben. In einem größeren Kollektiv von 212 CD-Patienten hatten die 31 Patienten mit NABs einen schlechteren TSUI-score und eine höhere Dosis pro Injektionsbehandlung und wiesen einen höheren Pain-score im CDQ24 auf (Hefter et al. 2016; Hefter et al. 2019).

Aber eine Korrelation zwischen klinischem Schweregrad und Antikörpertiter konnte weder bei MHDA-negativen, noch bei MHDA-positiven CD-Patienten nachgewiesen werden (siehe Ergebnisteil). Wenn man allerdings über alle (MHDA-positive und MHDA-negative) Patienten zwischen dem TSUI-score und der Paralysezeit die Rangkorrelation berechnete, war dieser Rangkorrelationskoeffizient signifikant. Das bedeutet, dass der Zusammenhang zwischen AK-Titern und klinischen Parametern sehr komplex zu sein scheint (Hefter et al. 2022b) und dass weitere Studien notwendig sind, um möglicherweise doch einen Zusammenhang aufzudecken.

## **4.IV) Ausblick und Therapieempfehlungen**

Aus dem Übergang vom "alten" zum "neuen" Botox® wurde die Lehre gezogen, dass Booster-Injektionen, kurze Reinjektionsintervalle und unnötig hohe Dosen pro Sitzung vermieden werden sollten (Greene et al. 1994) und dass die BoNT/A-Formulierung mit der geringsten Proteinbelastung verwendet werden sollte (Aoki und Guyer 2001). Im Prinzip gelten diese Empfehlungen nach wie vor und muss auf alle inzwischen zugelassenen BoNT/A-Präparate ausgedehnt werden. Da gezeigt werden konnte, dass im Verlauf einer Behandlung mit dem komplexproteinfreien incoBoNT/A (keine Patienten und damit) signifikant weniger Patienten NABs entwickelt hatten als unter einer Therapie mit einem komplexproteinhaltigen BoNT/A-Präparat (Hefter et al. 2022a) ist es konsequent, eine Behandlung von vorneherein mit incoBoNT/A zu empfehlen.

Die Verwendung von incoBoNT/A könnte mehr Flexibilität in der täglichen klinischen Praxis ermöglichen, indem höhere Dosen oder variablere Intervalle zwischen den Injektionen benutzt werden. Es sind jedoch unbedingt weitere Studien erforderlich, um auszuschließen, dass die Verwendung höherer Dosen von incoBoNT/A (Wissel et al. 2017) und kürzerer Reinjektionsintervalle nicht doch mit einer relevanten Erhöhung des Risikos, NABs zu induzieren, und des Risikos, ein sekundäres Therapieversagen zu entwickeln, einhergeht. Angesichts der vorgelegten Erfahrungen mit dem Zeichnen des Verlaufes des Schweregrades der Symptomatik empfehlen wir auch, bei diesen Langzeitstudien nicht nur sorgfältig die klinische Symptomatik zu scoren und Antikörpertests im Verlauf durchzuführen, sondern auch die subjektive Einschätzung des Patienten zu berücksichtigen, indem nach dem Vorliegen von Symptomen und deren Ausprägung gefragt wird, sondern auch der Verlauf des Schweregrades der Symptomatik vom Patienten gezeichnet wird.

## 5. Literaturverzeichnis

- Adler M, Keller JE, Sheridan RE (2001) Persistence of botulinum neurotoxin A demonstrated by sequential administration of serotypes A and E in rat EDL muscle. *Toxicon* 39:233–243
- Albanese A, Barnes MP, Bhatia KP (2006) A systematic review on the diagnosis and treatment of primary (idiopathic) dystonia and dystonia plus syndromes: report of an EFNS/MDS-ES task force. *Eur J Neurol* 13:433-444. # 14.
- Albrecht P, Jansen A, Lee JI, Moll M, Ringelstein M, Rosenthal D, Bigalke H, Aktas O, Hartung HP, Heftner H (2019) High Prevalence of Neutralizing Antibodies after Long-Term Botulinum Neurotoxin Therapy. *Neurology* 92:48–54
- Aoki KR, Guyer B (2001) Botulinum Toxin Type A and Other Botulinum Toxin Serotypes: A Comparative Review of Biochemical and Pharmacological Actions. *Eur J Neurol* 8:21–29
- Aoki KR, Merlino G, Spanoyannis AF, Wheeler LA (1999) BOTOX (botulinum toxin type A) purified neurotoxin complex prepared from the bulk toxin retains the same preclinical efficacy as the original but with reduced antigenicity. *Neurology* 52:521–522
- Arce CA (2007) Selective denervation in cervical dystonia. In: Stacey MA (ed) *Handbook of dystonia*. Informa Healthcare USA, Inc, New York, pp 381–392
- Atassi MZ, Dolimbek BZ, Jankovic J, Steward LE, Aoki KR (2011) Regions of Botulinum Neurotoxin A Light Chain Recognized by Human Anti-Toxin Antibodies from Cervical Dystonia Patients Immuno-resistant to Toxin Treatment. The Antigenic Structure of the Active Toxin Recognized by Human Antibodies. *Immunobiology* 216:782–792
- Atassi MZ, Dolimbek BZ, Jankovic J, Steward LE, Aoki KR (2008) Molecular Recognition of Botulinum Neurotoxin B Heavy Chain by Human Antibodies from Cervical Dystonia Patients That Develop Immuno-resistance to Toxin Treatment. *Mol Immunol* 45:3878–3888
- L. Avanzino, M. Bove, E. Pelosin, C. Ogliastro, G. Lagravinese and D. Martino  
PloS one 2015 The Cerebellum Predicts the Temporal Consequences of Observed Motor Acts Vol. 10 Pages e0116607
- Baizabal-Carvallo JF, Jankovic J (2012) Movement disorders in autoimmune diseases. *Mov Disord* 27:935–946
- Bellows S, Jankovic J. Immunogenicity Associated with Botulinum Toxin Treatment. *Toxins (Basel)*. 2019 Aug 26;11(9):491.
- Benecke R, Moore P, Dressler D, Naumann M (2003) Cervical and axial dystonia. In: Moore P, Naumann M (eds) *Handbook of botulinum toxin treatment*, 2nd edn. Blackwell Science, Malden, pp 158–191
- Benecke R, Jost WH, Kanovsky P, Ruzicka E, Comes G, Grafe S (2005) A new botulinum toxin type free of complexing proteins for treatment of cervical dystonia. *Neurology* 64:1949–1951

- Berardelli A, Gilio F, Curra A (2002) Effects of botulinum toxin type A on central nervous system function. In: *Therapeutic Aspects of Botulinum Toxin*. Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia, pp 171–177
- Bhidayasiri R (2011) Treatment of complex cervical dystonia with botulinum toxin: involvement of deep-cervical muscles may contribute to suboptimal responses. *Parkinsonism Relat Disord* 17 Suppl 1:S20-24.
- Black J, Dolly J (1987) Selective localization of acceptors for botulinum neurotoxin A in the central and peripheral nervous systems. *Neuroscience* 23:767–779
- Blasi J, Chapman ER, Link E (1993) Botulinum neurotoxin A selectively cleaves the synaptic protein SNAP-25. *Nature* 365:160–163
- Borodic G, Johnson E, Goodnough M (1996) Botulinum toxin therapy, immunologic resistance, and problems with available materials. *Neurology* 46:26–29
- Boroff DA, Chen GS (1975) On the question of permeability of the blood-brain barrier to BoNT. *International Archives of Allergy and Applied Immunology* 48:495–504
- Boyce MJ, Canning CG, Mahant N, Morris J, Latimer J, Fung VS (2012) Active exercise for individuals with cervical dystonia: a pilot randomized controlled trial. *Clin Rehabil* 27:226–235
- Brin MF, Comella CL, Jankovic J, Lai F, Naumann M (2008) Long-term treatment with botulinum toxin type A in cervical dystonia has low immunogenicity by mouse protection assay. *Mov Disord* 23:1353-1360. # 70.# 1055
- Callaway JE (2004) Botulinum Toxin Type B (Myobloc): Pharmacology and Biochemistry. *Clin Dermatol* 22:23–28
- Cardoso F (2008) Drug-induced dystonia. In: Stacey MA (ed) *Handbook of dystonia*. Informa Healthcare, Inc, New York, pp 267–276
- Carli L, Montecucco C, Rossetto O (2009) Assay of diffusion of different botulinum neurotoxin type A formulations injected in the mouse leg. *Muscle Nerve* 40:374–380
- Carruthers J, Carruthers A (2007) The evolution of botulinum neurotoxin type A for cosmetic applications. *J Cosmet Laser Ther* 9:186–192. <https://doi.org/10.1080/14764170701411470>
- Carruthers J, Solish N, Humphrey S, Rosen N, Muhn C, Bertucci V, Swift A, Metelitsa A, Rubio RG, Waugh J (2017) Injectable DaxibotulinumtoxinA for the Treatment of Glabellar Lines: A Phase 2, Randomized, Dose-Ranging, Double-Blind, Multicenter Comparison With OnabotulinumtoxinA and Placebo. *Dermatol Surg* 43:1321–1331
- Carruthers J, Stubbs HA (1987) Botulinum toxin for benign essential blepharospasm, hemifacial spasm and age-related lower eyelid entropion. *Can J Neurol Sci* 14:42–45
- Chan J, Brin MF, Fahn S (1991) Idiopathic cervical dystonia: clinical characteristics. *Mov Disord. Neurology* 6:119-126. # 1088

- Charlesworth G, Plagnol V, Holmstrom KM (2012) Mutations in ANO3 Cause Dominant Craniocervical Dystonia: Ion Channel Implicated in Pathogenesis. *Am J Hum Genet* 91:1041–1050
- Chen R, Karp BI, Hallett M (1998) Botulinum Toxin Type F for Treatment of Dystonia: Long-Term Experience. *Neurology* 51:1494–1496
- Comella CL, Jankovic J, Brin MF (2000) Use of botulinum toxin type A in the treatment of cervical dystonia. *Neurology* 55:15–21
- Comella CL, Jankovic J, Shannon KM, Tsui J, Swenson M, Leurgans S, Fan W, Group DS (2005a) Comparison of Botulinum Toxin Serotypes A and B for the Treatment of Cervical Dystonia. *Neurology* 65:1423–1429
- Comella CL, Simpson LL, Jankovic J (2005b) Botulinum toxins: transformation of a toxin into a treatment. In: SFrom W (ed) *Neuroscience to Neurology*. Elsevier, Burlington, pp 125–139
- Contarino MF, Van den Dool J, Balash Y et al (2017) Clinical practice: evidence-based recommendations for the treatment of cervical dystonia with botulinum toxin. *Front Neurol* 8:1–11
- Cordivari C, Misra P, Catania S, Lees AJ (2004) New therapeutic indications for botulinum toxins. *Movement Disorders* 19:157–161
- Cordivari C, Misra VP, Vincent A, Catania S, Bhatia KP, Lees AJ (2006) Secondary Nonresponsiveness to Botulinum Toxin A in Cervical Dystonia: The Role of Electromyogram-Guided Injections, Botulinum Toxin A Antibody Assay, and the Extensor Digitorum Brevis Test. *Mov Disord* 21:1737–1741
- Coté TR, Mohan AK, Polder JA (2005) Botulinum toxin type A injections: adverse events reported to the US Food and Drug Administration in therapeutic and cosmetic cases. *J Am Acad Dermatol* 53:407–415
- Curra A, Trompetto C, Abbruzzese G, Berardelli A (2004) Central effects of Botulinum toxin A. Evidence and supposition. *Movement Disorders* 2004 Mar;19 Suppl 8:S60-4.
- Dauer WT, Burke RE, Greene P, Fahn S (1998) Current concepts on the clinical features, aetiology and management of idiopathic cervical dystonia. *Brain* 121:547-560.# 27.
- Defazio G, Berardelli A, Hallett M (2007) Do primary adult-onset focal dystonias share aetiological factors? *Brain* 130:1183–1193
- Devriese PP (1999) On the discovery of *Clostridium botulinum*. *J Hist Neurosci* 8:43–50
- Dhaked RK, Singh MK, Singh P (2010) Botulinum toxin: bioweapon & magic drug. *Indian J Med Res* 132:489–503
- Dirk D, Mander GJ, Klaus F (2008) Equivalent Potency of Xeomin® and BOTOX®. *Toxicon* 51, Supplement 2008, p. 10
- Dolimbek BZ, Steward LE, Aoki KR, Atassi MZ (2012) Location of the Synaptosome-Binding Regions on Botulinum Neurotoxin B. *Biochemistry* 51:316–328

- Dolly JO, Lisk G, Foran PG (2002) Insights into the extended duration of neuromuscular paralysis by botulinum neurotoxin A relative to the other shorter-acting serotypes: differences between motor nerve terminals and cultured neurons. In: Jankovic J Hallett M (eds) *Therapeutic Aspects of Botulinum Toxin*. Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia, pp 91–102
- Draganski B, Schneider SA, Fiorio M (2009) Genotype-phenotype interactions in primary dystonias revealed by differential changes in brain structure. *Neuroimage. Neurology* 47:1141–1147. # 55. # 1228
- Dressler D (2004) Clinical Presentation and Management of Antibody-Induced Failure of Botulinum Toxin Therapy. *Mov Disord* 8:92–100
- Dressler D (2009) Routine use of Xeomin® in patients pretreated with Botox®. *Eur J Neurol* 16:2–5
- Dressler D (2012) Five-year experience with incobotulinumtoxinA (Xeomin®): the first botulinum toxin drug free of complexing proteins. *European Journal of Neurology* 19:385–389.
- Dressler D, Benecke R (2003) Autonomic side-effects of botulinum toxin type B treatment of cervical dystonia and hyperhidrosis. *European Journal of Neurology* 49:34–38
- Dressler D, Bigalke H (2017) Immunological Aspects of Botulinum Toxin Therapy. *Expert Rev Neurother* 17:487–494
- Dressler D, Bigalke H (2002) Botulinum Toxin Antibody Type A Titres after Cessation of Botulinum Toxin Therapy. *Mov Disord* 17:170–173
- Dressler D, Pan L, Adib Saberi F (2018) Antibody-Induced Failure of Botulinum Toxin Therapy: Re-Start with Low-Antigenicity Drugs Offers a New Treatment Opportunity. *J Neural Transm* 125:1481–1486
- Dressler D, Zettl U, Benecke R, Bigalke H (2000) Can Intravenous Immunoglobulin Improve Antibody-Mediated Botulinum Toxin Therapy Failure? *Mov Disord* 15:1279–1281
- Egger K, Mueller J, Schocke M (2007) Voxel based morphometry reveals specific gray matter changes in primary dystonia. *Mov Disord* 22:1538–1542
- Eisele KH, Fink K, Vey M, Taylor H (2011) Studies on the dissociation of botulinum neurotoxin type A complexes. *Toxicon* 57:555–565
- Eisele KH, Taylor HV (2008) Dissociation of the 900 kDa neurotoxin complex from C. botulinum under physiological conditions. *Toxicon* 51 Mar 15;57(4):555–65.
- Elble RJ (2013) Defining dystonic tremor. *Curr Neurol Neuropharmacol* 11:48–52. <https://doi.org/10.2174/157015913804999478>
- Eleopora R, Tugnoli V, Rossetto O (1998) Different time courses of recovery after poisoning with botulinum neurotoxin serotypes A and E in humans. *Neuroscience Letters* 256:135–138
- Eleopora R, Tugnoli V, DeGrandis D (1997) The variability of the clinical effect induced by botulinum toxin type A: the role of muscle activity in humans. *Movement Disorders* 12:89–94
- Eleopora R, Tugnoli V, Quatralo R, Rossetto O, Montecucco C (2004) Different types of botulinum toxin in humans. *Movement Disorders* 19:53–59

- Erbguth FJ, Naumann M (1999) Historical aspects of botulinum toxin: Justinus Kerner (1786–1862) and the “sausage poison.” *Neurology* 53:1850–1853
- Fabbri M, Leodori G, Fernandes RM, Bhidayasiri R, Marti MJ, Colosimo C, Ferreira JJ (2016) Neutralizing Antibody and Botulinum Toxin Therapy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Neurotox Res* 29:105–117
- Fahn S (1984) Concept and classification of dystonia. *Adv Neurol*. In: The varied clinical expressions of dystonia. *Neurol Clinics*. pp 541–554
- Fahn S (1989) Clinical variants of idiopathic torsion dystonia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry (Suppl)*:# 100:96-100. # 4. # 481
- Ferreira JJ, Colosimo C, Bhidayasiri R, Marti MJ, Maisonobe P, Om S (2015) Factors influencing secondary non-response to botulinum toxin type A injections in cervical dystonia. *Parkinsonism Relat Disord* 21:111–115
- Filippi GM, Errico P, Santarelli R, Bagolini B, Manni E (1993) Botulinum A toxin effects in rat jaw muscle spindles. *Acta Otolaryngology* 113:400–404
- Fon EA, Edwards RH (2001) Molecular mechanisms of neurotransmitter release. *Muscle Nerve* 24:581–601
- Frevert J (2015) Pharmaceutical, biological, and clinical properties of botulinum neurotoxin type A products. *Drugs R D* 15:1–9
- Frevert J (2010) Content of botulinum neurotoxin in Botox®/ Vistabel®, Dysport®/Azzalure®, and Xeomin®/Boouture®. *Drugs R D* 10:67–73
- Frevert J, Dressler D (2010) Complexing Proteins in Botulinum Toxin Type A Drugs: A Help or a Hindrance? *Biologics* 4:325–332
- Fuchs T, Saunders-Pullman R, Masuho I (2013) Mutations in GNAL cause primary torsion dystonia. *Nat Genet* 45:88–92
- Galardi G, Perani D, Grassi F (1996) Basal ganglia and thalamo-cortical hypermetabolism in patients with spasmodic torticollis. *Acta Neurol Scand* 94:172–176
- Glass GA, Ku S, Ostrem JL, Heath S, Larson PS (2009) Fluoroscopic, EMG-guided injection of botulinum toxin into the longus colli for the treatment of anterocollis. *Parkinsonism Relat Disord*. *Parkinsonism Relat Disord* 15:610-613. # 75. # S20
- Göschel H, Wohlfarth K, Frevert J, Dengler R, Bigalke H (1997) Botulinum A Toxin Therapy: Neutralizing and Nonneutralizing Antibodies—Therapeutic Consequences. *Exp Neurol* 147:96–102
- Gottlieb S (2008) Biosimilars: Policy, Clinical, and Regulatory Considerations. *Am J Health Syst Pharm* 65:2–8
- Greene P, Fahn S, Diamond B (1994) Development of resistance to botulinum toxin type A in patients with torticollis. *Mov Disord* 9:213–217

- Grein S, Mander GJ, Taylor HV (2008) Xeomin® is stable without refrigeration: complexing proteins are not required for stability of botulinum toxin type A preparations. *Toxicon* 51:13, June 2008, p.13
- Gundersend CB, Howar BD (1978) The effects of botulinum toxin on acetylcholine metabolism in mouse brain slices and synaptosomes. *Journal of Neurochemistry* 31:1005–1013
- Hagenah R, Benecke R, Wiegand H (1977) Effects of type A botulinum toxin on the cholinergic transmission at spinal Renshaw cells and on the inhibitory action at Ia inhibitory interneurons. *Naunyn Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 299:267–272
- Hallett M (2002) Effects of botulinum toxin at the neuromuscular junction. *Scientific and Therapeutic Aspects of Botulinum Toxin* Philadelphia, PA: Lippincott, Williams & Wilkins 167–70
- Hallett M, Benecke R, Blitzer A, Comella CL (2009) Treatment of focal dystonias with botulinum neurotoxin. *Toxicon*. 54:628–633
- Hambleton P, Cohen HE, Palmer BJ, Melling J (1992) Antitoxins and botulinum toxin treatment. *BMJ* 304:959–960
- Hanna PA, Jankovic J (1998) Mouse Bioassay versus Western Blot Assay for Botulinum Toxin Antibodies: Correlation with Clinical Response. *Neurology* 1998 Jun;50(6):1624-9
- Haridas, A., Tagliati, M., Osborn, I., Isaias, I., Gologorsky, Y., Bressman, S. B., ... & Alterman, R. L. (2011). Pallidal deep brain stimulation for primary dystonia in children. *Neurosurgery*, 68(3), 738-743
- Hatheway CL, Dang C (1994) Immunogenicity of the neurotoxins of *Clostridium botulinum*. In: Jankovic J, Hallett M (eds) *Therapy with botulinum toxin*. Marcel Dekker, New York, pp 93–108
- Hawley JS, Weiner WJ (2011) Psychogenic dystonia and peripheral trauma. *Neurology* 77:496- # 31.
- Hay JC (2001) SNARE complex structure and function. *Exp Cell Res* 271:10–21
- Hefter H, Brauns R, Ürer B, Rosenthal D, Albrecht P (2020a) Effective long-term treatment with incobotulinumtoxin A (Xeomin®) without neutralizing antibody induction: a monocentric, crosssectional study. *J Neurol* 267:1340–1347
- Hefter H, Hartmann C, Kahlen U, Moll M, Bigalke H. Prospective analysis of neutralising antibody titres in secondary non-responders under continuous treatment with a botulinumtoxin type A preparation free of complexing proteins--a single cohort 4-year follow-up study. *BMJ Open*. 2012 Aug 4;2(4):e000646.
- Hefter H, Hartmann CJ, Kahlen U, Samadzadeh S, Rosenthal D, Moll M (2021a) Clinical improvement after treatment with incobotulinumtoxinA (XEOMIN®) in patients with cervical dystonia resistant to botulinum toxin preparations containing complexing proteins. *Frontiers in Neurology* 12:636590

- Hefter H, Kahlen U, Menge TR, Rosenthal D, Moll M (2012b) Impact of posterior deep neck muscle treatment on cervical dystonia: Necessity to differentiate between abnormal positions of head and neck. *Basal Ganglia* 2:103–107
- Hefter H, Rosenthal D, Bigalke H, Moll M. Clinical relevance of neutralizing antibodies in botulinum toxin long-term treated still-responding patients with cervical dystonia. *Ther Adv Neurol Disord*. 2019 Dec 16;12
- Hefter H, Rosenthal D, Jansen A, Brauns R, Ürer B, Bigalke H, Hartung H-P, Meuth SG, Lee J-I, Albrecht P, Samadzadeh S (2022a) Significantly lower antigenicity of incobotulinumtoxin than abo- or onabotulinumtoxin. *J Neurol*.
- Hefter H, Rosenthal D, Moll M (2016) High Botulinum Toxin-Neutralizing Antibody Prevalence Under Long-Term Cervical Dystonia Treatment. *Mov Disord Clin Pract* 3:500–506
- Hefter H, Samadzadeh S, Moll M. Transient Improvement after Switch to Low Doses of RimabotulinumtoxinB in Patients Resistant to AbobotulinumtoxinA. *Toxins (Basel)*. 2020 Oct 27;12(11):677.
- Hefter H, Schomaecker I, Schomaecker M, Samadzadeh S. Disease Progression of Idiopathic Cervical Dystonia in Spite of Improvement After Botulinum Toxin Therapy. *Front Neurol*. 2020 Nov 12;11:588395
- Hefter H, Schomaecker I, Schomaecker M, Rosenthal D, Samadzadeh S. The Use of High Initial Doses of Botulinum Toxin Therapy for Cervical Dystonia Is a Risk Factor for Neutralizing Antibody Formation-A Monocentric Cross-Sectional Pilot Study. *Medicina (Kaunas)*. 2022 Jan 7;58(1):88.
- Hefter H, Schomaecker I, Schomaecker M, Rosenthal D, Samadzadeh S. The Impact of the Course of Disease before Botulinum Toxin Therapy on the Course of Treatment and Long-Term Outcome in Cervical Dystonia. *Toxins (Basel)*. 2021 Jul 16;13(7):493
- Hefter H, Spiess C, Rosenthal D (2014) Very early reduction in efficacy of botulinum toxin therapy for cervical dystonia in patients with subsequent secondary treatment failure: a retrospective analysis. *J Neural Trans (Vienna)* 121:513–519
- Hefter H, Ürer B, Brauns R, Rosenthal D, Meuth SG, Lee J-I, Albrecht P, Samadzadeh S (2022b) The complex relationship between antibody titers and clinical outcome in botulinum toxin type A long-term treated patients with cervical dystonia. *J Neurol*. <https://doi.org/10.1007/s00415-022-11235-3>
- Hefter H, Ürer B, Brauns R, Rosenthal D, Meuth SG, Lee J-I, Albrecht P, Samadzadeh S (2022c) Significant Long-Lasting Improvement after Switch to Incobotulinum Toxin in Cervical Dystonia Patients with Secondary Treatment Failure. *Toxins (Basel)* 14:44.
- Hesse S, Reiter F, Konrad M, Jahnke MT (1998) Botulinum toxin type A and short-term electrical stimulation in the treatment of upper limb flexor spasticity after stroke: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clinical Rehabilitation* 12:381–388

- Holton JL, Schneider SA, Ganesharajah T (2008) Neuropathology of primary adult-onset dystonia. *Neurology* 70:695–699
- Ibrahim NM, Martino D, van de Warrenburg BP (2009) The prognosis of fixed dystonia: A followup study. *Parkinsonism Relat Disord* 32
- Jankovic J. Medical treatment of dystonia. *Mov Disord*. 2013 Jun 15;28(7):1001-12.
- Jankovic J, Hunter C, Dolimbek BZ, Dolimbek GS, Adler CH, Brashear A, Comella CL, Gordon M, Riley DE, Sethi K (2006) Clinico-Immunologic Aspects of Botulinum Toxin Type B Treatment of Cervical Dystonia. *Neurology* 67:2233–2235
- Jankovic J, Leder S, Warner D, Schwartz K (1991) Cervical dystonia: clinical findings and associated movement disorders. *Neurology* 41:1088–1091.
- Jankovic J, Schwartz K (1995) Response and Immunoresistance to Botulinum Toxin Injections. *Neurology* 45:1743–1746
- Jankovic J, Truong D, Patel AT, Brashear A, Evatt M, Rubio RG, Oh CK, Snyder D, Shears G, Comella C (2018) Injectable DaxibotulinumtoxinA in Cervical Dystonia: A Phase 2 Dose-Escalation Multicenter Study. *Mov Disord Clin Pract* 5:273–282
- Jankovic J, Vuong KD, Ahsan J (2003) Comparison of Efficacy and Immunogenicity of Original versus Current Botulinum Toxin in Cervical Dystonia. *Neurology* 60:1186–1188
- Joshi SG, Elias M, Singh A, Al-Saleem FH, Ancharski D, Nasser Z, Takahashi T, Simpson LL (2011) Modulation of Botulinum Toxin-Induced Changes in Neuromuscular Function with Antibodies Directed against Recombinant Polypeptides or Fragments. *Neuroscience* 179:208–222
- Jost WH, Blümel J, Grafe S (2007) Botulinum neurotoxin type A free of complexing proteins (XEOMIN) in focal dystonia. *Drugs* 67:669–683.
- Jost WH, Friedman A, Michel O (2019) SIAxi: placebo-controlled, randomized, double-blind study of incobotulinumtoxinA for sialorrhea. *Neurology* 92:1982–1991
- Kabakci K, Hedrich K, Leung JC (2004) Mutations in DYT1: extension of the phenotypic and mutational spectrum. *Neurology* 62:395-400. # 34.
- Kaji R (2002) Muscle afferent block for dystonia: implications for the physiologic mechanism of action of botulinum toxin. In: *Therapeutic Aspects of Botulinum Toxin*. Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia, pp 455–459
- Kerner, J. Vergiftung durch verdorbene Würste, *Tübinger Blätter Naturwissenschaften Arzneykunde* 1817:3:1-25.
- Kerner, J. Neue Beobachtungen über die in Württemberg so häufig vorkommenden tödlichen Vergiftungen durch den Genuss geräucherter Würste. Tübingen: Osiander. 1820
- Kerner, J. Das Fettgift oder die Fettsäure und ihre Wirkung auf den thierischen Organismus, ein Beytrag zur Untersuchung des in verdorbenen Würsten giftig wirkenden Stoffes. Stuttgart Tübingen: Cotta 1822.

- Kessler KR, Skutta M, Benecke R, Group GDS (1999b) Long-Term Treatment of Cervical Dystonia with Botulinum Toxin A: Efficacy, Safety, and Antibody Frequency. *J Neurol* 246:265–274
- Kiss ZH, Doig-Beyaert K, Eliasziw M, Tsui J, Haffenden A, Suchowersky O (2007) The Canadian multicentre study of deep brain stimulation for cervical dystonia. *Brain* 130:2879–2886
- Kitamura M (1976) Binding of botulinum neurotoxin to the synaptosome fraction of the rat brain. *Naunyn Schmiedeber's Archives of Pharmacology* 295:171–175
- Koman LA, Mooney JF I Smith, B. (1993) Management of cerebral palsy with botulinum-A toxin: preliminary investigation. *J Pediatr Orthop* 13:489–495
- Kranz GS, Sycha T, Voller B, Kranz GS, Schnider P, Auff E (2008) Neutralizing Antibodies in Dystonic Patients Who Still Respond Well to Botulinum Toxin Type A. *Neurology* 70:133–136
- Kukreja R, Chang TW, Cai S, Lindo P, Riding S, Zhou Y, Ravichandran E, Singh BR (2009) Immunological Characterization of the Subunits of Type A Botulinum Neurotoxin and Different Components of Its Associated Proteins. *Toxicon* 53:616–624
- Lalli S, Albanese A (2010) The diagnostic challenge of primary dystonia: evidence from misdiagnosis. *Mov Disord* 25:1619-1626.# 23.
- Lange O, Bigalke H, Dengler R, Wegner F, DeGroot M, Wohlfarth K (2009) Neutralizing Antibodies and Secondary Therapy Failure after Treatment with Botulinum Toxin Type A: Much Ado about Nothing? *Clin Neuropharmacol* 32:213–218
- LeDoux MS, Brady KA (2003) Secondary cervical dystonia associated with structural lesions of the central nervous system. *Mov Disord* 18:60–69
- LeDoux MS, Xiao J, Rudzinska M (2012) Genotype-phenotype correlations in THAP1 dystonia: molecular foundations and description of new cases. *Parkinsonism Relat Disord* 18:414
- Lee JC, Yokota K, Arimitsu H, Hwang HJ, Sakaguchi Y, Cui J, Takeshi K, Watanabe T, Ohyama T, Oguma K (2005) Production of Anti-Neurotoxin Antibody Is Enhanced by Two Subcomponents, HA1 and HA3b, of Clostridium Botulinum Type B 16S Toxin-Haemagglutinin. *Microbiology* 151:3739–3747
- Lee K, Zhong X, Gu S (2014) Molecular basis for disruption of E-cadherin adhesion by botulinum neurotoxin A complex. *Science* 344:1405–1410
- Leube B, Kessler KR, Goecke T, Auburger G, Benecke R (1997) Frequency of familial inheritance among 488 index patients with idiopathic focal dystonia and clinical variability in a large family. *Mov Disord* 12:1000–1006
- Limotai N, Go C, Oyama G (2011) Mixed results for GPi-DBS in the treatment of cranio-facial and cranio-cervical dystonia symptoms. *J Neurol* 258:2069–2074
- Lohmann K, Klein C. Genetics of dystonia: what's known? What's new? What's next? *Mov Disord*. 2013 Jun 15;28(7):899-905
- Ma K, Babij R, Cortés E, Vonsattel JP, Louis ED. Cerebellar pathology of a dual clinical diagnosis:

- patients with essential tremor and dystonia. *Tremor Other Hyperkinet Mov (N Y)*. 2012;2:trem-12-107-677
- Magyar-Lehman S, Antonini A, Roelcke U (1997) Cerebral glucose metabolism in patients with spasmodic torticollis. *Mov Disord* 12:704–708
- Mahant N, Clouston PD, Lorentz IT (2000) The current use of botulinum toxin. *J Clin Neurosci* 7:389–394
- Mejia NI, Vuong KD, Jankovic J (2005) Long-Term Botulinum Toxin Efficacy, Safety, and Immunogenicity. *Mov Disord* 20:592–597
- Mezaki T, Kaji R, Hamano T, Nagamine T, Shibasaki H, Shimizu T, Kimura J (1994) Optimisation of botulinum treatment for cervical and axial dystonias: experience with a Japanese type A toxin. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 57:1535–1537
- Mezaki T, Kaji R, Kohana N (1995) Comparison of the genetic efficacies of Type A and F botulinum toxins for blepharospasm: a double-blind, controlled study. *Neurology* 45:506–508
- Mizel SB, Bates JT (2010) Flagellin as an adjuvant: cellular mechanisms and potential. *J Immunol* 185:5677–82.
- Mohammadi B, Buhr N, Bigalke H, Krampfl K, Dengler R, Kollwe K (2009) A long-term follow-up of botulinum toxin A in cervical dystonia. *Neurol Res* 31:463–466. <https://doi.org/10.1179/1743132>
- Molho ES, Feustel PJ, Factor SA (1998) Clinical comparison of tardive and idiopathic cervical dystonia. *Mov Disord* 13:486–489
- Monheit GD, Pickett A (2017) AbobotulinumtoxinA: A 25-Year History. *Aesthetic Surgery Journal* 37:S4–S11.
- Montecucco C, Schiavo G, Rossetto O (1996) The mechanism of action of tetanus and botulinum neurotoxins. *Arch Toxicol Suppl* 18:342–354
- Moreno-Lopez B, Pastor AM, De la Cruz RR, DelgadoGarcia JM (1977) Dose- dependent central effects of botulinum neurotoxin type A: a pilot study in the alert behaving cat. *Neurology* 48:456–464
- Moro E, Gross RE, Krauss JK. What's new in surgical treatment for dystonia? *Mov Disord*. 2013 Jun 15;28(7):1013-20.
- Naumann M, Boo LM, Ackerman AH, Gallagher CJ (2013) Immunogenicity of Botulinum Toxins. *J Neural Transm* 120:275–290
- Naumann M, Jost W (2004) Botulinum toxin treatment of secretory disorders. *Movement Disorders* 19:137–141
- Neychev VK, Gross R, Lehericy S, Hess EJ, Jinnah HA (2011) The functional neuroanatomy of dystonia. *Neurobiol Dis* 42:185-201.# 51.

- O’Riordan S, Hutchinson M (2004) Cervical dystonia following peripheral trauma--a case-control study. *J Neurol* 251:150–155
- Oshima M, Deitiker P, Jankovic J, Atassi MZ (2018) The Regions on the Light Chain of Botulinum Neurotoxin Type A Recognized by T Cells from Toxin-Treated Cervical Dystonia Patients. The Complete Human T-Cell Recognition Map of the Toxin Molecule. *Immunol Investig* 47:18–39
- Panjwani N, O’Keeffe R, Pickett A (2008) Biochemical, functional and potency characteristics of type A botulinum toxin in clinical use. *Botulinum J* 1:153–166
- Pantano P, Totaro P, Fabbrini G (2010) A transverse and longitudinal MR imaging voxel-based morphometry study in patients with primary cervical dystonia. *AJNR Am J Neuroradiol* 32:81-84.# 57.
- Perlmutter JS, Mink JW (2006) Deep brain stimulation. *Annu Rev Neurosci* 29:229-257.# p. 393
- Prudente CN, Pardo CA, Xiao J (2012) Neuropathology of cervical dystonia. *Exp Neurol* 241:95–104
- Quinn NP, Schneider SA, Schwingenschuh P, Bhatia KP (2011) Tremor - some controversial aspects. *Mov Disord* 26:18-23. # 22.
- Ranoux D, Gury C, Fondarai J, Mas JL, Zuber M (2002) Respective Potencies of Botox and Dysport: A Double Blind, Randomised, Crossover Study in Cervical Dystonia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 72:459–462
- Revuelta GJ, Benatar M, Freeman A (2011) Clinical subtypes of anterocollis in parkinsonian syndromes. *J Neurol Sci* 315:100-103. # 30.
- Rivest J, Quinn N, Marsden CD (1990) Dystonia in Parkinson’s disease, multiple system atrophy, and progressive supranuclear palsy. *Neurology* 40:1571-1578.# 29.
- Roggenkämper P, Jost WH, Bihari K, Comes G, Grafe S (2006) Efficacy and safety of a new botulinum toxin type A free of complexing proteins in the treatment of blepharospasm. *Journal of neural transmission* 113:303–312
- Romanov A, Pokushalov E, Ponomarev D, Bayramova S, Shabanov V, Losik D, Stenin I, Elesin D, Mikheenko I, Strelnikov A (2019) Long-term suppression of atrial fibrillation by botulinum toxin injection into epicardial fat pads in patients undergoing cardiac surgery: Three-year follow-up of a randomized study. *Hear Rhythm* 16:172–177
- Rondot P, Marchand MP, Dellatorlas G (1991) Spasmodic torticollis-review of 220 patients. *Can J Neurol Sci* 18:143-151.#48
- Rosales RL, Arimura K, Takenaga S, Osame M (1996) Extrafusar and intrafusar muscle effects in experimental botulinum toxin-A injection. *Muscle and Nerve* 19:488–496
- Rosales RL, Santos MM, Ng AR, Teleg R, Dantes M, Lee LV, Fernandez HH. The broadening application of chemodenervation in X-linked dystonia-parkinsonism (Part I): muscle afferent block versus botulinum toxin-A in cervical and limb dystonias. *Int J Neurosci*. 2011;121 Suppl 1:35-43

- Ruiz PJG, Castrillo JCM, Burguera JA, Campos V, Castro A, Cancho E, Chacón J, Vara JH, del Val JL, Garcia EL, Miquel F, Sanz P, Vela L (2011) Evolution of dose and response to botulinum toxin A in cervical dystonia: a multicenter study. *J Neurol* 258:1055–1057.
- Sadnicka A, Hoffland BS, Bhatia KP, van de Warrenburg BP, Edwards MJ (2012) The cerebellum in dystonia - Help or hindrance? *Clin Neurophysiol* 123:65-70.# 53.
- Samadzadeh S, Ürer B, Brauns R, Rosenthal D, Lee JI, Albrecht P, Hefter H. Clinical Implications of Difference in Antigenicity of Different Botulinum Neurotoxin Type A Preparations: Clinical Take-Home Messages from Our Research Pool and Literature. *Toxins (Basel)*. 2020 Aug 4;12(8):499
- Sankhla C, Jankovic J, Duane D (1998) Variability of the Immunologic and Clinical Response in Dystonic Patients Immuno-resistant to Botulinum Toxin Injections. *Mov Disord* 13:150–154
- Schiavo G, Benfenati F, Poulain B (1992) Tetanus and botulinum toxin-B neurotoxins block neurotransmitter release by proteolytic cleavage of synaptobrevin. *Nature* 359:832–835
- Schiavo G, Matteoli M, Montecucco C (2000) Neurotoxins affecting neuroexocytosis. *Physiological Reviews* 80:717–766
- Schiavo G, Shone CC, Rossetto O, Alexander FC, Montecucco C (1993) Botulinum neurotoxin-F is a zinc endopeptidase specific for VAMP/synaptobrevin. *Journal of Biological Chemistry* 268:11516–11519
- Schiebler, S. in cervical dystonia-Is it a manifestation of dystonia or essential tremor? *Movement Disorders*, 26(10), 1789-1792, Schmidt, A., Zittel, S., Bäumer, T., Gerloff, C., Klein, C., & Münchau, A. (2011). Arm tremor
- Schrag A, Trimble M, Quinn N, Bhatia K (2004) The syndrome of fixed dystonia: an evaluation of 103 patients. *Brain* 127:2360-2372.# 33.
- Sethi KD, Rodriguez R, Olayinka B (2012) Satisfaction with Botulinum Toxin Treatment: A Cross-Sectional Survey of Patients with Cervical Dystonia. *J Med Econ* 15:419–423
- Simpson DM, Hallett M (2016) Practise guideline update summary: Botulinum neurotoxin for the treatment of blepharospasm, cervical dystonia, adult spasticity, and headache: report of the Guideline. Development Subcommittee of the American Academy of Neurology *Neurology* 86:1818–1826
- Simpson LL, Coffield JA, Bakry N (1993) Chelation of zinc antagonizes the neuromuscular blocking properties of the seven serotypes of botulinum neurotoxin as well as tetanus toxin. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 267:720–727
- Simpson LL, Maksymowych AB, Hao S (2001) The role of zinc binding in the biological activity of botulinum toxin. *Journal of Biological Chemistry* 276:27034–27041
- Singer C, Velickovic M (2008) Cervical dystonia: Etiology and pathophysiology. *Neurol Clin* 26:9-22. # 28.

- Skogseid IM, Kerty E (2005) The course of cervical dystonia and patient satisfaction with long-term botulinum toxin A treatment. *Eur J Neurol* 12:163-170.# 72.
- Sloop RR, Cole BA, Escutin RO (1997) Human response to botulinum toxin injection: Type B compared with type A. *Neurology* 49:189–94
- Standaert DG (2011) Update on the pathology of dystonia. *Neurobiol Dis.* 42:148–151
- Stojanovic M, Cvetkovic D, Kostic VS (1995) A genetic study of idiopathic focal dystonias. *J Neurol* 242:508–511
- Tassorelli C, Mancini F, Balloni L (2006) Botulinum toxin and neuromotor rehabilitation: An integrated approach to idiopathic cervical dystonia. *Mov Disord* 21:2240–2243
- Tsui JK, Eisen A, Mak E (1985) A pilot study on the use of botulinum toxin in spasmodic torticollis. *Can J Neurol Sci* 12:314–316
- Van Kooyk Y (2008) C-type lectins on dendritic cells: key modulators for the induction of immune responses. *Biochemical Society Transactions* 36:1478–1481
- van Rooijen DE, Geraedts EJ, Marinus J, Jankovic J, van Hilten JJ. Peripheral trauma and movement disorders: a systematic review of reported cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2011 Aug;82(8)
- Vemula SR, Puschmann A, Xiao J, Zhao Y, Rudzińska M, Frei KP, Truong DD, Wszolek ZK, LeDoux MS. Role of Gα(olf) in familial and sporadic adult-onset primary dystonia. *Hum Mol Genet.* 2013 Jun 15;22(12):2510-9.
- Wabbels B, Reichel G, Fulford-Smith A (2011) parallel group pilot study comparing two botulinum toxin type A products for the treatment of blepharospasm. *J Neural Transm (Vienna)* 118:233–239
- Waddy HM, Fletcher NA, Harding AE, Marsden CD (1991) A genetic study of idiopathic focal dystonias. *Ann Neurol* 29:320–324
- Waln O, LeDoux MS. Blepharospasm plus cervical dystonia with predominant anterocollis: a distinctive subphenotype of segmental craniocervical dystonia? *Tremor Other Hyperkinet Mov* 2011;1
- Wiegand H, Erdmann G, Wellhoner HH (1976) 125I-labelled botulinum a neurotoxin: pharmacokinetics in cats after neuromuscular injection. *Naunyn Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 292:161–165
- Wissel J, Bensmail D, Ferreira JJ, Molteni F, Satkunam L, Moraleda S, Rekand T, McGuire J, Scheschonka A, Flatau-Baqué B (2017) Safety and Efficacy of IncobotulinumtoxinA Doses up to 800 U in Limb Spasticity: The TOWER Study. *Neurology* 88:1321–1328
- Wohlfarth K, Muller C, Sassin I (2007) Neurophysiological double-blind trial of a botulinum neurotoxin type a free of complexing proteins. *Clin Neuropharmacol* 30:86–94
- Xiao J, Bastian RW, Perlmutter JS (2009) High-throughput mutational analysis of TOR1A in primary dystonia. *BMC Med Genet.* 2009 Mar 11;10:24.

- Xiao J, Uitti RJ, Zhao Y (2012) Mutations in CIZ1 cause adult onset primary cervical dystonia. *Ann Neurol* 71:458–469
- Yoon S, Kurnasov O, Natarajan V, Hong M, Gudkov AV, Osterman AL, Wilson IA (2012) Structural Basis of TLR5-Flagellin Recognition and Signaling. *Science* 335:859–864
- Zetterberg L, Halvorsen K, Farnstrand C, Aquilonius SM, Lindmark B (2008) Physiotherapy in cervical dystonia: six experimental single-case studies. *Physiother Theory Pract* 24:275–290
- Zuber M, Sebald M, Bathien N, de Recondo J, Rondot P (1993) Botulinum antibodies in dystonic patients treated with type A botulinum toxin: frequency and significance. *Neurology* 43:1715–1718

## 6. Anhang

### 6.1. Abbildungsverzeichnis

|              |    |
|--------------|----|
| Abb. 1:..... | 30 |
| Abb. 2:..... | 31 |
| Abb. 3:..... | 32 |
| Abb. 4:..... | 34 |
| Abb. 5:..... | 38 |
| Abb. 6:..... | 43 |
| Abb. 7:..... | 45 |
| Abb. 8:..... | 50 |

## 6.2. Tabellenverzeichnis

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tab. 1:</b> Mit Hilfe einer 3-Gruppen-ANOVA wird verglichen, ob für die in der linken Spalte aufgeführten Parameter sich signifikante Unterschiede zwischen den 3 verschiedenen Untergruppen (RO-, CO-, DO-Gruppe) des Kollektivs ergeben. Die für die Parameter benutzten Abkürzungen in der ganz linken Spalte werden in den Methoden erläutert. Das Signifikanzniveau des Vergleiches findet sich in der ganz rechten Spalte. Die Spalte „Alle“ präsentiert die Daten des Gesamtkollektivs. w=weiblich, m=männlich, MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, n.s.=nicht signifikant. .... | 37 |
| <b>Tab. 2:</b> Mit Hilfe einer 3-Gruppen-ANOVA wird verglichen, ob für die in der linken Spalte aufgeführten Parameter sich signifikante Unterschiede zwischen den 3 verschiedenen Untergruppen (RR-, CR-, DR-Gruppe) des Kollektivs ergeben. Die für die Parameter benutzten Abkürzungen in der ganz linken Spalte werden in den Methoden erläutert. Das Signifikanzniveau des Vergleiches findet sich in der ganz rechten Spalte. Die Spalte „Alle“ präsentiert die Daten des Gesamtkollektivs. w=weiblich, m=männlich, MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, n.s.=nicht signifikant. .... | 40 |
| <b>Tab. 3:</b> Rang-Korrelationskoeffizienten von 15 erhobenen Parametern untereinander sind oberhalb der Diagonalen dargestellt. Von den Korrelationskoeffizienten, die signifikant von 0 verschieden sind, sind unterhalb der Diagonalen die Signifikanzniveaus angegeben. Die Abkürzungen der 15 Parameter sind in den Methoden erläutert worden. ....                                                                                                                                                                                                                                    | 42 |
| <b>Tab. 4:</b> Eine Gruppe von 11 Patienten mit sekundärem Therapieversagen, ONA-Vorbehandlung und Umstellung auf Xeomin® wird verglichen einerseits mit einem Kollektiv von 48 Patienten mit sekundärem Therapieversagen, ABO-Vorbehandlung und Umstellung auf Xeomin® und andererseits mit 34 Patienten, die nur mit Xeomin® behandelt wurden. Die verglichenen Parameter sind in den Methoden erläutert worden. Die Signifikanzniveaus der 3-Vergleiche finden sich in den 3 rechten Spalten. ....                                                                                        | 47 |

## 7.) Abkürzungsverzeichnis/ Abbreviations

Abobotulinumtoxin- ABOBoNT/A (Dysport ®, Ypson)

ADOSE- actual dose at day of recruitment

AGE- age at day of recruitment

AOFD- adult-onset of focal dystonia

AOS- age at onset

AOT=age at onset of therapy

ATSUI- actual TSUI-score at day of recruitment

BDOSE- dose at best TSUI

BL- blepharospasm

BTSUI- best TSUI while therapy

CD- cervical dystonia, cervicale Dystonie

CDQ24- questionnaire with 24 items concerning quality of life in CD

CO- continous onset

CoAD- drawing of the course of disease from onset of BoNT therapy to recruitment

CoBD- drawing of the course of disease from onset of symptoms to onset of therapy

CoD- course of disease

CP- complex proteins

CR- continous response

CSTF=complete secondary treatment failure

DBS- deep brain stimulation

DO- delayed onset

DR- delayed response

DURS- time from onset of symptoms to therapy (DURS=AOT-AOS)

DURT- duration of therapy

FDA- food and drug administration

HOPS- head position

HTRE- head tremor,

IDOSE- initial dose at the beginning of therapy

IMPD- improvement according to drawing

IMPQ- improvement according to questionnaire

Incobotulinumtoxin-INCOBoNT/A (Xeomin ®, Merz)

INDOSE- increase of dose during BoNT therapy  
 ITSUI- ITSUI=initial TSUI-score at onset of therapy  
 kDA- kiloDalton  
 LD 50- median lethal dose  
 MHDA- mouse hemidiaphragm assay  
 MLA- mouse lethality assay  
 (m)U- (mouse) Unit  
 MW- average  
 N-CAM- neuronal cell- adhesion molecules  
 NAB- neutralizing antibodies, neutralisierende Antikörper  
 NAP- neutrophil activating protein  
 OMD- oromandibular dystonia  
 Onabotulinumtoxin-ONABoNT/A ( Botox ®, Allergan)  
 PET-Positron-Emission-Tomography  
 PNR- primary non response  
 PSTF=partial secondary treatment failure  
 Rimabotulinumtoxin- BoNT/B (Myobloc ®, Neurobloc ®)  
 RMOB- reduced mobility of the head  
 RO- rapid onset  
 RR- rapid response  
 SD- standard deviation  
 SDOSE- switch dose  
 SNAP-25 synaptosomal associated protein  
 SNARE-soluble n-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor)  
 SNR- secondary non response  
 STF-secondary treatment failure  
 STROBE- strengthening the reporting of observational studies in epidemiology-  
 Kriterien für good clinical practice)  
 STSUI- switch TSUI  
 TLR5- toll like receptor 5  
 TPAR- time of paralysis  
 TTB- time till best TSUI  
 TTS- time to switch

TWSTRS=Toronto Western Spasmodic Torticollis Rating Scale

uDU- unified dose units, vereinheitlichte Dosen

VAMP-vesicle associated membrane protein

VBM-voxelbasierte Morphometrie