

FACULDADE SETE LAGOAS – FACSETE
ESPECIALIZAÇÃO EM HARMONIZAÇÃO OROFACIAL

CAROLINA SANCHES RODRIGUES

TOXINA BOTULÍNICA DO TIPO A – CONCEITO E MECANISMO DE AÇÃO

São Paulo

2023

CAROLINA SANCHES RODRIGUES

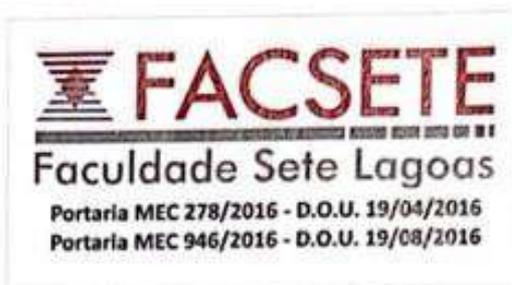
TOXINA BOTULÍNICA DO TIPO A – CONCEITO E MECANISMO DE AÇÃO

Monografia apresentada ao curso de especialização Lato Sensu da Faculdade Sete Lagoas – FACSETE, como requisito parcial para obtenção do título de Especialista em Harmonização Orofacial.

Orientadora: Prof.^a. Dra. Marcia Maria Altavista Romão

Área de concentração: Odontologia

São Paulo
2023



CAROLINA SANCHES RODRIGUES

TOXINA BOTULÍNICA DO TIPO A – CONCEITO E MECANISMO DE AÇÃO

Monografia apresentada ao curso de especialização Lato Sensu da Faculdade Sete Lagoas – FACSETE, como requisito parcial para obtenção do título de Especialista em Harmonização Orofacial.

Área de concentração: Odontologia

Aprovada em 1 / 1 pela banca constituída dos seguintes professores:

Prof.ª Dra. Patrícia Batalha – FACSETE

Prof.ª Dra. Eliane Plácido – FACSETE

São Paulo, 22 de julho de 2023

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela minha vida, e por me ajudar a enfrentar e vencer os obstáculos encontrados ao longo do curso.

À família e amigos, que me incentivaram nos momentos difíceis e compreenderam minha ausência enquanto eu me dedicava à mais esta formação acadêmica.

Aos professores, em especial à professora Dra. Marcia Maria Altavista Romão, pelos ensinamentos e orientações que me permitiram um melhor desempenho no meu processo de formação profissional.

RESUMO

A toxina botulínica, descoberta ocasionalmente no século XVIII, é classificada como uma proteína e é produzida pela bactéria *Clostridium botulinum*.

Utilizada tanto para fins terapêuticos quanto estéticos, a toxina age nas terminações nervosas bloqueando os canais de cálcio, o que inibe a liberação de acetilcolina e, por consequência, causa a paralisia temporária do músculo tratado.

Para que estes fins fossem descobertos e para que novos usos também possam ser, a pesquisa sobre a toxina é contínua, desde sua descoberta até os dias atuais, com seu uso terapêutico iniciado predominantemente a partir da década de 60.

Assim, esta revisão mostra as principais descobertas sobre o conceito e mecanismo de ação da toxina neste período de estudo.

Palavras-chave: toxina botulínica; neurotoxina; mecanismo de ação; uso terapêutico.

ABSTRACT

Botulinum toxin, occasionally discovered in the 18th century, is classified as a protein and is produced by the bacterium *Clostridium botulinum*.

Used for both therapeutic and aesthetic purposes, the toxin acts on nerve endings by blocking calcium channels, which inhibits the release of acetylcholine and, consequently, causes temporary paralysis of the treated muscle.

For these purposes to be discovered and for new uses to be discovered, research on the toxin is continuous, from its discovery to the present day, with its therapeutic use predominantly starting in the 60s.

Thus, this review shows the main findings about the toxin's concept and mechanism of action in this study period.

Keywords: botulinum toxin; neurotoxin; mechanism of action; therapeutic use.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Representação tridimensional da Toxina Botulínica Tipo A	13
FIGURA 2: Mecanismo de Ação da Toxina Botulínica	15

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	8
2. METODOLOGIA	9
3. REVISÃO DE LITERATURA	10
3.1. CONCEITO.....	10
3.2. CARACTERIZAÇÃO DA MOLÉCULA	12
3.3. MECANISMO DE AÇÃO	13
3.4. FARMACOLOGIA E DURAÇÃO DE AÇÃO.....	14
4. DISCUSSÃO.....	17
5. CONCLUSÃO.....	18
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	19

1 INTRODUÇÃO

A toxina botulínica, naturalmente, é uma neurotoxina classificada como proteína de origem biológica e produzida pela bactéria *Clostridium botulinum*.

Entretanto, o tipo A desta toxina é obtido laboratorialmente, e é uma substância cristalina estável, liofilizada em albumina humana e apresenta-se em frasco a vácuo estéril.

Houve um extenso caminho percorrido por estudiosos, responsáveis pela abertura de um mercado importante na indústria médica e odontológica, seja para estética ou fins terapêuticos, graças a descoberta detalhada de seu funcionamento.

Em dias atuais, sabe-se que a toxina botulínica age bloqueando a liberação pré-sináptica do neurotransmissor acetilcolina e, conseqüentemente, causa a paralisação do músculo tratado.

O objetivo desta revisão de artigos é demonstrar estas descobertas obtidas por meio de estudos, análises e testes, iniciados no século XVIII, sobre o conceito e mecanismo de ação da toxina botulínica.

2 METODOLOGIA

No período de março de 2023 até julho de 2023, uma pesquisa sobre a toxina botulínica foi realizada por meio dos artigos indexados nas plataformas de busca Google Acadêmico e Pubmed.

Para esta pesquisa, os termos utilizados foram “toxina botulínica”, “tipo A”, “conceito”, “farmacologia”, “mecanismo de ação” e “ação no corpo humano”.

Os artigos considerados para revisão tiveram como 2013 o ano inicial e 2023 como o ano final (intervalo de 10 anos de pesquisas), sem preferência pelo idioma, com exceção de quatro artigos de 2003 a 2009, para que fosse possível confrontar os artigos atuais.

A leitura do conteúdo literário pesquisado foi realizada com atenção, com o objetivo de recolher as principais informações obtidas e organizá-las em subcategorias necessárias para a apresentação do tema proposto neste trabalho.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 CONCEITO

A descoberta ocasional da toxina botulínica (TxBo) até, de fato, se tornar um fármaco de uso terapêutico e estético é uma história interessante.

No final do século XVIII, na Alemanha, houve uma grande privação de diversos itens básicos e de necessidades essenciais durante as guerras Napoleônicas.

Desta forma, alimentos como salsichas e outros embutidos contaminados eram consumidos e, como consequência ocorreram números altíssimos de mortes.

Assim, houve uma grande mobilização dos estudiosos da época para descoberta da origem e efeitos desta bactéria. Em 1817, Autenrieth fez uma publicação nos Periódicos de Ciências Naturais e Farmacologia de Tübingen, listando os sintomas da doença, que nominou “sintomas do veneno de salsicha”, e adicionou um comentário que responsabilizava as “donas de casa pela doença, pois estas não ferviam adequadamente as salsichas antes de seu consumo”.

Em 1822, Justinus Kerner, médico de 29 anos, teve destaque nestes estudos. Ele relacionou o ácido gorduroso que as salsichas deterioradas possuíam com os efeitos do botulismo e levantou a primeira teoria de tratamento para transtornos de hiperatividade muscular através do uso deste ácido.

Mas apenas um século depois, em 1895, Émile Pierre-Marie van Ermengem, bacteriologista da Universidade de Ghent, na Bélgica, identificou o “Bacillus botulinus”, depois nomeada Clostridium botulinum, uma bactéria Gram-positiva, anaeróbia, com forma de bastonete, assim como a substância que produz a toxina botulínica, em latim: botulus, que significa salsicha.

Anos depois, com outro surto de botulismo na Alemanha, em 1904, a teoria de que o botulismo era causado somente por carne ou peixe contaminados foram

derrubadas. Isso porque agora o surto aconteceu com feijão enlatado. Assim, foram criadas técnicas para prevenir a proliferação da bactéria na produção de alimentos enlatados. Com isso, novos estudos surgiram e trouxeram a teoria de que existem diferentes tipos de *Clostridium botulinum* e, por consequência, de toxinas botulínicas.

Em 1919, Georgina S. Burke, do Laboratório de Bacteriologia e Patologia Experimental da Universidade de Stanford, Califórnia, Estados Unidos (EUA) nomeou os dois primeiros tipos de tipos descobertos, Tipo A e Tipo B, utilizados atualmente (Erbguth, 1996).

E apenas em 1958, sua forma purificada como ácido precipitado estável foi isolada pela primeira vez por dois cientistas, P. Tessmer Snipe e Hermann Sommer (1889 – 1950). Em 1953, Vernon B. Brooks (1932), um fisiologista canadense, percebeu que a toxina botulínica quando injetada em pequena quantidade em um músculo determinado bloqueava a liberação de acetilcolina nas terminações nervosas, promovendo uma hipomobilidade temporária deste mesmo músculo. (Erbguth, 2008). E por isso, atribui-se o crédito pela teoria de que a toxina botulínica teria capacidade de paralisar a atividade muscular seja de Brooks.

E apesar deste antigo início das pesquisas, apenas na década de 60, quando Alan Scott, Oftalmologista dos Estados Unidos, fez pela primeira vez o uso terapêutico da toxina botulínica acontecer com sucesso. Ele analisou o efeito de diferentes soluções injetadas nos músculos extraoculares e após ter conhecido os experimentos em animais feitos por Daniel Drachman, um neurologista da Universidade de Hopkins, EUA (que usava a toxina botulínica na denervação de membros posteriores de galinhas), é que iniciou seus trabalhos com injeções de toxina em seres humanos. Os dois então, estabeleceram uma parceria de muitos anos desenvolvendo a toxina botulínica (Truong, 2013).

Apesar do desenvolvimento de todas as análises e descobertas, apenas no final dos anos oitenta a toxina botulínica teve a aprovação pela Food and Drug Administration (FDA) para tratamentos relacionados à distúrbios do movimento, com

segurança e eficiência ratificadas por consenso do National Institutes of Health (NIH) logo em seguida, em 1990.

Segundo Oliveira *et al.* (2020), a toxina botulínica possui elevada afinidade pelas sinapses colinérgicas, age bloqueando a liberação de neurotransmissores responsáveis pela contração muscular, atuando principalmente na inibição da exocitose de Acetilcolina (ACh) na fenda pré-sináptica, por isso é umas das toxinas mais potentes encontradas na natureza e em pequenas doses a utilização pode ser empregada como uma espécie de agente terapêutico em tratamentos das mais variadas áreas da saúde, tais como: Neurologia, Fisioterapia, Oftalmologia, Gastroenterologia, Urologia e até mesmo Ginecologia, entre outras especialidades.

3.2 CARACTERIZAÇÃO DA MOLÉCULA

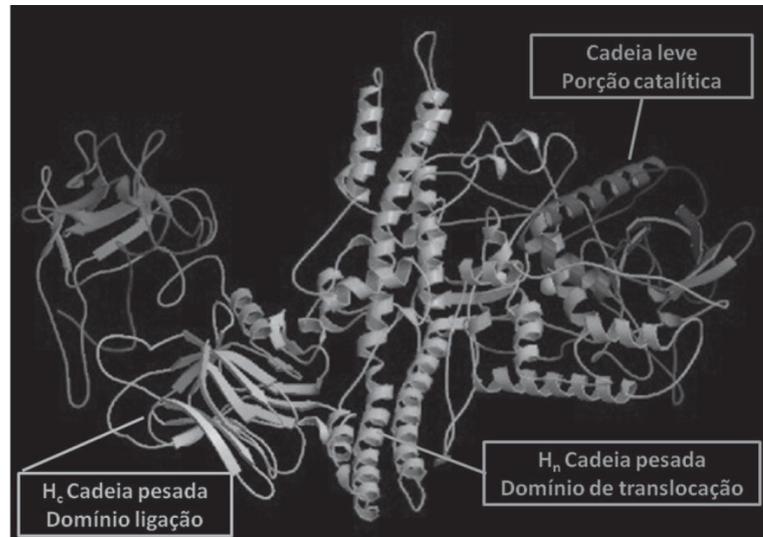
Bioquimicamente, como descrita por SPOSITO (2009) e BRATZ *et al.* (2017), é possível defini-la, do ponto de vista estrutural, como uma cadeia polipeptídica simples de 150 kDa composta por três porções, denominadas de BONTOXILYSIN, com massa de 50 kDa cada.

As duas cadeias pesadas (Hc e Hn) juntas somam 100 kDa, contêm dois domínios, o de ligação e o de translocação, e são responsáveis pela adesão aos receptores extracelulares (Hc) e internalização (Hn) da toxina botulínica na célula nervosa, além de ajudar a translocação da cadeia leve para o citoplasma do neurônio.

Já a cadeia leve (L) é longa, pode variar entre 422 e 447 segmentos peptídicos, contém o domínio enzimático, possui massa de 50 kDa, é responsável pela atividade metaloproteásica zinco dependente que impede a liberação dos neurotransmissores, através do bloqueio das vesículas de fusão pré-sinápticas e como resultado, desenvolve diferentes papéis no processo de intoxicação celular e conseqüente bloqueio funcional.

A parte ativa da molécula da neurotoxina do *Clostridium botulinum* é formada por uma única cadeia polipeptídica composta por 1295 aminoácidos.

Figura 1: Representação tridimensional da Toxina Botulínica Tipo A



Fonte: Allergan, Inc. ©2003.

3.3 MECANISMO DE AÇÃO

A contração muscular acontece graças a ação que os nervos motores fazem sobre os músculos pelas junções mioneurais. Em uma contração muscular, o impulso nervoso consegue despolarizar o axônio terminal dos nervos motores iniciando um processo que termina com a liberação de acetilcolina do interior do citosol do neurônio à fenda sináptica, acontecendo a despolarização do sarcolema da fibra muscular pela abertura dos canais do íon cálcio, gerando a contração muscular (Welch *et al.*, 2000).

A liberação da acetilcolina na fenda sináptica acontece por um conjunto de proteínas transportadoras chamadas complexo SNARE (*soluble nethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor*), que permite a fusão das vesículas que carregam acetilcolina com a membrana plasmática do neurônio eferente, possibilitando a exocitose deste neurotransmissor na fenda sináptica (Apostolidis *et al.*, 2006; Welch *et al.*, 2000).

O complexo SNARE é feito de proteínas responsáveis pela movimentação vesicular e do processo de fusão vesicular. É dividido em dois tipos: os SNAREs, associados a vesículas (v-SNAREs), e os SNAREs-alvos (t-SNAREs), associados à membrana do neurotransmissor.

O v-SNARE é conhecido como sinaptobrevina ou VAMP (*vesicle-associated membrane protein*), e está localizado na membrana das vesículas sinápticas. Os t-SNAREs estão ligados à membrana plasmática e são constituídos por duas proteínas: a sintaxina e a SNAP-25 (*synaptosomal protein*, com peso molecular de 25 kDa). Para que o processo de exocitose da acetilcolina seja executado, as três proteínas SNARE precisam se conectar simultaneamente.

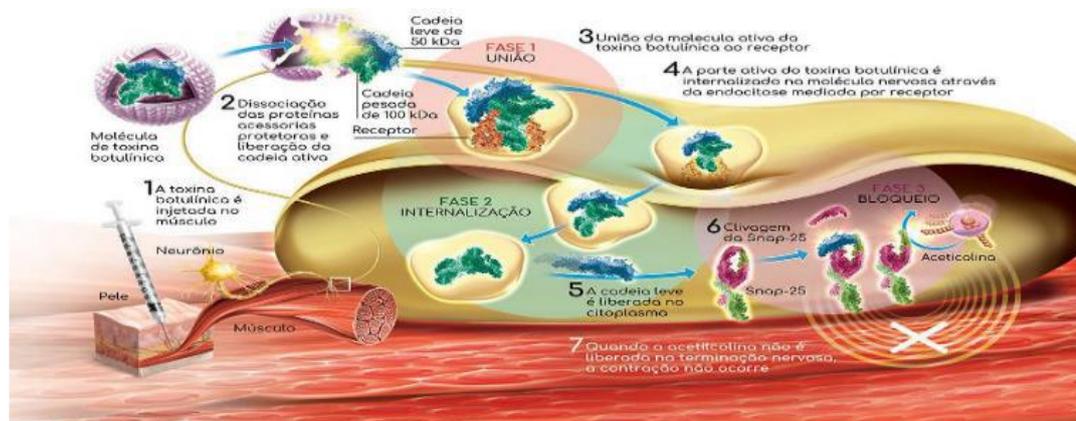
Após sua injeção via intramuscular, a toxina botulínica atinge os terminais nervosos mediante dispersão e difusão, e três etapas podem ser consideradas durante o seu mecanismo de ação, a ligação à célula-alvo e internalização, a translocação e a inibição da liberação de neurotransmissores. (Dolly e Aoki, 2006)

Na primeira etapa, a cadeia pesada (H) é ligada de forma irreversível aos receptores colinérgicos pré-sinápticos – elementos específicos para neurotoxinas variadas. Essa ligação acontece graças à alta afinidade da cadeia pesada pelos receptores colinérgicos da membrana celular do neurônio eferente alvo (Aoki, 2004). Uma vez injetada no músculo, a cadeia pesada da neurotoxina, o domínio Hc, se liga aos gangliosídeos que ficam na parte externa da membrana celular dos terminais nervosos motores e, na sequência, o processo de internalização acontece. (Popoff *et al.*, 2001; Rossetto *et al.*, 2004).

Na segunda etapa, acontece a internalização endócrina da toxina, que é mediada pelos receptores pré-sinápticos através da cadeia pesada e traz a formação de vesículas com a neurotoxina no interior, segundo Colhado *et al.* (2009). Uma vez dentro do neurônio, a molécula de toxina botulínica fica contida no endossoma (vesícula neuronal), que interage com o domínio de translocação da cadeia pesada (HN), facilitando a liberação da cadeia leve no citoplasma do neurônio motor (Aoki, 2004; Popoff *et al.*, 2001; Rossetto *et al.*, 2004).

E, por fim, a terceira etapa é o bloqueio neuromuscular, que tem atividade catalítica e é translocada do endossoma para o citoplasma neuronal e fragmenta as proteínas SNAREs de acordo com a especificidade de cada tipo de toxina. A inibição da liberação de acetilcolina acontece devido a uma quebra de ligações peptídicas específicas do complexo SNARE. Este processo proteolítico zinco dependente é mediado pela cadeia leve da neurotoxina que possui um átomo zinco na sua estrutura que é fundamental para cumprir esta função (Aoki, 2004; Popoff *et al.*, 2001; Rossetto *et al.*, 2004; Page *et al.*, 2004; Welch *et al.*, 2000).

Figura 2: Mecanismo de ação da Toxina Botulínica



Fonte: (FLAVIO, 2018).

3.4 FARMACOLOGIA E DURAÇÃO DE AÇÃO

De acordo com Carvalho e Gagliani (2018), o princípio ativo da toxina botulínica é formado por um complexo composto por neurotoxinas e proteínas não tóxicas. Os sorotipos A e B, comercializados, são considerados substâncias cristalinas, liofilizadas, estáveis diluídas em NaCl e produzidas em laboratórios.

Os efeitos podem ser notados entre 3 e 5 dias após a aplicação e a durabilidade aproximada desses efeitos é de 6 meses. Mas, no terceiro mês há diminuição dos

resultados, no entanto, o tempo de ação da toxina pode sofrer alterações a depender da patologia a que é destinado o uso.

De acordo com Duarte (2019), a absorção da toxina é feita por meio do trato digestivo, chegando assim na corrente sanguínea onde também é levada em direção aos terminais neuromusculares. Se houver absorção cutânea, a toxina é transportada pelo sistema linfático para os terminais neuromusculares.

Em torno de dois meses depois de a neurotoxina agir sobre os terminais nervosos alvos alterando seu correto funcionamento, as junções neuromusculares começam uma fase de autorrecuperação para restabelecer a função do músculo afetado. Durante a fase de recuperação precoce, o terminal nervoso afetado gera brotamentos axonais, os quais restabelecem temporariamente a função do músculo, uma vez que estabelecem nova conexão sináptica com a fibra muscular.

Na fase de recuperação tardia, a junção neuromuscular afetada inicialmente, recompõe sua função de exocitose, e os brotamentos axonais formados na etapa precoce regridem (Paiva et al., 1999).

Após finalizar a fase de recuperação tardia, o tecido afetado repara completamente sua funcionalidade, não havendo evidências clínicas de deficiências nesta nova inervação.

4 DISCUSSÃO

Durante o século XVIII, na Alemanha, muitas mortes foram causadas pela intoxicação do *Clostridium botulinum*, bactéria que se encontrava em alimentos contaminados. Devido aos altos e crescentes números de mortes, em 1822, o médico alemão Justinus Kerner, começou um estudo sobre a toxina botulínica, sendo o primeiro pesquisador a fazer referência ao envenenamento por salsicha, pois acreditava-se, inicialmente, que ela era a causa da intoxicação. (MATOS MB, *et al.*, 2017).

A toxina botulínica é um peptídeo hidrofílico de origem biológica, com alta massa molecular e de baixa difusibilidade nos tecidos, produzido pelo *Clostridium botulinum*, que são bactérias anaeróbias gram-positivas que formam esporos. Existem sete neurotoxinas botulínicas distintas; A, B, C, D, E, F e G, e uma oitava, H, que ainda está em pesquisa. Cada uma com características e massas moleculares diferentes e sendo o tipo A e B os mais usados na área da saúde. São capazes de causar efeitos conhecidos e controlados sobre a musculatura. (ZATTI, 2013).

A toxina botulínica, depois de aplicada na musculatura, dirige-se para as terminações nervosas, ocasionando o bloqueio dos canais de cálcio, coibindo a liberação de acetilcolina e por consequência desse mecanismo promovendo o relaxamento ou paralisia do musculo alvo de forma transitória. (SILVA NETO *et al.*, 2019)

Seu restabelecimento fisiológico ocorre, em média, e gradativamente, dois a três meses após sua aplicação. Assim, observa-se que a reversão da paralisia acontece por meio do brotamento neural, onde ocorre o desenvolvimento dos brotos axonais e a reinervação, e formação de novas placas terminais menores. A reinervação muscular acontece pela regeneração de proteínas de acoplamento das vesículas de acetilcolina cuja função geralmente é restabelecida entre um e quatro meses (CALZA SC, *et al.*, 2015).

5 CONCLUSÃO

A toxina botulínica é um agente terapêutico e estético recomendado para diversos fins, tornando-se coadjuvante na área da saúde atual, quando se refere a tratamentos musculares.

Mesmo após décadas de estudos, à medida que seu mecanismo de ação é esmiuçado observa-se que a toxina ainda gera grande interesse no meio científico, dado o crescente número de descobertas relacionadas ao seu uso, como vacinas, novas formulações estéticas e terapêuticas.

Assim, devido aos múltiplos benefícios, é visível a valorização deste agente, seja pela indústria, pelos pacientes ou pelos profissionais da área da saúde e estética, ao longo de sua história.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBOSA, C. M. R.; BARBOSA, J. R. A. Toxina Botulínica em Odontologia. Rio de Janeiro: Elsevier, 2017.

BISPO, Luciano Bonatelli. A toxina botulínica como alternativa do arsenal terapêutico na odontologia. São Paulo: UNICID, 2019.

BRATZ, Pâmela Dominik Engers. *et al.* Toxina botulínica tipo A: Abordagens em saúde. Santo Ângelo: Revista Saúde Integrada, v. 8, n. 15-16, 2015.

CAMPOS, Eduarda Pautz. *et al.* Toxina Botulínica tipo A: Ações farmacológicas e uso na estética facial. Mineiros: RSM, v. 9, p. 42-51, Março, 2021.

CARVALHO, Manuela Feitosa de. *et al.* Utilização da toxina botulínica em distúrbios temporomandibulares: Uma revisão sistemática. Curitiba: Brazilian Journal of Health Review, v. 3, n. 6, p. 19160-19168, Novembro-Dezembro, 2020.

COLHADO, Orlando Carlos Gomes da. *et al.* Toxina botulínica no tratamento da dor. Maringá: Revista Brasileira de Anestesiologia, v. 59, n. 3, Maio-Junho, 2009.

CORREA, Grace Kelly Alves Silva. *et al.* Utilização da toxina botulínica tipo A para fins terapêuticos. Ipatinga: BJSCR, v. 26, n. 3, p. 61-65, Março-Maio, 2019.

DRESSLER, Dirk. *et al.* Botulinum toxin: Mechanisms of action. Rostock: Rostock University, 2004.

FUJITA, Rita Lilian Rodrigues. *et al.* Aspectos relevantes do uso da toxina botulínica no tratamento estético e seus diversos mecanismos de ação. Porto Velho: Centro Universitário São Lucas, 2019.

KUHN-DALL'MAGRO, Alessandra. *et al.* Aplicações da toxina botulínica em odontologia. Bauru: SALUSVITA, v. 34, n. 2, p. 371-382, 2015.

KUHN-DALL'MAGRO, Alessandra. *et al.* Tratamento do sorriso gengival com toxina botulínica tipo A: relato de caso. Passo Fundo: RFO, 2015.

MATOS, Mara Bispo de. *et al.* O uso da toxina botulínica na correção do sorriso gengival. Vitória: LILACS, 2017.

MONOGRAFIAS BRASIL ESCOLA – Toxina Botulínica: Aplicação e farmacologia associada a fins terapêuticos – Disponível em: <
<https://monografias.brasilecola.uol.com.br/saude/toxina-botulinica-aplicacao-e-farmacologia-associada-a-fins-terapeuticos.htm>>. Acesso em: 30 de jul. de 2023.

NETO, José Milton de Aquino e Silva. *et al.* Protocolos de Aplicação de Toxina para Sorriso Gengival: uma revisão de literatura. Maceió: CESMAC, 2019.

OLIVEIRA, Camila Cristine Araújo. *et al.* Toxina botulínica: contexto histórico, molecular e de aplicação prática na área da saúde. Pombal: Revista Brasileira de Educação e Saúde, v. 10, n. 2, p. 01-10, Abril-Junho, 2020.

ROCHA, Ariana Tomazia; BAIENSE, Alex Sandro Rodrigues. Aplicação de toxina botulínica: ação farmacológica. São Paulo: Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação, 2023.

SANTO, Evelyn Del. Tratamento das hiperidroses com a toxina botulínica tipo A. São Paulo: Faculdades BWS Brasil, 2019.

SPOSITO, Maria Matilde de Mello. Toxina botulínica tipo A para bruxismo: Análise sistemática. Jandiatuba: ACTA FISIÁTR. 2014.

SPOSITO, Maria Matilde de Mello. Toxina botulínica tipo A: Mecanismo de ação. São Paulo: ACTA FISIÁTR. 2009.

SPOSITO, Maria Matilde de Mello. Toxina botulínica tipo A - Propriedades farmacológicas e uso clínico. São Paulo: ACTA FISIÁTR. 2009; Suplemento 01.

SILVA, Maressa Lima da. *et al.* Utilização da toxina botulínica para fins terapêuticos. Guaraf: Research, Society and Development, v. 10, n. 14, Novembro, 2021.

ZATTI, Cássio Adriano. Botulismo: Conhecendo os casos brasileiros notificados entre 2007 a junho de 2013. Revista Contexto & Saúde. 2013.