

Le nuove sfide per la tossina botulinica in Neurologia

Maria Concetta Altavista, Presidio Ospedaliero San Filippo Neri, ASL Roma1, Roma

Massimo Marano, Fondazione Policlinico Universitario Campus Bio-Medico, Roma

Introduzione

La tossina botulinica ha profondamente trasformato l'armamentario terapeutico in neurologia e non solo. A partire dalla geniale intuizione di Alan Scott, il suo utilizzo ha attraversato una rapida e variegata evoluzione, arrivando a essere ampiamente conosciuta anche al di fuori dell'ambito clinico grazie alla medicina estetica. Tuttavia, questo successo mediatico ha in parte oscurato la sua comprovata efficacia nelle principali indicazioni neurologiche.

Attualmente, le tre tossine di tipo A (onabotulinumtoxinA, abobotulinumtoxinA e incobotulinumtoxinA) e la tossina B (rimabotulinumB) presenti sul mercato coprono un ampio spettro di patologie neurologiche, come la distonia focale, la spasticità focale o segmentale, l'emicrania cronica e la scialorrea. Tuttavia, l'assenza di percorsi definiti e di una regolamentazione uniforme ne limita ancora il pieno sfruttamento clinico, sia in termini di indicazioni che di accesso.

Revisione della letteratura e risultati:

Per affrontare le criticità intorno all'uso clinico di tossina botulinica in neuroscienze, le nuove sfide identificate dalla revisione della letteratura possono essere raggruppate in 5 capitoli, 5 punti che nascono dalla revisione della letteratura, da una critica degli attuali paradigmi sanitari e da una proposta di superamento delle attuali barriere e identificate da 5 semplici vocali: **AEIOU**.

A – Accessibilità alle cure; E – Educazione all'uso; I – Innovazione tecnologica; O – Off-label e nuove indicazioni; U – Unificazione dei percorsi amministrativi.

Di seguito verranno affrontati singolarmente i punti proposti.

A – Accessibilità alle cure

CRITICITÀ

Carenza di percorsi strutturati e chiarezza normativa: L'accessibilità alla terapia con tossina botulinica (BoNT) è condizionata da diversi fattori strutturali, organizzativi e normativi, che incidono profondamente sulla possibilità per i pazienti di ricevere trattamenti appropriati e tempestivi. La complessità del percorso diagnostico-terapeutico per le patologie neurologiche che beneficiano della tossina botulinica, come la spasticità post-ictus, rende evidente la necessità di percorsi strutturati e multidisciplinari, ma soprattutto integrati in modo funzionale.

La spasticità post-stroke: un modello paradigmatico di complessità. Nel contesto delle patologie neurologiche croniche, la spasticità post-stroke rappresenta un modello paradigmatico sia per l'elevata prevalenza (dal 20% al 40% dei pazienti con ictus ne sviluppano una forma clinicamente rilevante [Lundström et al., 2008]), sia per la necessità di un'identificazione precoce e di trattamenti mirati [Gracies, 2005; Wissel et al., 2013]. Tuttavia, la frammentazione dell'assistenza post-acuta, legata alla mancanza di protocolli unificati tra reparti di neurologia, riabilitazione e ambulatori specializzati nella somministrazione di BoNT, comporta spesso ritardi diagnostici e sottoutilizzo della terapia [Francisco & McGuire, 2012].

Incompletezza degli attuali percorsi: complessità senza integrazione. Il problema non è solo la complessità del setting clinico, che richiede figure specialistiche diverse (neurologo, fisiatra, terapeuta occupazionale, fisioterapista), ma anche la mancanza di una rete formalizzata e codificata che faciliti il passaggio del paziente tra le varie fasi dell'assistenza. Di fatto, nella maggior parte delle Regioni italiane, il paziente post-ictus che presenta segni di spasticità non viene indirizzato precocemente verso un centro che pratica infiltrazioni di tossina botulinica, con evidenti conseguenze sulla tempestività e sull'efficacia del trattamento. Questo riguarda, soprattutto i pazienti con esiti più gravi, che sono, peraltro, quelli con maggiori probabilità di sviluppare la spasticità e che, sono spesso, persi al controllo neurologico perché affidati all'assistenza domiciliare o istituzionalizzati.

SFIDE

Risolvere la difficoltà con accesso alle cure con progetti di armonizzazione bottom-up: l'esempio dello studio COLOSSEO: In risposta a queste criticità, stanno emergendo iniziative pilota a livello regionale, tra cui lo studio COLOSSEO [Marano et al., 2024], attivo nella Regione Lazio. Questo progetto si propone di analizzare, riorganizzare e armonizzare i percorsi del post-stroke, con l'obiettivo di integrare i le Unità di Terapia Neurovascolare, le strutture riabilitative e i centri BoNT in un percorso diagnostico-terapeutico-assistenziale (PDTA) condiviso.

Risolvere la difficoltà con accesso alle cure con progetti territoriali. Coinvolgere gli operatori delle strutture dell'assistenza territoriale nella ricerca attiva nei soggetti a rischio non solo della spasticità ma anche di altri sintomi quali la scialorrea e il dolore che potrebbero essere ugualmente trattati efficacemente.

Tali modelli mirano a superare le barriere logistiche e organizzative tra i diversi nodi della rete sanitaria e ad attuare un sistema proattivo di segnalazione e presa in carico della spasticità. La collaborazione strutturata fra reparti acuti, reparti di riabilitazioni, strutture territoriali e ambulatori BoNT favorisce, infatti, un intervento precoce, che può prevenire contratture articolari, dolore cronico, disabilità secondaria e deterioramento della qualità della vita [Esquenazi et al., 2017].

Estendere il modello oltre lo stroke: Il paradigma post-stroke si presta ad essere esportato e adattato ad altre condizioni neurologiche croniche ad alta complessità che presentano sintomi spastico-distonici, come:

- Sclerosi multipla (SM): dove la spasticità interessa circa il 60% dei pazienti [Rizzo et al., 2004].
- Paralisi cerebrale infantile (PCI): patologia in cui la BoNT è da tempo riconosciuta come trattamento di prima linea nella gestione della spasticità focale [Love et al., 2010].
- Gravi cerebrolesioni acquisite (GCA) e traumi cranici: contesti in cui l'identificazione precoce della spasticità è ancora spesso lacunosa.

In tutti questi scenari, la costruzione di percorsi dedicati consentirebbe a una larga fascia della popolazione neurologica cronica di accedere in modo tempestivo a centri specializzati nella gestione della spasticità, del dolore associato e delle complicanze secondarie, promuovendo una visione proattiva e di continuità assistenziale.

Sviluppo della Telemedicina come strumento di potenziamento

dell'accessibilità: Oltre alla riorganizzazione dei percorsi, un ruolo cruciale può essere svolto dalle reti di patologia regionali e dall'uso strutturato della telemedicina, per facilitare la segnalazione precoce e il monitoraggio a distanza dei pazienti a rischio. In questo senso, la digitalizzazione dei PDTA e la condivisione informatica dei dati clinici tra i diversi attori coinvolti possono migliorare la tempestività e l'appropriatezza delle terapie con tossina botulinica [Katz et al., 2020].

E – Educazione all'uso

CRITICITÀ

Nonostante BoNT sia ampiamente impiegata da oltre tre decenni per il trattamento di numerose condizioni cliniche — dalla distonia alla spasticità, fino al dolore cronico e alla scialorrea — permangono eterogeneità significative nella formazione degli operatori sanitari, nella scelta dei protocolli terapeutici e nelle modalità di somministrazione.

Numerose pubblicazioni scientifiche hanno evidenziato che una formazione insufficiente o disomogenea può comportare un uso subottimale della tossina, con conseguenze cliniche che vanno da risultati terapeutici insoddisfacenti a effetti collaterali evitabili, fino alla formazione di anticorpi neutralizzanti nei pazienti trattati impropriamente (Dressler & Adib Saberi, 2019).

SFIDE

Formazione continua come fondamento di appropriatezza terapeutica:

L'educazione all'uso corretto della tossina botulinica (BoNT) rappresenta una componente fondamentale per garantire la sicurezza, l'efficacia e l'equità del trattamento in ambito neurologico.

Promuovere cultura, competenze e responsabilità clinica: In risposta a queste criticità, la Rete Italiana Tossina Botulinica (RITB) promuove una visione sistemica dell'educazione all'uso, fondata su tre pilastri:

1. Formazione tecnica e scientifica degli operatori sanitari, con particolare attenzione alle figure professionali coinvolte nella prescrizione, nell'infiltrazione e nel follow-up (neurologi, fisiatristi, infermieri, terapisti, farmacisti ospedalieri).
2. Diffusione delle linee guida nazionali e internazionali, promuovendo l'adozione di buone pratiche condivise in accordo con i documenti di consenso elaborati da organismi come la EFNS, la AAN, e le società scientifiche italiane.
3. Aggiornamento continuo, attraverso il patrocinio di eventi scientifici, corsi di alta formazione, workshop e congressi sia a livello locale che nazionale. Tali iniziative possono contribuire non solo a migliorare la qualità del trattamento, ma anche a favorire il confronto tra centri esperti e realtà periferiche, rafforzando l'equità nell'accesso e nella qualità delle cure.

Standardizzazione delle tecniche d'inoculazione: Un tema cruciale sul piano educativo è rappresentato dalla standardizzazione delle tecniche di inoculazione. L'efficacia della BoNT è infatti fortemente influenzata da fattori tecnici quali:

- la precisione della sede di iniezione;
- il dosaggio e il volume somministrato;

- l'utilizzo di tecnologie di guida (ecografia, elettromiografia, stimolazione elettrica);
- la corretta selezione dei muscoli target, in base alla clinica individuale del paziente.

In diversi studi multicentrici è emerso che l'impiego di tecniche di guida ecografica o EMG migliora l'accuratezza dell'infiltrazione e riduce le complicanze (Berweck et al., 2004; Kaji et al., 2010). Tuttavia, l'uso di tali metodiche non è ancora uniforme in Italia, rendendo urgente l'implementazione di percorsi formativi mirati, che possano aumentare la qualità e la sicurezza dell'intervento clinico.

Verso una rete nazionale di centri formati e certificati: A quasi 40 anni dalla introduzione della tossina botulinica in Europa, emerge nettamente la necessità di

- una definizione di criteri minimi di accreditamento per i centri che erogano terapie con BoNT;
- una certificazione di competenza degli operatori attraverso modelli formativi modulari, eventualmente validati da società scientifiche;
- costruzione di una rete nazionale di centri esperti, che possano fungere da riferimento per la formazione, l'aggiornamento, la supervisione clinica e la raccolta dati.

Questa rete, una volta implementata, potrebbe favorire anche l'omogeneizzazione dei flussi informativi e dei registri clinici, consentendo una tracciabilità delle prestazioni e un miglioramento sistematico della qualità.

Integrazione con la formazione universitaria e specialistica: Un altro ambito cruciale è quello dell'inserimento organico della tossina botulinica nei percorsi formativi universitari e post-laurea, incluse le Scuole di Specializzazione in Neurologia, Medicina Fisica e Riabilitativa, Geriatria e Anestesia. Attualmente, la BoNT è spesso trattata in modo frammentario o opzionale nei curricula. Un piano educativo strategico nazionale dovrebbe prevedere:

- moduli teorico-pratici obbligatori;
- tirocini presso centri certificati;
- supervisione da parte di tutor esperti.

Questa integrazione rappresenterebbe un investimento strutturale nella qualità dell'assistenza neurologica sul medio-lungo periodo.

I – Innovazione tecnologica

CRITICITÀ

Nonostante la riconosciuta efficacia e la maneggevolezza della tossina botulinica, emergono alcune problematiche su cui la ricerca sta cercando di dare risposta. Una di queste è la durata di azione terapeutica e la necessità di trattamento periodico con una cadenza circa trimestrale; un'altra è l'effetto "paralizzante" che è ostativo in patologie non motorie come il dolore. Inoltre, la versatilità della molecola apre molti spiragli per altri utilizzi, non solo in campo neurologico, per cui sono in corso numerosi studi.

SFIDE

Negli ultimi anni, la ricerca si sta focalizzando su nuove tossine, con lo scopo di ottimizzare:

- La durata d'azione (rendendola più breve o più lunga in base alla condizione clinica);
- La specificità cellulare (mirando a tipi cellulari o tessuti selezionati);
- Il profilo di sicurezza (riducendo gli effetti collaterali sistemici);
- La versatilità d'uso (includendo nuove indicazioni terapeutiche, anche extra-neurologiche).

Tossine naturali: Una linea di ricerca si è focalizzata su un nuovo sierotipo denominato BoNT/X è stato identificato nel genoma del ceppo 111 di *C. botulinum*, originariamente isolato da un caso di botulismo infantile in Giappone (Zhang et al. 2017) . BoNT/X si è affermato come un promettente veicolo per il rilascio intracellulare di nanocorpi terapeutici, una base per l'ingegnerizzazione della specificità del substrato e un potenziale modo per colpire nuove condizioni mediche. (Carranza et al. 2024). Altre linee di ricerca di sono rivolte ai diversi sottotipi dei classici 8 sierotipi di BoNT: infatti, sono stati identificati più di 40 diversi sottotipi sulla base di studi di similarità degli amminoacidi e di neutralizzazione degli anticorpi.

Tossine ricombinanti e modificazioni molecolari: Le tossine ricombinanti permettono di superare i limiti della tossina naturale, mantenendo la struttura a catena pesante (responsabile del legame con la cellula) e modificando la catena leggera (che agisce come proteasi specifica di SNARE, bloccando il rilascio di neurotrasmettitori). Studi recenti hanno dimostrato che attraverso il "domain swapping" (scambio di domini funzionali) è possibile riprogrammare la tossina per attivare target differenti, ad esempio neuroni sensitivi anziché motoneuroni (Binz & Rummel, 2022).

Questi approcci molecolari permettono la creazione di tossine "su misura", con selettività tissutale e clinica, e rappresentano una nuova era nella farmacologia botulinica, tanto che alcuni autori parlano di "precision toxin therapy" (Leese et al., 2023 Raji 2023).

Verso una tossina "non paralizzante": la frontiera del dolore cronico: Uno dei filoni più promettenti riguarda lo sviluppo di formulazioni "non paralizzanti" per il trattamento del dolore cronico. Sebbene le tossine convenzionali abbiano già mostrato efficacia in molte sindromi dolorose (cefalea cronica, nevralgia, dolore miofasciale), il loro impiego può essere limitato dagli effetti collaterali motori (Debreux et al., 2021).

Per superare questo limite, il gruppo di Leese et al. (2023) ha progettato neurotossine modificate in grado di bloccare la trasmissione nocicettiva a livello delle fibre C e A-delta, senza interferire con la trasmissione motoria. Tali molecole agiscono selettivamente su terminazioni periferiche sensoriali, inibendo il rilascio di neuropeptidi algogeni come la sostanza P, il CGRP e il glutammato, tutti coinvolti nella genesi e cronicizzazione del dolore.

I risultati preclinici mostrano una potente attività analgesica, senza alterazione della forza muscolare, aprendo la strada all'uso della tossina botulinica in condizioni oggi difficili da trattare, come: Dolore neuropatico periferico e centrale; Vulvodinia e dolore pelvico cronico; Emicrania non responsiva; Fibromialgia e sindromi somatiche funzionali.

Altri sviluppi in corso

La pipeline innovativa nel settore include:

- Tossine a rilascio controllato, per ridurre la frequenza delle iniezioni;

- Sistemi di veicolazione con nanocarrier, per migliorare la penetrazione tissutale;
- Modelli intelligenti di iniezione assistita da AI e robotica, attualmente in fase prototipale;
- Tossine chimera per specifici recettori centrali, con potenziale applicazione in psichiatria o neuroinfiammazione. (Brideau-Andersen et al 2023, Nayoub 2025)

Prospettive future

Le tossine ingegnerizzate rappresentano una svolta radicale: non più semplici inibitori della contrazione muscolare, ma veri e propri modulatori delle vie neuronali, con potenziale impiego nel dolore, nella neuroinfiammazione, nella depressione, nella modulazione del microbiota intestinale e persino nell'oncologia (attraverso targeting selettivo dei recettori di superficie tumorali).

La collaborazione tra industria biotech, laboratori accademici e centri clinici sarà cruciale per portare queste molecole dai modelli preclinici all'applicazione clinica, attraverso studi di fase I-III che rispettino i più alti standard di sicurezza.

O – Off-label e nuove indicazioni

CRITICITÀ

Non c'è, forse, campo della medicina in cui una molecola sia stata usata nelle più diverse condizioni cliniche. Le indicazioni in scheda tecnica sono, però, ancora limitate.

SFIDE

Estensione razionale e evidence-based delle applicazioni terapeutiche: L'utilizzo *off-label* della tossina botulinica (BoNT) rappresenta uno dei fronti più dinamici e promettenti della neurologia clinica e della medicina specialistica. L'approvazione delle indicazioni registrate avviene attraverso studi clinici controllati e rigidamente regolamentati, ma in ambito pratico, l'esperienza clinica e i dati emergenti dalla letteratura hanno evidenziato una molteplicità di condizioni patologiche in cui la tossina mostra benefici terapeutici, pur in assenza di registrazione ufficiale.

La crescente mole di evidenze cliniche di buona qualità, unita alla sicurezza dimostrata della molecola nelle varie formulazioni disponibili (BoNT-A e BoNT-B), ha spinto molte

società scientifiche a supportare raccomandazioni per usi off-label sulla base del principio di appropriatezza clinica e proporzionalità del rischio (Jankovic & Truong, 2017; Dressler, 2012).

Si riportano le principali aree di estensione terapeutica off-label, che riguardano le neurologia, attualmente oggetto di ricerca o applicazione in ambito specialistico.

Tremore essenziale e disordini del movimento: La BoNT si è rivelata efficace nella riduzione del tremore essenziale, in particolare degli arti superiori, grazie alla sua azione di blocco presinaptico sul rilascio dell'acetilcolina nei muscoli iperattivi. (Mittal et al., 2012; Samotus et al., 2016). Sono in fase di valutazione anche applicazioni nel tremore cerebellare e nel tremore parkinsoniano, spesso refrattario alla terapia farmacologica. Oltretutto la tossina botulinica trova applicazione in altri disturbi del movimento le discinesie da levodopa, i Tic e le ipercinesie tardive.

Malattia di Parkinson e parkinsonismi atipici: Nelle forme avanzate di malattia di Parkinson e nei parkinsonismi atipici, la tossina botulinica trova impiego per il trattamento di distonie segmentali (es. distonia del piede, mano striatale) e per alterazioni posturali gravi, come la camptocormia e la sindrome di Pisa (Meunier et al., 2012). Il trattamento con BoNT in questi casi permette una riduzione del dolore e un miglioramento della stabilità posturale, pur con risultati variabili in base al fenotipo clinico e alla cronicità del disturbo.

Dolore cronico: L'azione antinocicettiva della BoNT si estende oltre l'effetto miorilassante. Essa inibisce il rilascio di sostanze algogene come glutammato, sostanza P e CGRP, bloccando la sensibilizzazione periferica e centrale. Le applicazioni off-label in questo ambito includono: Cefalea tensiva cronica e cefalea mista, Lombalgia cronica non radicolare, Sindrome del dolore miofasciale (MPS), Nevralgie craniofacciali. Studi controllati hanno confermato l'efficacia della BoNT nella riduzione dell'intensità e frequenza del dolore (Castillo et al., 2009; Lakhan et al., 2016).

Altri sviluppi interessanti riguardano *Disturbi gastrointestinali funzionali* (Coleski & Hasler, 2004), *Iperattività vescicale non neurogena*: (Chapple et al., 2013), *Disturbi dell'umore*: (Finzi & Rosenthal, 2014), *Disturbi craniofacciali* (Lee et al., 2010).

U – Unificazione dei percorsi amministrativi -

CRITICITÀ

A quasi quattro decenni dalla sua introduzione in Europa, la tossina botulinica ha ottenuto un ruolo stabile nell'armamentario terapeutico per numerose patologie neurologiche e non. Tuttavia, la mancanza di un quadro normativo uniforme nella sua erogazione e rendicontazione rappresenta una criticità non più trascurabile. Le disomogeneità amministrative compromettono l'equità di accesso, la sostenibilità del sistema sanitario e la corretta valutazione delle risorse impiegate.

Sistema a "macchia di leopardo": Le modalità di rimborso, prescrizione, dispensazione e codifica della prestazione variano sensibilmente: tra Regioni, a causa di differenze nei tariffari regionali, nei criteri di appropriatezza prescrittiva e nei percorsi clinico-assistenziali; all'interno della stessa Regione, dove diverse Aziende Sanitarie adottano regole difformi, generando un sistema diseguale.

Una recente indagine condotta dalla Rete Italiana Tossina Botulinica (RITB), pubblicata da Marano et al. (2023), ha evidenziato una marcata eterogeneità dei codici di prestazione, delle modalità di registrazione della terapia, e della rendicontazione del farmaco. Alcuni centri utilizzano codici di prestazione riabilitativa, altri codici ambulatoriali, mentre in molti casi manca la tracciabilità del farmaco somministrato, in quanto contabilizzato come "accessorio" alla prestazione clinica. In alcuni contesti, inoltre, la tossina viene fornita come farmaco ospedaliero senza esplicita codifica a livello prescrittivo, impedendo il monitoraggio della spesa e delle indicazioni d'uso.

Fascia H e limitazioni all'utilizzo domiciliare: Un ulteriore ostacolo amministrativo è rappresentato dalla classificazione della tossina botulinica in fascia H, che ne consente la somministrazione esclusivamente in ambito ospedaliero o strutture accreditate. Questa restrizione, pur comprensibile in una logica di controllo della spesa, si traduce in una limitazione pratica molto rilevante, soprattutto per: pazienti con disabilità grave o ridotta mobilità; pazienti in condizioni di allettamento cronico; situazioni geografiche disagiate (es. territori montani o rurali).

La mancata possibilità di trattamenti domiciliari limita l'efficienza del sistema, aumentando le ospedalizzazioni evitabili e riducendo la qualità della presa in carico del paziente cronico.

SFIDE

Verso una governance condivisa nazionale: Per superare queste criticità, è urgente costruire un modello nazionale condiviso, che preveda:

1. Standardizzazione dei codici di prestazione relativi alla somministrazione di tossina botulinica (es. codice univoco ambulatoriale o specialistico).
2. Tracciabilità dei flussi di dispensazione del farmaco attraverso piattaforme regionali e sistemi informatici interoperabili (es. AIFA, NSIS, flussi SIAD).
3. Definizione di un PDTA nazionale, validato da società scientifiche, che integri i livelli di prescrizione, somministrazione e riabilitazione.
4. Integrazione esplicita tra la prestazione clinica e il farmaco, per evitare doppie rendicontazioni o, al contrario, mancato riconoscimento economico delle attività erogate.
5. Valutazione di modelli sperimentali per la somministrazione domiciliare, attraverso equipe mobili o in Day Service infermieristico specialistico.

Discussione e conclusioni:

Alla luce delle criticità individuate, della loro analisi dettagliata grazie all'approccio esperto e alla fattibilità analizzata e all'ausilio dei dati presenti in letteratura, il gruppo di studio SIN *Rete Italiana della Tossina Botulinica* si rende disponibile come interlocutore tecnico e scientifico nell'affrontare le sfide proposte e nell'attuare un confronto con le istituzioni

centrali (Ministero della Salute, AIFA, Agenas), le Regioni e gli enti locali. La RITB pertanto intende:

- Favorire l'elaborazione di buone pratiche amministrative e linee guida gestionali condivise;
- Fornire supporto tecnico per la valutazione dell'impatto economico e clinico delle modifiche normative;
- Collaborare alla costruzione di registri clinici e amministrativi condivisi, per migliorare la raccolta dati e la governance del farmaco.

L'obiettivo finale è promuovere un sistema in cui la tossina botulinica venga riconosciuta non solo come molecola efficace, ma anche come intervento integrato e tracciabile, con chiari criteri di accesso, indicatori di qualità e sostenibilità economica.

Bibliografia:

Agenas. (2021). Rapporto HTA sull'impiego della tossina botulinica nelle patologie neurologiche. Agenzia Nazionale per i Servizi Sanitari Regionali.

Ayoub, N. (2025). Botulinum Toxin Therapy: A Comprehensive Review on Clinical and Pharmacological Insights *J Clin Med* 14(6):2021-2048

Berweck, S., & Wissel, J. (2004). Sonographic imaging for guiding botulinum toxin injections in limb muscles. *Advances in Clinical Neuroscience and Rehabilitation*, 4(4), 28–31.

Binz, T., & Rummel, A. (2022). Molecular biology of botulinum neurotoxins: Diversity and engineering of new therapeutics. *Nature Reviews Microbiology*, 20(1), 59–71.

Brideau-Andersen, A. , Dolly J. O., Brin M.F. (2023) Botulinum neurotoxins: Future innovations *Medicine SA* 94-101.

Carranza, M.M. et al (2024) Activity of botulinum neurotoxin X and its structure when shielded by a non-toxic non-hemagglutinin protein *Commun Chem* 13;7:179 1-15

Castillo, J., Muñoz, P., Guitera, V., & Pascual, J. (2009). Botulinum toxin for the treatment of chronic daily headache: A review of the literature. *Cephalalgia*, 29(4), 424–436.

Chapple, C., Khullar, V., Gabriel, Z., Muston, D., Bitoun, C. E., & Weinstein, D. (2013). The effects of antimuscarinic treatments in overactive bladder: An update of a systematic review and meta-analysis. *European Urology*, 64(4), 543–562.

Coleski, R., & Hasler, W. L. (2004). Botulinum toxin A (BTX) injections for disorders of gastrointestinal smooth muscle. *Current Treatment Options in Gastroenterology*, 7(4), 287–296.

Debreux, K., Carvalho, M., & Truini, A. (2021). Botulinum toxin and neuropathic pain: Mechanisms and clinical applications. *Toxins*, 13(12), 850.

Dressler, D. (2012). Clinical applications of botulinum toxin. *Current Opinion in Microbiology*, 15(3), 325–336.

Dressler, D., & Adib Saber, F. (2019). Botulinum toxin: Mechanisms of action. *European Neurology*, 82(1), 1–5.

Fabrizi, M., et al. (2020). Health economics in botulinum toxin therapy: A framework for evaluation. *Journal of Neurology*, 267(3), 701–709.

Finzi, E., & Rosenthal, N. E. (2014). Treatment of depression with onabotulinumtoxinA: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Journal of Psychiatric Research*, 52, 1–6.

- Francisco, G. E., & McGuire, J. R. (2012). Poststroke spasticity management. *Stroke*, 43(11), 3132–3136.
- Gracies, J. M. (2005). Pathophysiology of spastic paresis. II: Emergence of muscle overactivity. *Muscle & Nerve*, 31(5), 552–571.
- Jankovic, J., & Truong, D. (2017). Botulinum toxins in neurological disorders. *Muscle & Nerve*, 55(4), 469–482.
- Kaji, R., et al. (2010). Botulinum toxin type A in post-stroke lower limb spasticity: A multicenter, double-blind, placebo-controlled trial. *Journal of Neurology*, 257(8), 1330–1337.
- Kaji, R., (2023) A look at the future-new BoNTs and delivery systems in development: What it could mean in the clinic. *Toxicon* 107264
- Lakhan, S. E., & Kirchgessner, A. (2016). Neuroinflammation in chronic pain. *EBioMedicine*, 3, 26–32.
- Lee, S. J., et al. (2010). Effect of botulinum toxin injection on nocturnal bruxism: A randomized controlled trial. *American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation*, 89(1), 16–23.
- Leese C. et al. (2023). Engineered botulinum neurotoxins for non-paralytic treatment of chronic pain. *Life Science Alliance*, 6(6), e202201631.
- Lundström E., Terént A., & Borg J. (2008). Prevalence of disabling spasticity 1 year after first-ever stroke. *European Journal of Neurology*, 15(6), 533–539.
- Marano M., et al. (2024). Comprehensive Observational and Longitudinal study on the Outbreak of Stroke-related Spasticity. *BMJ Open*, 14(6), e085484.
- Marano M, Suppa A, Bono F, Eleopra R, Altavista MC Italian Botulinum Toxin Network — study group of Italian Society of Neurology. (2023) Botulinum toxin in clinical practice: state of the art of administration provisions in Italy. *Neurol Sci*. 44(5):1777-1782.
- Meunier S., et al. (2012). Botulinum toxin in the treatment of camptocormia: A double-blind, placebo-controlled study. *Neurology*, 78(2), 140–146.
- Ministero della Salute. (2022). Guida ai farmaci in fascia H: definizioni e modalità di dispensazione. Direzione Generale della Programmazione Sanitaria.
- Rizzo, M. A., et al. (2004). Prevalence and treatment of spasticity reported by multiple sclerosis patients. *Multiple Sclerosis*, 10(5), 589–595.
- Rossetto, O., Pirazzini, M., & Montecucco, C. (2014). Botulinum neurotoxins: Genetic, structural and mechanistic insights. *Nature Reviews Microbiology*, 12(8), 535–549.

Wissel, J. et al. (2010). Early development of spasticity following stroke: A prospective, observational trial. *Journal of Neurology*, 257(7), 1067–1072.

Zhang, S. et al. (2017). Identification and characterization of a novel botulinum neurotoxin. *Nat Commun* 3;8:141-151