

# Eficácia e tolerabilidade de uma nova toxina botulínica tipo A para tratamento estético de rugas faciais dinâmicas: estudo multicêntrico prospectivo de fase III

## *Efficacy and Tolerability of a New Botulinum Toxin Type A for Cosmetic Treatment of Dynamic Facial Wrinkles: a Prospective, Phase III, Multicenter Study*

### Autores:

Lydia Masako Ferreira MD, PhD<sup>1</sup>  
Sergio Talarico Filho MD<sup>2</sup>  
Rosane Orofino Costa MD, PhD<sup>3</sup>  
Alaor Godoy MD<sup>4</sup>  
Denise Steiner MD, PhD<sup>5</sup>  
Lia Fleissig MD<sup>1</sup>  
Sidney Mamoro Keira MD, PhD<sup>1</sup>  
Carla Percora MD<sup>2</sup>  
Edileia Bagatin MD, PhD<sup>2</sup>  
Karime Hassun MD, PhD<sup>2</sup>  
Isabel Cristina Succi MD, PhD<sup>3</sup>  
Andrea Godoy MD<sup>4</sup>  
Cristiano Horta Lima Júnior MD<sup>5</sup>  
Tatiana Aline Steiner MD<sup>5</sup>  
Leila Blanes RN<sup>1</sup>  
Fernanda Hidemi Sakamoto MD<sup>6</sup>  
Érica de Oliveira Monteiro MD<sup>1,6</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Cirurgia Plástica – Universidade Federal de São Paulo

<sup>2</sup> Departamento de Dermatologia – Universidade Federal de São Paulo

<sup>3</sup> Departamento de Dermatologia – Universidade Federal do Rio de Janeiro

<sup>4</sup> Clínico Privado, São Paulo

<sup>5</sup> Departamento de Dermatologia, Faculdade de Medicina de Jundiaí

<sup>6</sup> Consultor para Dermatologia do Patrocinador do Estudo

### Correspondência para:

Érica de Oliveira Monteiro, MD  
Rua Princesa Isabel, 1721, Campo  
Belo SP/SP 04674-110 Brasil  
Fone/fax: +55 11 50441064  
E-mail: erica@dermatologia.com.br

Recebido em (Received on) 19/02/2009.  
Aprovado (Approved on) pelo Conselho Consultivo em 08/05/2009. O estudo foi patrocinado por Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda., uma empresa farmacêutica brasileira.

### RESUMO

**Introdução:** A toxina botulínica é opção importante para o tratamento das rugas faciais dinâmicas. A toxina botulínica Lanzhou tipo A (LBTX-A) foi introduzida na China no início da década de 1990 e aprovada no Brasil em 2003. **Objetivo:** Avaliar a eficácia e a tolerabilidade de LBTX-A para tratamento estético de rugas dinâmicas na parte superior da face. **Materiais e Métodos:** Em um estudo multicêntrico prospectivo com rótulo aberto, 110 indivíduos dos dois gêneros (idades de 25 a 65 anos) foram tratados com um total de 53 U de LBTX-A cada, distribuídos em 15 locais nos músculos frontal, corrugador, próceros e lateral ocular da órbita. Os pacientes foram revisados sete vezes no intervalo de 180 dias. A eficácia foi avaliada por eletromiografia, análise fotográfica e pelas opiniões do investigador e do paciente. A tolerabilidade foi avaliada pela incidência de eventos adversos. **Resultados:** Duas semanas depois das injeções, 94% dos pacientes tratados consideraram o resultado bom ou excelente. Na maioria dos casos, os resultados se prolongaram por 90 dias. Depois da injeção, quase todos os pacientes informaram dor leve ou ausência de dor e efeitos colaterais mínimos e reversíveis, como edema facial (seis pacientes), sensação de entumescimento facial (três pacientes) e ptose palpebral (dois pacientes). **Conclusões:** LBTX-A é eficiente e bem tolerado para tratamento das linhas faciais dinâmicas.

**Palavras-chave:** toxina botulínica tipo A, injetáveis, rugas, linhas dinâmicas faciais.

### ABSTRACT

**Introduction:** The botulinum toxin is a valuable option for the treatment of dynamic facial wrinkles. The Lanzhou botulinum toxin type A (LBTX-A) was introduced in China in the early 90's and approved in Brazil in 2003. **Objective:** Evaluate the efficacy and tolerability of LBTX-A for the cosmetic treatment of dynamic wrinkles of the upper face. **Material and Methods:** In a prospective, open-label, multicenter study, 110 subjects of both sexes (aged from 25 to 65 years) were treated with a total of 53 U of LBTX-A each, distributed in fifteen sites in the frontal, corrugator, procerus, orbicular ocular lateral muscles. The patients were reviewed 7 times within 180 days. Efficacy was assessed by electromyography, photographic analysis and the investigator's and patient's opinions. Tolerability was assessed by the incidence of adverse events. **Results:** Two weeks post-injection, 94% of the treated patients considered the result as good or excellent. Results lasted 90 days in most cases. After injection, most patients reported mild or no pain, and minimal and reversible side effects as facial edema (6 patients), stuffiness feeling (3 patients) and eyelid ptosis (2 patients). **Conclusions:** We conclude that LBTX-A is efficient and well tolerated for the treatment of dynamic facial lines.

**Keywords:** botulinum toxin type A, injectables, wrinkles, facial dynamic lines.

## INTRODUÇÃO

A forma cristalina da toxina botulínica tipo A foi introduzida na prática médica em 1980, para tratamento de estrabismo. Daquele ano em diante, foram propostas várias outras indicações, como o blefaroespasma, espasmos faciais, espasticidade e usos estéticos.<sup>1-4</sup>

Em 1988, o Instituto Lanzhou de Produtos Biológicos, um grupo de pesquisa da China, introduziu a toxina botulínica Lanzhou tipo A (LBTX-A) comercializada como BTX-A®, com reivindicação de alta pureza e estabilidade e baixa toxicidade.

A Comissão Nacional de Avaliação de Novos Medicamentos da República Popular da China aprovou seu uso em 1997 para espasmo hemifacial, blefaroespasma e estrabismo, depois da revisão de dados pré-clínicos e clínicos.<sup>5-10</sup> A Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Brasil (ANVISA) aprovou LBTX-A para uso clínico em 2003, com o nome comercial PROSIGNE®. O produto também está comercializado na Coreia, Hong Kong, Índia, Ucrânia, Kuwait, Peru, Indonésia e Filipinas.

## OBJETIVO

A finalidade deste estudo foi avaliar a eficácia e a tolerabilidade do produto para tratamento estético de rugas faciais dinâmicas no terço superior da face. O estudo foi patrocinado por Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos LTDA, uma empresa farmacêutica brasileira.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Este é um estudo multicêntrico, prospectivo e de rótulo aberto, realizado em três centros dermatológicos e dois centros de cirurgia plástica. O estudo foi desenvolvido dentro das normas éticas da Declaração de Helsinki de 1975, das Boas Práticas Clínicas e de todas as exigências reguladoras brasileiras. O protocolo e o formulário para consentimento informado foram aprovados pelas comissões de revisão institucional de todas as instituições envolvidas e também pelas autoridades sanitárias brasileiras. Todos os participantes assinaram o consentimento informado.

Foram randomizados 110 indivíduos de ambos os gêneros, com idades entre 25 e 65 anos (25 a 45 anos, correspondendo a 38,5% dos pacientes; 46 a 55 anos, correspondendo a 49,5%; 56 a 65 anos, correspondendo a 12%) e apresentando rugas faciais. O grupo em estudo era composto por 3 homens e 107 mulheres; 103 eram caucasianos e 7, hispânicos. Quatro centros acompanharam 20 pacientes cada e um centro acompanhou 30 pacientes.

Os critérios de exclusão foram: realização de qualquer procedimento cirúrgico-estético, preenchimento dérmico ou tratamento com toxina botulínica, até seis meses antes do

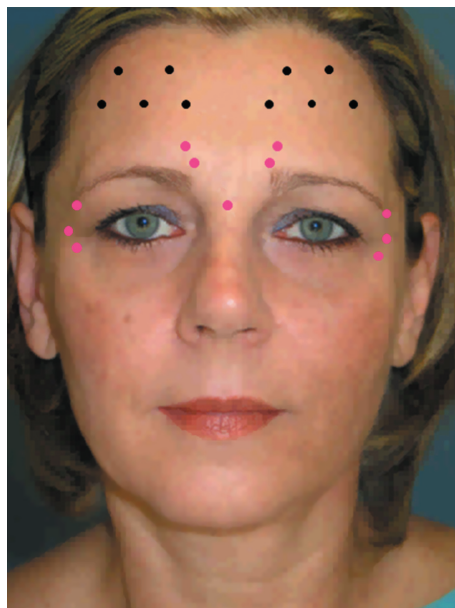


Figura 1 – Representação gráfica dos locais de injeção.

presente estudo clínico; hipersensibilidade conhecida à toxina botulínica ou a outros ingredientes da fórmula; presença de infecção ou inflamação ativa; participação em qualquer estudo clínico dentro dos últimos dois meses; gravidez ou puerpério; consumo de etanol >10 g/dia; tratamento em curso com aminoglicosídeos ou outros agentes farmacológicos que interferissem na transmissão neuromuscular; qualquer problema que, na opinião do investigador, pudesse fazer com que o paciente não se qualificasse para o estudo, ou que o risco para ele aumentasse.

Os frascos de LBTX-A liofilizada, número de lote L200 20504, foram armazenados em condições de congelamento de -20°C a -5°C e utilizados logo depois da reconstituição com 1 mL de soro fisiológico (concentração do medicamento: 100 U/mL).

Durante seis meses, cada paciente passou por 9 consultas: consulta para triagem (C0), consulta para injeção (C1) e sete consultas de acompanhamento (C2, 3 dias; C3, 14 dias; C4, 45 dias; C5, 90 dias; C6 120 dias; C7, 150 dias; C8, 180 dias), em que foram avaliadas a eficácia e a tolerabilidade do produto.

Na consulta 1, depois de descansar durante alguns minutos, os pacientes tiveram sua pele facial suavemente higienizada e desinfetada com etanol a 70% e receberam um total de 53 U de BTX-A distribuídas em 15 pontos principais nos músculos frontal, corrugador, próceros e orbicular lateral do olho (Figura 1). Seria permitida a repetição da injeção para todos os pacientes na consulta 3 se os investigadores considerassem necessário, com o objetivo de reparar possíveis imperfeições e obter melhor resultado final. A eficácia foi avaliada levando em conta a

opinião do investigador e do paciente em cada consulta pós-injeção. A pontuação atribuída pelo investigador recebeu a seguinte padronização: melhora significativa; melhora moderada; leve melhora; sem alteração; e piora, em comparação com a última consulta. A opinião do paciente foi padronizada como: excelente, muito boa, boa, razoável ou ruim, em comparação com a última consulta. Durante as consultas 6 e 8, foi solicitada, tanto aos pacientes como aos investigadores, uma avaliação global do tratamento.

A documentação fotográfica foi obtida antes da injeção e depois de 14, 90 e 120 dias. As fotografias foram tiradas por um fotógrafo profissional, segundo especificações padronizadas. Todas as fotografias também foram analisadas pelos investigadores nas consultas C6 e C8, para que os autores chegassem às observações finais (Figuras 2 e 3).

Oito pacientes aleatoriamente selecionados foram submetidos a exames eletromiográficos antes da injeção (C1) e depois de 14 dias (C3) e 120 dias (C6). Eles assinaram um consentimento informado adicional com permissão para o exame. Utilizamos um aparelho TECA® LBM 3 com eletrodos de agulha monopolares MF 37. O eletrodo foi inserido

nas proximidades dos locais de injeção no músculo prócero, aspectos direito e esquerdo do músculo frontal e nos músculos corrugadores e orbiculares dos olhos direito e esquerdo. A atividade elétrica do músculo foi registrada em repouso e durante contração voluntária leve e máxima, demonstrando a velocidade de recrutamento das unidades motoras, frequência de disparo e características morfológicas.

A tolerabilidade foi avaliada com base na ocorrência de eventos adversos ligados ao produto ou com suspeita de relação ao produto, informados pelos pacientes em todas as consultas pós-injeção. Ligação com o tratamento foi classificada como: nenhuma, possível, provável ou definitiva. Os eventos adversos com suspeita de relação com o produto foram aqueles considerados pelos investigadores como possíveis ou prováveis. Os eventos adversos ocorridos também foram classificados em termos de gravidade (leves, moderados, sérios ou graves). Evento adverso grave foi definido como aquele que resultou em hospitalização ou em incapacitação grave ou morte do paciente, representou ameaça de morte ou foi causador de anomalia congênita. Dor e queimação foram avaliadas por meio de perguntas específicas formuladas durante, imediatamente



Figura 2 – Paciente do centro de estudo coordenado pelo Dr. Sérgio Talarico. Local estudado.

A) Antes do tratamento (06/03/2004).

B) 3 meses após a aplicação (03/09/2004).

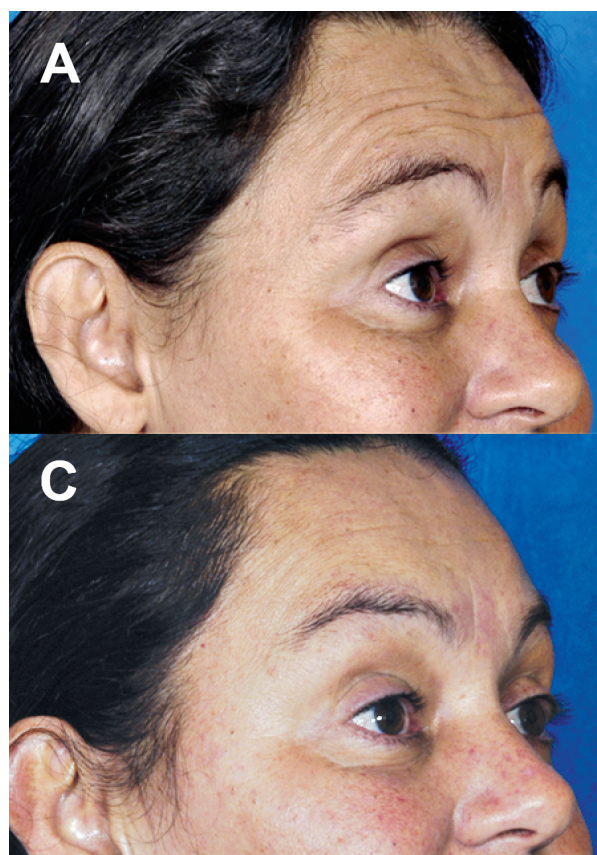


Figura 3 – Paciente do centro coordenado pela Dra. Lydia Masako.

A) Antes do tratamento (17/03/2004).

B) 3 meses após a aplicação (15/06/2004).

depois e os três dias seguintes à injeção, tendo recebido a seguinte classificação: muita dor, dor moderada, pouca dor ou ausência de dor.

Os dados foram registrados em formulários de pesquisa clínica e transferidos manualmente para Microsoft Access®. A análise dos dados descritivos e as representações gráficas foram realizadas com o uso de Microsoft Excel®.

## RESULTADOS

Na avaliação geral do tratamento, foram consideradas as impressões dos pacientes e investigadores nas consultas 6 e 8. Na consulta 6, resultados excelentes, muito bons e bons foram informados por 87,4% dos pacientes. Os investigadores confirmaram esses resultados em 98,2% dos pacientes tratados na consulta 6. Na consulta 8, a avaliação geral decresceu para 42% e 47,1%, respectivamente, nas opiniões dos pacientes e dos investigadores.

## RETOQUE

Houve necessidade de repetição da injeção para 16 pacientes em C3 (17% dos 108 participantes que compareceram à consulta).

## DOCUMENTAÇÃO FOTOGRÁFICA

Foram tiradas fotografias de 96% dos pacientes que compareceram às consultas 1, 3 e 6. Três meses depois da injeção, a melhora estava sendo mantida (Figuras 2 e 3).

## ELETROMIOGRAFIA

Todos os pacientes estudados tiveram registros eletromiográficos normais antes da injeção. Duas semanas depois da injeção (C3), todos os registros demonstravam decréscimo significativo no número de unidades motoras funcionais. Quatro a cinco meses depois da injeção (C6), ocorreu amplo restabelecimento do número de unidades motoras funcionais para todos os pacientes. Em nenhum registro detectamos padrão neuropático, miopático ou frequência de disparo.

## TOLERABILIDADE

Depois das injeções (C1), dos 110 pacientes, 1% deles informou muita dor, 26% dor moderada, 50% pouca dor e 23% ausência de dor durante a injeção. A dor pós-injeção foi considerada moderada por 11%, leve por 38% e ausente por 51% dos pacientes. No que tange à sensação de queimação depois da injeção, o mesmo padrão foi observado, ou seja, 87% dos pacientes informaram queimação leve (41%) ou ausência de queimação (46%).

Além da dor, ocorreram, no total, 38 eventos adversos considerados como relacionados ou possivelmente ligados ao

produto, e 12 cuja relação foi considerada duvidosa. Quase todos os eventos adversos foram leves (31 eventos) e 6 foram considerados moderados.

Os eventos adversos mais comuns considerados como ligados, ou possivelmente ligados, ao produto foram: cefaleia (6 pacientes – 5,45%), edema facial (6 pacientes – 5,45%), sensação de entumescimento facial (3 pacientes – 2,27%), ptose palpebral (2 pacientes – 1,81%), ptose da sobrancelha (2 pacientes – 1,81%), dor local (2 pacientes – 1,81%), contusão local (2 pacientes – 1,81%), prurido e náusea pouco intensos (1 paciente cada – 0,90%). Esses eventos foram considerados leves (21) ou moderados (4), e um caso de sensação de entumescimento foi considerado severo pelos investigadores. Além disso, houve dois outros eventos adversos severos considerados pelos investigadores como não relacionados ao produto em estudo: um caso de apendicite e um caso de cirurgia da próstata. Não foram informados efeitos adversos graves, nem foram observadas infecções cutâneas, erupção ou outras reações alérgicas.

## DISCUSSÃO

Este estudo acompanhou 110 pacientes que utilizaram toxina botulínica para tratamento de rugas de expressão do terço superior da face. Os pacientes selecionados compunham uma amostra representativa de pessoas interessadas no uso da toxina botulínica para finalidades estéticas.

Enquanto o estudo era realizado, os investigadores armazenaram o frasco de LBTX-A em condições de congelamento de  $-20^{\circ}\text{C}$  até  $-5^{\circ}$  antes da reconstituição, embora desde 2005 os frascos possam ser guardados antes e depois da reconstituição em refrigeração de  $2^{\circ}\text{C}$  até  $8^{\circ}\text{C}$ , de acordo com as informações do fabricante.

A eficácia foi avaliada por pontuação subjetiva dos pacientes e investigadores. Embora subjetiva, essa abordagem foi considerada confiável por outros autores,<sup>11,12</sup> entre outras razões, visto ser essa uma intervenção estética. Nesse caso, é provável que a principal meta a ser atingida seja a satisfação do paciente, mas sua avaliação pode ser afetada pelo efeito placebo de qualquer intervenção ou por metas e expectativas pouco realistas.<sup>13</sup> Os investigadores estão menos propensos a sofrer influência desse fator e a documentação fotográfica proporciona um parâmetro objetivo adicional.<sup>13</sup>

Depois de duas semanas – o provável pico de ação do produto –, pacientes e investigadores expressaram opiniões favoráveis em 90% e 99% dos casos, respectivamente, e esse percentual decresceu com o passar do tempo – o que pode ser atribuído à redução da atividade do produto.

Retouques foram realizados em 17% dos pacientes para correção de qualquer imperfeição ou assimetria, sendo levadas em consideração as diferenças anatômicas de cada paciente.

**Avaliação da eficácia – comparando avaliação do paciente e do investigador de acordo com o tempo**

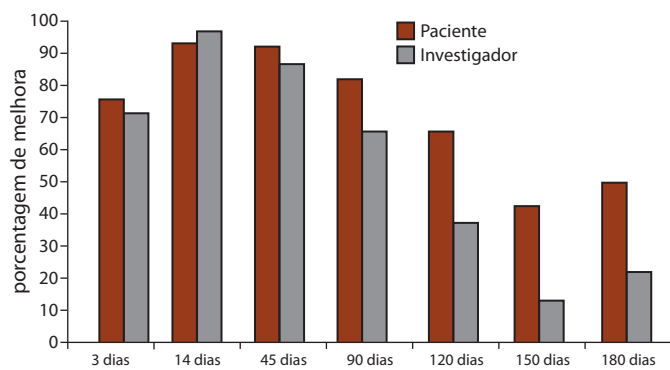


Gráfico 1 – Três dias após a aplicação, 76% dos pacientes consideraram que a melhora das rugas foi excelente, muito boa ou boa, em comparação com a consulta precedente à aplicação, e 71% dos investigadores consideraram que a melhora das rugas foi excelente, muito boa ou boa. No 14º dia, 94% dos pacientes consideraram que a melhora das rugas foi excelente, muito boa ou boa, em comparação com a consulta anterior, e 97% dos médicos avaliaram que a melhora com relação à consulta anterior foi excelente, muito boa ou boa. Noventa dias após a aplicação, 82% dos pacientes consideraram que a melhora das rugas foi excelente, muito boa ou boa, em comparação com a consulta anterior, e 67% dos médicos consideraram que a melhora com relação à consulta anterior foi excelente, muito boa ou boa. Transcorridos 120 dias, ainda era possível perceber melhora (excelente, muito boa ou boa), tanto pelo paciente quanto pelo investigador.

Na opinião dos investigadores, o produto manteve sua atividade durante 45 dias em praticamente todos os pacientes, prolongando-se por 90 dias em 66% dos casos e caindo para 38% depois de transcorridos 4 meses. Na opinião dos pacientes, resultados satisfatórios foram observados por dois terços dos pacientes até 5 meses depois da aplicação. As opiniões gerais sobre a intervenção, tanto dos pacientes como dos investigadores, foram favoráveis na consulta 6 e satisfatórias na consulta 8 (Gráfico 1).

Os dados objetivos obtidos com a eletromiografia demonstraram restabelecimento dos padrões pré-injeção em todos os pacientes, quatro a cinco meses depois das aplicações. A documentação fotográfica proporcionou mais um meio objetivo para análise dos resultados, tendo também sido consistente com a opinião dos médicos. Esses resultados são comparáveis com a literatura citada para uso da toxina botulínica.<sup>14-18</sup>

Depois de concluído o estudo, os autores concordaram com a possibilidade de obter inibição muscular mais prolongada se as doses tivessem sido individualmente ajustadas, levando em consideração o tamanho dos músculos. No modelo do estudo, os tratamentos não foram planejados para levar em conta diferenças individuais e de gênero. A distribuição dos locais de injeção e das doses poderia ter mudado e os resultados deveriam ser analisados em separado para cada grupo

de músculos, como glabella (músculos prócero e corrugador), região frontal (ventre do músculo frontal) e região periocular (músculos orbiculares do olho). Embora a padronização dos locais de aplicação para todos os pacientes permitisse comparações, essa estratégia impossibilitou a obtenção dos melhores resultados possíveis para cada participante. Isso levou à ligeira tendenciosidade negativa.

As comparações entre diferentes apresentações da toxina botulínica tipo A têm sido fonte de muita discussão.<sup>19-22</sup> O objetivo da maioria dos estudos publicados é proporcionar os meios adequados, para que sejam obtidos resultados clínicos similares, além de comprovar equivalência molecular – o que não é possível com substâncias biológicas.

A dose de Botox<sup>®</sup> sugerida para rugas faciais é de aproximadamente 25 U a 35 U para a glabella, 12 a 15 U para cada lado da região periocular e 1 ou 2 U por local de injeção da região frontal (total de 10-20 U). Dependendo da área, os efeitos tipicamente se prolongaram por 3 a 6 meses.<sup>23,24</sup>

Neste estudo, as doses de LBTX-A utilizadas foram 25 U para a glabella, 6 U por lado das rugas periorculares e 16 U para as linhas da testa. Com essas doses, não foi possível obter os mesmos resultados descritos com Botox<sup>®</sup>, especialmente nas regiões periocular e frontal<sup>24</sup> (Figura 1).


Por outro lado, podemos afirmar que as doses necessárias para obtenção de resultados clínicos similares podem ser muito próximas a algo entre essas duas diferentes formulações de 100 U de toxina botulínica tipo A. Considerando essa hipótese, doses mais baixas foram utilizadas para tratamento da região periocular, como na padronização do estudo.<sup>25</sup> Para a região frontal, este estudo utilizou 4 U por local – dose mais alta do que a quantidade prevista para essa região nos estudos que utilizaram Botox<sup>®</sup>,<sup>23,24</sup> mas também é sabido que a eficácia aumenta diante de regimes de dosagem mais alta.<sup>26</sup> Essa pode ter sido a causa da ptose palpebral e da sensação de entumescimento facial na região da testa, informadas por alguns pacientes. Ptose palpebral foi observada em dois pacientes (1,8%); acredita-se que esse efeito tenha resultado da difusão da toxina botulínica para o músculo elevador da pálpebra superior. Assim, espera-se que tal ocorrência tenha sido dependente da técnica. Os percentuais informados para esse evento variam de 2% a 20% (a incidência acumulada é 6,5%).<sup>27,28</sup>

Considerando outros aspectos de tolerabilidade, apenas 1% dos pacientes informou muita dor ou queimação durante a injeção; nenhum paciente comunicou dor significativa depois da injeção. Na maioria dos casos, foram leves os eventos adversos informados. O evento adverso considerado como ligado ao produto e com ocorrência mais frequente foi cefaleia; mas sua incidência foi parecida com a relatada em pacientes que receberam placebo, em estudos de Botox<sup>®</sup> controlados por placebo.<sup>26,29</sup> Portanto, a causa desses eventos pode ter sido o

procedimento da injeção, e não o tratamento com LBTX-A.

Embora Tang e Wan, em 2000, tenham demonstrado um percentual ligeiramente mais alto de casos ligados ao uso de LBTX-A, em comparação com Botox<sup>®</sup>, em nosso estudo não observamos erupção cutânea ou outras reações alérgicas ou sistêmicas.<sup>31</sup> Esse resultado é melhor do que o obtido em estudos sobre Botox<sup>®</sup>.<sup>32</sup> Diferentemente de uma publicação em que a formulação de LBTX-A continha aproximadamente 25 ng de proteína do complexo das neurotoxinas por 100 U,<sup>30</sup> a nova preparação utilizada em nosso estudo continha aproximadamente 4,5 – 5,0 mg/frasco de 100 U. Preparações de toxina botulínica com formulação contendo menor dose de proteína na composição se revelaram menos alérgicas.<sup>13,33,34</sup> Portanto, foi muito boa a tolerabilidade geral do produto.

## CONCLUSÃO

Considerando os resultados gerais coletados, foi possível concluir que, tanto na opinião dos médicos como dos pacientes, o uso de LBTX-A no tratamento de rugas faciais dinâmicas é seguro e bem tolerado. De acordo com suas opiniões, os efeitos do composto se prolongaram por 90 dias ou mais na maioria dos pacientes. Como essa é uma substância biológica, devem ser realizados outros estudos para que seja determinada a dose máxima eficaz para cada grupo muscular, capaz de gerar resultados mais duradouros e maior satisfação. 

## REFERÊNCIAS

1. Scott AB, Rosebaum A, Collins CC. Pharmacologic weakening of extraocular muscles. *Invest Ophthalmol* 1973;12:924-7.
2. Scott AB. Botulinum toxin injection into extraocular muscles as an alternative to strabismus surgery. *Ophthalmol* 1980;87:1044-49.
3. Carruthers A, Carruthers JA. Treatment of glabellar frown lines with C. Botulinum-A exotoxin. *J Dermatol Surg Oncol* 1992;18(1):17-21.
4. Schantz EJ, Johnson EA. Properties and use of botulinum toxin and other microbial neurotoxins in medicine. *Microbiol Rev* 1992;56(1):80-99.
5. Wang YC, Zhuang H, Huang BG, Dai Z. Preparation of type A botulinum crystalline toxin for the therapeutic and establishment of an experimental animal model. *Chinese J Biologicals* 1990;3(3):121-5.
6. Dai Z, Wang YC. Treatment of blepharospasm, hemifacial spasm and strabismus with botulinum A toxin. *Chinese Medical Journal* 1992;105(6):476-8.
7. Dai Z, Lu W, Wu X, Li ZH, Zhang FH, Wang YC. Phase II Clinical Trial of Treatment of Blepharospasm, Hemifacial Spasm with Botulinum Toxin Type A for injection. *Chinese J Ophthalmology* 1993;29(3):144-5.
8. Zhao CD, Chen HX, Nie ZM. A clinical study of botulinum toxin type A in treatment of blepharospasm and facial spasm. *Chinese J Nervous Mental Diseases* 1996;22(2):83-5.
9. Zhang LJ, Feng XL, Zhang SM, Shen ZL, Shi SY. A study on botulinum toxin A in treatment of blepharospasm and facial spasm. *Shanxi Medical Journal* 1998;27(1):50-1.
10. Wan X, Tang X, Cui L. Remote effects of local injection of botulinum toxin type A. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao* 1999;21(5):362-7.
11. Keen M, Blitzer A, Aviv J, Binder W, Prystowsky J, Smith H et al. Botulinum toxin A for hyperkinetic facial lines: results of a double-blind, placebo-controlled study. *Plast Reconstr Surg* 1994;94(1):94-9.
12. Foster JA, Barnhorst D, Papay F, Oh PM, Wulc AE. The use of botulinum A toxin to ameliorate facial kinetic frown lines. *Ophthalmology* 1996;103:618-22.
13. Klein AW. Complications, Adverse Reactions, and Insights with the use of botulinum toxin. *Dermatol Surg* 2003;29:549-56.
14. Kimura J. Disorders of neuromuscular junction, myopathies and abnormal muscle activity. In Kimura, J. *Electrodiagnosis in Diseases of Nerve and Muscle – principles and practice*. Philadelphia: FA Davis 1985;511-6.
15. Dimitrova DM, Shall MS, Golderg SJ. Short-term effects of botulinum toxin on lateral rectus muscle of the cat. *Exp Brain Res* 2002;147(4):449-55.
16. On AY, Kirazli Y, Kismali B, Aksit R. Mechanisms of action of phenol block and botulinus toxin Type A in relieving spasticity: electrophysiologic investigation and follow-up. *Am J Phys Med Rehabil* 1999;78(4):344-9.
17. Fuglsang-Frederiksen A, Ostergaard L, Sjo O, Werdelin, L Winkel. Quantitative electromyographical changes in cervical dystonia after treatment with botulinum toxin. *Electromyogr Clin Neurophysiol* 1998;38(2):75-9.
18. Hamjian JA, Walker FO. Serial neurophysiological studies of intramuscular botulinum-A toxin in Humans. *Muscle Nerve* 1994;17(12):1385-92.
19. Odegren T, Hjaltason H, Kaakkola S, Solders G, Hanko J, Fehling C et al. A double blind, randomises, parallel group study to investigate the dose equivalence of Dysport<sup>®</sup> and Botox<sup>®</sup> in the treatment of cervical dystonia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998;64:6-12.
20. Wohlfarth K, Göschel H, Frevert J, Dengler R, Bigalke H. Botulinum A Toxins: units versus units. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1997;355:335-40.
21. Sampaio C, Costa J, Ferreira JJ. Clinical Comparability of Marked Formulations of botulinum toxin. *Movement Disorders*;19(8):S129-S136.
22. Tapiero B, Riss I. Les différents types de toxine botulinique et leur comparaison. Bioéquivalence des toxines A et futurs développements thérapeutiques. *J Fr Ophtalmol* 1997;20 (10):785-99.
23. Tamura BM. Standardization of muscle sites for BTX injection in the frontal and glabellar regions. In Hexsel D, Trindade de Almeida A. *Cosmetic Use of Botulinum Toxin*. Porto Alegre: AGE, 2002, pp. 145-8.
24. Carruthers A, Carruthers J. Botulinum. Toxin Type A in the Treatment of Hyperfunctional Facial Lines and Cosmetic Disorders. In: Brin MT, Hallett M, Jankovic J. *Scientific and Therapeutic Aspects of Botulinum Toxin*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002, pp. 287-93.
25. Lowe NJ, Lask G, Yamauchi P, Moore D. Bilateral, double-blind, randomized comparison of 3 doses of botulinum toxin type A and placebo in patients with crow's feet. *J Am Acad Dermatol* 2002;47:834-40.
26. Carruthers A, Carruthers J, Cohen J. A prospective, double-blind, randomized, parallel-group, dose-ranging study of botulinum toxin type A in female subjects with horizontal forehead rhytides. *Dermatol Surg* 2003;29:461-7.
27. Carruthers JA, Lowe NJ, Menter MA, Gibson J, Nordquist M, Mordaunt J. A multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled study of the efficacy and safety of botulinum toxin type A in the treatment of glabellar lines. *J Am Acad Dermatol* 2002;46:840-9.
28. Klein AW. Complications and adverse reactions with the use of botulinum toxin. *Semin Cutan Med Surg* 2001;20:109-20.
29. Alam M, Arndt KA, Dover JS. Severe, intractable headache after injection with botulinum toxin A exotoxin: Report of 5 cases. *J Am Acad Dermatol* 2002;46:62-65.
30. Tang X, Wan X. Comparison of Botox with a Chinese type A botulinum toxin. *Chin Med J (Engl)* 2000;113(9):794-8.
31. Rieder CR, Schestatsky P, Socal MP, Monte TL, Fricke D, Costa Costa J et al. A double-blind, randomized, crossover study of prosigne versus botox in patients with blepharospasm and hemifacial spasm. *Clin Neuropharmacol* 2007;30(1):39-42.
32. Coté TR, Mohan AK, Polder JA, Walton MK, Braun MM. Botulinum toxin type A injections: Adverse events reported to the US Food and Drug Administration in therapeutic and cosmetic cases. *J Am Acad Dermatol* 2005;53(3):407-15.
33. Aoki KR. Immunologic and other properties of therapeutic botulinum toxin serotypes. In Brin MT, Hallett M, Jankovic J. *Scientific and Therapeutic Aspects of Botulinum Toxin*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002;103-13.
34. Brueggemann N, Doegnitz L, Harms L, Moser A, Hagenah JM. Skin reactions after intramuscular injection of botulinum toxin A: a rare side effect. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2008;79(2):231-2.