



Complexo Educacional Faculdade Metropolitanas Unidas (FMU) – AV. Santo Amaro, 1239 – Vila Nova Conceição, São Paulo – SP, 04505-002

## IMUNOGENICIDADE ASSOCIADA AO TRATAMENTO COM TOXINA BOTULÍNICA

### *IMMUNOGENICITY ASSOCIATED WITH BOTULINUM TOXIN TREATMENT*

### *INMUNOGENICIDAD ASOCIADA AL TRATAMIENTO CON TOXINA BOTULÍNICA*

Kamila Aquino de Souza<sup>1</sup>, Laura Teixeira Rodrigues da Silva<sup>1</sup>, Gabriel Lima de Freitas<sup>2</sup>

<https://doi.org/10.47820/recima21.v4i1.4227>

PUBLICADO: 10/2023

#### **RESUMO**

**Introdução:** O envelhecimento cutâneo é um fator inevitável e natural de todos os seres humanos. A fim de se alcançar a prevenção aos sinais de envelhecimento e melhora da autoestima, como amenizar rugas e linhas de expressão, os tratamentos estéticos vem aumentando, sendo os tratamentos à base de toxina botulínica os mais buscados no mundo todo, entretanto, pouco se aborda sobre a resistência imunológica e efeitos a longo prazo. **Objetivo:** Discutir os efeitos do tratamento com toxina botulínica no decorrer dos anos e as causas de resistência e do “efeito vacina”. **Método:** Trabalho de revisão de literatura, tendo como fonte de pesquisa artigos publicados em periódicos nacionais e internacionais. **Discussão:** Além do envelhecimento intrínseco, temos que considerar o extrínseco, que está relacionado com fatores externos e ao estilo de vida do indivíduo, diversos fatores influenciam a imunogenicidade das neurotoxinas botulínicas, tais como: fatores relacionados ao produto, ao processo de fabricação, à carga proteica antigênica e à presença de proteínas acessórias, o sistema imunológico tem memória cumulativa e estudos mostram que a formação de anticorpos em pacientes de tratamentos estéticos é rara, sendo que aqueles que desenvolveram anticorpos, receberam doses da formulação acima do indicado, com intervalo menor que um mês entre as injeções ou então sofreram reação cruzada a outros anticorpos decorrentes de múltiplas vacinas antitetânicas, uma vez que a proteína da toxina botulínica tem partes de sua estrutura homólogas à estrutura produzida pelo *Clostridium tetani*.

**PALAVRAS CHAVE:** Toxina Botulínica. Imunogenicidade. Imunorresistência. Anticorpos Neutralizantes.

#### **ABSTRACT**

**Introduction:** Skin aging is an inevitable and natural factor of all human beings. In order to achieve prevention of the signs of aging and improvement of self-esteem, such as smoothing wrinkles and expression lines, aesthetic treatments have been increasing, with treatments based on botulinum toxin being the most sought after worldwide, however, little is addressed about immune resistance and long-term effects. **Objective:** To discuss the effects of botulinum toxin treatment over the years and the causes of resistance and the “vaccine effect”. **Method:** Literature review work, having as source of research articles published in national and international journals. **Discussion:** In addition to intrinsic aging, we have to consider the extrinsic, which is related to external factors and the lifestyle of the individual, several factors influence the immunogenicity of botulinum neurotoxins, such as: factors related to the product, the manufacturing process, the antigenic protein load and the presence of accessory proteins,

<sup>1</sup> Graduandas do Curso de Biomedicina.

<sup>2</sup> Biomédico Pós graduado em Cosmetologia e Estética Avançada.

E-mail: kamila.aquinos@hotmail.com; laurateixeira560@gmail.com; glima401@gmail.com

*the immune system has cumulative memory and studies show that the formation of antibodies in patients of aesthetic treatments is rare, and those who developed antibodies, received doses of the formulation above the indicated, with an interval of less than one month between injections or else suffered cross-reaction to other antibodies resulting from multiple tetanus vaccines, since the botulinum toxin protein has parts of its structure homologous to the structure produced by Clostridium tetani.*

**KEYWORDS:** *Botulinum Toxin. Immunogenicity. Immuno-resistance. Neutralizing Antibodies.*

### **RESUMEN**

*Introducción: El envejecimiento cutáneo es un factor inevitable y natural de todos los seres humanos. Con el fin de lograr la prevención de los signos del envejecimiento y la mejora de la autoestima, como suavizar arrugas y líneas de expresión, los tratamientos estéticos han ido en aumento, siendo los tratamientos basados en la toxina botulínica los más buscados a nivel mundial, sin embargo, poco se aborda sobre la resistencia inmune y los efectos a largo plazo. Objetivo: Discutir los efectos del tratamiento con toxina botulínica a lo largo de los años y las causas de la resistencia y el "efecto vacuna". Método: Trabajo de revisión bibliográfica, teniendo como fuente de investigación artículos publicados en revistas nacionales e internacionales. Discusión: Además del envejecimiento intrínseco, tenemos que considerar el extrínseco, que está relacionado con factores externos y el estilo de vida del individuo, varios factores influyen en la inmunogenicidad de las neurotoxinas botulínicas, tales como: factores relacionados con el producto, el proceso de fabricación, la carga proteica antigénica y la presencia de proteínas accesorias, el sistema inmune tiene memoria acumulada y estudios muestran que la formación de anticuerpos en pacientes de tratamientos estéticos es raro, y aquellos que desarrollaron anticuerpos, recibieron dosis de la formulación por encima de la indicada, con un intervalo de menos de un mes entre inyecciones o bien sufrieron reacción cruzada a otros anticuerpos resultantes de múltiples vacunas contra el tétanos, ya que la proteína toxina botulínica tiene partes de su estructura homólogas a la estructura producida por Clostridium tetani.*

**PALABRAS CLAVE:** *Toxina Botulínica. Inmunogenicidad. Inmunorresistencia. Anticuerpos neutralizantes.*

### **INTRODUÇÃO**

Envelhecer é um processo natural que ocorre desde que nascemos, este processo pode ser definido como um conjunto de modificações fisiológicas irreversíveis e inevitáveis. E com o passar dos anos, são esperadas mudanças fisiológicas e morfológicas na pele do indivíduo, estruturas e funções vão se modificando, decorrentes de agressões físicas, químicas e mecânica, além da redução de colágeno que costuma ocorrer com o passar dos anos, sendo parte da culpa a queda da produção de hormônios sexuais, assim reduzindo o potencial das células que sintetizam colágenos, além de fatores extrínsecos como exposição excessiva ao sol, tabagismo e maus hábitos alimentares, sedentarismo e falta de uma rotina de cuidados. Em virtude do que foi mencionado, atualmente os procedimentos estéticos têm tido uma alta procura, pessoas buscam a prevenção do envelhecimento cutâneo, uma vez que este promove alterações estéticas na pele, como rugas e flacidez.

A toxina botulínica tem sido utilizada tanto na estética quanto em procedimentos terapêuticos, é muito escolhida por ser um procedimento minimamente invasivo, temporário, potente, seguro e eficaz, além de evitar o uso de meios cirúrgicos para alcançar o resultado esperado.

Dessa forma, o objetivo desse estudo foi discutir a imunogenicidade da Toxina Botulínica em tratamentos estéticos e possíveis causas de falhas em seu processo ou má conduta profissional. Foi realizada uma revisão de literatura nas plataformas Pubmed, Scielo e Revistas Científicas, tendo como fonte de pesquisa artigos publicados com periódicos nacionais e internacionais a partir de 2010

até atualmente. Como critérios de inclusão neste trabalho, foram adicionados artigos que investigaram a redução dos efeitos da Toxina Botulínica a longo prazo e causas para a criação de anticorpos com o uso de aplicações repetidas em pequenos espaços de tempo.

## **CONSIDERAÇÕES GERAIS**

### **ORIGEM DA TOXINA BOTULÍNICA**

A história da toxina botulínica teve início em 1817, com a descoberta do botulismo pelo médico alemão Justino Kerner, que associou as mortes por intoxicação alimentar em humanos com a toxina encontrada em salsichas infectadas. Ele também foi o primeiro a estudar os potenciais usos terapêuticos desta toxina <sup>2</sup>. Emelie Pierre Van Ermengem, uma microbiologista belga, após verificar um surto de casos decorrentes da ingestão de presunto defumado em 1897, conseguiu isolar um agente patogênico nas fezes de um paciente contaminado e então denominou o microrganismo de *Bacillus Botulinus*, que foi posteriormente renomeado *Clostridium Botulinum* em 1922.<sup>3</sup>

Foi no ano de 1973, que após diversos estudos, Allan Scott revolucionou a área médica da toxina botulínica, visto que seu trabalho com macacos permitiu demonstrar eficácia dela no estrabismo <sup>3</sup>. A Toxina Botulínica foi a primeira proteína proveniente de microorganismos a ser utilizada como alternativa para o tratamento de doenças humanas. Devido suas características capazes de paralisar a musculatura esquelética, esta toxina tem sido utilizada há mais de 20 anos em diversos tratamentos terapêuticos sobre os músculos que contraem de maneira inapropriada ou exagerada. Foi apenas no ano de 1989 que a “*Food and Drug Administration*” (FDA), agência federal do departamento de saúde e serviços humanos dos Estados Unidos, autorizou o uso da toxina botulínica sorotipo A, após anos de estudo em voluntários. Foi aprovada inicialmente para o tratamento do estrabismo e blefarospasmo associado à distonia.

O Botox® (toxina botulínica tipo A) tem sido um grande aliado em procedimentos terapêuticos e estéticos. Foi quando em um tratamento de blefaroespasmo, observou-se outros efeitos, como a diminuição das rugas de expressão, que acabou inspirando estudos sobre a sua aplicação cosmética <sup>4</sup>. A toxina botulínica A é um dos procedimentos estéticos não cirúrgicos mais realizado nos Estados Unidos e no Brasil, que foi liberada em 1992 pelo Ministério da Saúde. De acordo com Santos (2013), foi a pioneira em técnicas não invasivas para o envelhecimento e colaborou para o surgimento da era dos injetáveis. Líder de mercado, o Botox® foi o primeiro produto registrado e licenciado pelo laboratório Allergan, sendo a marca mais conhecida e utilizada no Brasil.

### **MECANISMO DE AÇÃO**

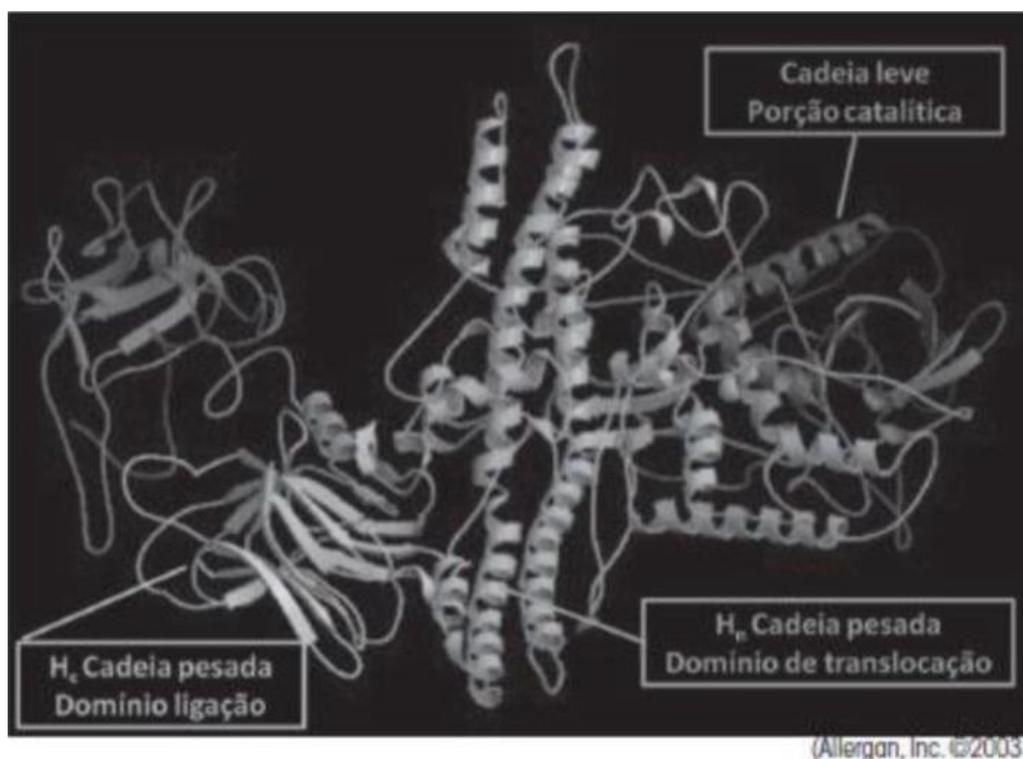
A toxina botulínica é apresentada como uma substância cristalina, estável, liofiliza e podemos destacar que a toxina botulínica do tipo A é a mais conhecida e a mais potente, possuindo um tempo de ação maior comparada com as outras formas orgânicas da toxina botulinica. O tipo A inicialmente foi muito usado para tratamentos terapêuticos e com o passar do tempo foi destinada para a área da estética, já o tipo B é bem conhecido por seu uso em tratamentos de distúrbios neurológicos.<sup>5</sup>

Uma vez injetada no músculo, a toxina botulínica A atinge o terminal nervoso colinérgico através da associação das propriedades de dispersão e difusão, e lá chegando, caso as duas cadeias

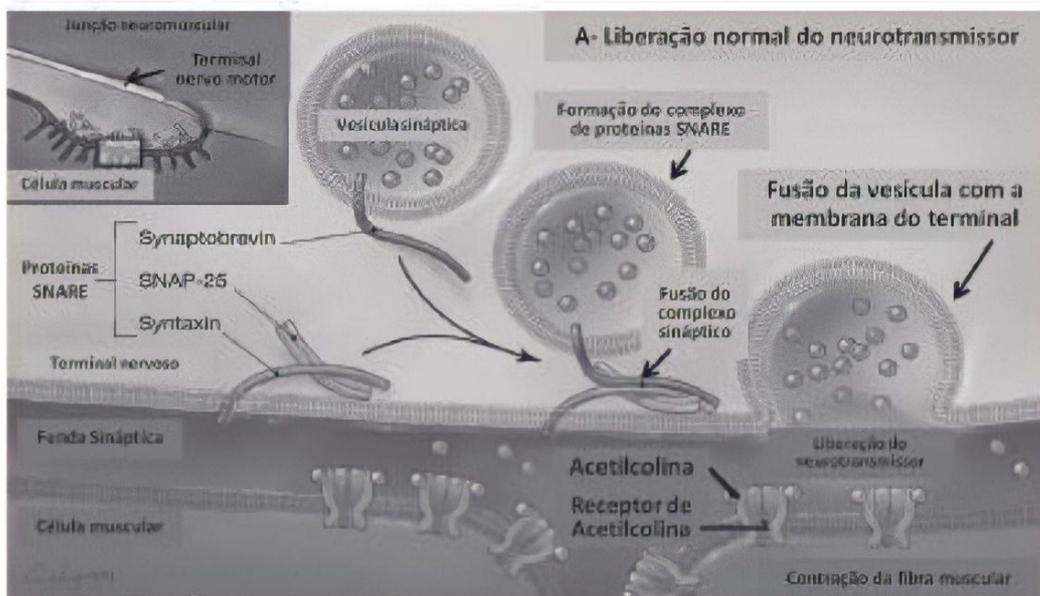
(leve e pesada) estejam intactas, se inicia o mecanismo de ação. Esse processo do mecanismo de ação ocorre em quatro estágios: ligação, internalização, translocação da membrana e inibição cálcio dependente da liberação (chamado processo de exocitose) do neurotransmissor. Durante a etapa de ligação ao terminal nervoso colinérgico, a toxina botulínica A se conecta a um receptor de alta afinidade, principalmente encontrado nos neurônios colinérgicos dos nervos motores através do domínio de ligação da cadeia pesada.

A parte ativa da molécula da neurotoxina do *Clostridium botulinum* é formada por uma única cadeia polipeptídica composta por 1295 aminoácidos. O subseqüente formado proteolítico é composto por uma porção leve (L-chain/cadeia leve) composta pelos primeiros 447 aminoácidos e por uma porção pesada (H-chain/ cadeia pesada) composta pelos aminoácidos restantes.<sup>6</sup> A cadeia leve contém o domínio enzimático e a cadeia pesada contém os domínios de translocação (Hn) e os domínios de ligação acessório (Hc-N) e ligação a gangliosídeos e a proteínas sinápticas (Hc-C).<sup>7</sup> Estas duas partes da cadeia estão ligadas entre si por uma ponte di-sulfídica entre os aminoácidos Cys430 e Cys454.<sup>8</sup>

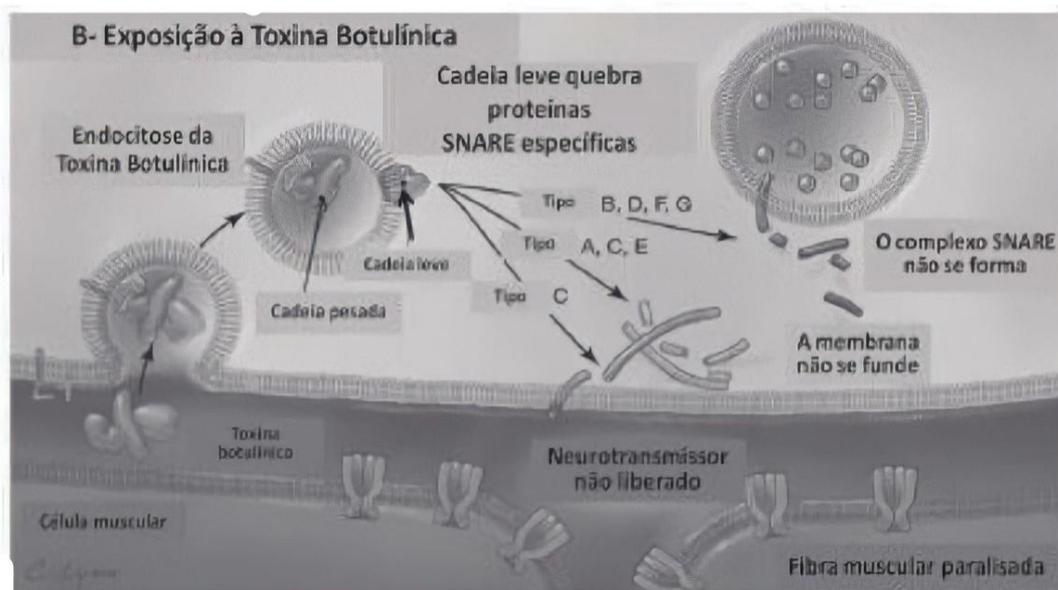
A parte ativa da molécula da BoNT/A pesa 150kDa e é formada de duas porções: cadeia leve com atividade catalítica (50kDa), e cadeia pesada (100kDa). A cadeia pesada apresenta dois domínios: o de ligação (metade C-terminal da cadeia pesada) e o de translocação representado por Hn (metade N-terminal da cadeia pesada). A imagem tridimensional da BoNT/A está representada na Fig.1.<sup>9,10</sup>



Resposta da junção neuromuscular ao bloqueio: Após aproximadamente dois meses, o terminal nervoso inicia a sua expansão por meio de brotamentos que se estendem através da superfície do músculo. Quando os brotamentos formam uma conexão sináptica física com a junção neuromuscular, a unidade motora nervosa se restabelece (Fig.2 e 3).<sup>10</sup>



Liberação normal do neurotransmissor.



Bloqueio da liberação do neurotransmissor sob a ação da botulínica.

Estudos *in vivo* estabelecem que estes brotamentos produzem uma re-inervação temporária nas fases precoces da recuperação pósbloqueio. Durante as fases tardias a junção neuromuscular original recupera a atividade excitatória e estes brotamentos regridem, devolvendo à terminação sua forma original, completamente funcional.<sup>11,12</sup>

O estágio de translocação da membrana sugere que após a endocitose da toxina, a diminuição do pH dos endossomas auxilia no ingresso de cadeias leves e pesadas no núcleo de hidrocarbonetos da dupla camada lipídica da vesícula, gerando um canal de membrana, na qual a cadeia pesada

simplifica o acesso da cadeia leve para o compartimento citoplasmático do terminal nervoso na modificação da cadeia leve da toxina botulínica A, exibindo assim seus segmentos hidrofóbicos à superfície.<sup>13</sup>

A inibição da exocitose do neurotransmissor, acetilcolina, acontece através de uma atividade proteolítica zinco dependente da cadeia leve, que quebra seletivamente as ligações peptídicas de uma proteína *SNARE* (*Soluble Nethylmaleimide-sensitive fator attachment protein-Receptor*) essencial para a liberação do neurotransmissor que é cálcio dependente. Assim, a cadeia leve exerce seu efeito quebrando as proteínas responsáveis pela fusão das vesículas de acetilcolina com a membrana celular do terminal nervoso. Tanto a *SNARE* como as ligações peptídicas são específicas para cada sorotipo de toxina botulínica, sendo que a Toxina Botulínica A quebra especificamente a *SNAP-25*.<sup>14</sup>

Sendo assim, o processo habitual de liberação do neurotransmissor leva à contração muscular, enquanto a aplicação de toxina botulínica atua no bloqueio da liberação do neurotransmissor, levando à paralisia da fibra muscular, significando que a quebra das proteínas *SNARE* por si não impedem a formação do complexo *SNARE* de fusão, mas resulta na formação de um complexo não funcional no qual a acoplagem do influxo de cálcio ( $Ca_2$ ) no momento da fusão é interrompida, mas que, no entanto, caso ocorra o aumento da concentração de cálcio no terminal sináptico, o efeito da toxina botulínica é parcialmente revertido.<sup>14</sup>

## **IMUNOGENICIDADE**

A administração da toxina botulínica desencadeia uma produção de anticorpos, o que ocorre com qualquer substância estranha que entra em contato com o corpo humano, gerando um processo de imunogenicidade, reduzindo ou inibindo seus efeitos terapêuticos. A formação destes anticorpos, chamados de neutralizantes ou bloqueadores, podem promover uma falha do tratamento com a toxina botulínica, pois se ligam aos antígenos da toxina, ocasionando a redução da sua ação e promovendo um resultado diferente do esperado.<sup>15</sup>

Embora seja comumente falado sobre um poder de imunogenicidade da toxina botulínica A e seus respectivos cuidados, não há evidências concretas que comprovem o mesmo. O desenvolvimento de anticorpos neutralizantes contra a neurotoxina botulínica pode ser a razão da falha do tratamento secundário, como também a presença de proteínas complexantes dentro dos agentes de neurotoxina botulínica aumentando a carga de proteínas e podendo exacerbar uma resposta imune.

Definimos uma falha quando o paciente, o profissional especializado em estética ou ambos não se sentem satisfeitos com o resultado alcançado. A falha primária ocorre desde a primeira aplicação, já a secundária se temos uma resposta inicial satisfatória e perda do efeito posteriormente. Caso ocorra uma falha primária devemos pensar, em primeiro lugar, em um erro de indicação, má técnica, má operação do produto, uso de uma dose inadequada ou até erro na aplicação.

Afastadas essas possibilidades, poderia haver uma reação cruzada a outros anticorpos, acredita-se que isso pode ocorrer motivado por múltiplas vacinações, anti-tetânicas. No caso de falhas secundárias, as possibilidades principais seriam alguma mudança de base no paciente ou mudança do aplicador e o desenvolvimento de anticorpos neutralizantes.

Diversos fatores podem comprometer o resultado, não só os fatores relacionados à aplicação, mas também o comportamento do paciente posteriormente à aplicação, como a falta de acompanhamento do resultado e não retorno para avaliação ou até mesmo a realização de retoques por outro profissional.<sup>16</sup>

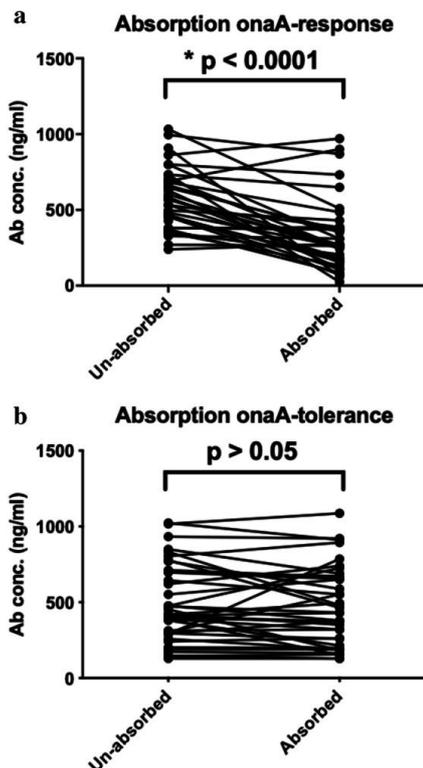
## MÉTODOS E PESQUISAS

Em 2010 foi realizado uma meta-análise de 16 estudos clínicos abrangendo 2.240 pacientes avaliou indivíduos que receberam entre 1 e 15 tratamentos (média de 3,8 tratamentos) com Botox em uma gama de indicações. As doses por tratamento variaram de 10 ou 20 unidades nas linhas glabellares a 20 a 500 unidades na distonia cervical. A proporção de pacientes que desenvolveram anticorpos variou entre 1,28% e 0% dependendo da indicação. Apenas 3 de 11 pacientes (27%) entre as várias indicações tornaram-se clinicamente insensíveis ao Botox após o teste positivo para anticorpos.<sup>17</sup>

Já em 2011 realizaram um estudo de imunogenicidade de cadeia leve e cadeia pesada toxina botulínica A, com vários peptídeos (formados a partir de segmentos que compreendem a cadeia leve ou pesada total) que foram avaliados usando soro de pacientes. Enquanto alguns peptídeos foram reconhecidos por anticorpos bloqueadores da maioria dos pacientes, outros foram reconhecidos apenas por uma minoria de pacientes, sugerindo que algumas respostas imunes estão sob controle.<sup>18</sup> Em um estudo prospectivo, 19 de 117 pacientes (16,3%) desenvolveram esses sintomas e tinham níveis significativamente mais elevados de citocina IP10.<sup>19</sup>

Em 2020 foram recrutados pacientes com suspeita de não responsividade à BoT/A para indicações cosméticas. Todos os voluntários foram categorizados em responsivos a BoT/A ou tolerantes a BoT/A conforme o teste frontal com toxina botulínica A (onaA) toxina a base de proteínas. Vinte e dois voluntários tolerantes à BoT/A foram recrutados separadamente para o teste frontal com toxina incobotulínica A (incoA), toxina sem proteínas complexantes. Anticorpos anti-BoT/A e anti-complexação de proteínas foram quantificados por ELISA especial usando soros de sangue amostrado antes e após o teste frontal.<sup>20</sup>

Níveis significativamente mais altos de IgG contra proteínas complexantes foram detectados em soros tolerantes a onaA, mas não em respondedores a onaA, levando a propostas de que anticorpos proteicos anticomplexantes poderiam causar falta de resposta a onaA. Alguns pacientes tolerantes a onaA segundo o teste frontal com incoA foram responsivos ao incoA. O ELISA de absorção recém-desenvolvido confirmou que os soros responsivos ao incoA continham predominantemente IgG contra proteínas complexantes, enquanto os soros tolerantes ao incoA continham níveis significativos de IgG contra o núcleo BoT/A. A presença de anticorpos proteicos anticomplexantes superiores a 90,75% em soros de pacientes tolerantes a onaA poderia responder ao incoA.<sup>20</sup>



ELISA, Gráficos de linhas pareadas representam níveis de hIgG contra BoT/A e proteínas complexantes (não absorvidas) ou apenas proteínas complexantes (absorvidas) de voluntários responsivos a onaA (a) e pacientes tolerantes a onaA (b). \*Significância estatística ao valor de  $p < 0,05$ .<sup>20</sup>

Pacientes expostos à BoT/A podem desenvolver anticorpos contra a toxina botulínica central e proteínas complexantes. Altos níveis de anticorpos contra proteínas complexantes podem causar falta de resposta a onaA, embora alguns pacientes ainda fossem responsivos ao incoA.<sup>20</sup>

As taxas de formação de anticorpos relatadas com Dysport são amplamente comparáveis, variando de 0% nas linhas glabellares a menos de 3% na distonia cervical. A taxa de formação de anticorpos com o Xeomin foi de 1,1% em seu programa de desenvolvimento geral. No entanto, não há estudos diretos comparativos que avaliem a formação de anticorpos com os diferentes produtos quando usados em doses terapêuticas ou estéticas. Os dados sugerem que a imunogenicidade da toxina botulínica em geral, e nas doses usadas em indicações estéticas em particular, não parecem resultar em taxas clinicamente significativas de formação de anticorpos.<sup>20</sup>

Toxinas originadas da Ásia, que estão sendo introduzidas no mercado. Ele cita que as informações sobre a pureza das toxinas asiáticas são limitadas, mas que se essas impurezas estiverem presente na toxina botulínica, podem afetar sua imunogenicidade e potencial associado, levando a possíveis falhas no tratamento.<sup>21</sup>

Sugere-se que usar as menores doses eficazes de toxina botulínica A e o maior intervalo entre as injeções, promovendo um resultado estético aceitável, pode limitar a formação de anticorpos.<sup>22</sup> O desenvolvimento de anticorpos parece relativamente incomum com as formulações contemporâneas de toxina botulínica A. Essas formulações de toxina botulínica A estão associadas a uma taxa muito baixa de níveis de anticorpos detectáveis clinicamente quando comparadas com outros produtos biológicos aprovados, principalmente quando são utilizados em baixas doses para indicações estéticas.

Ao estudar os efeitos da SNR induzida por anticorpos clinicamente relevantes, a capacidade de detectar e quantificar com precisão os anticorpos tornou-se fundamental. Vários ensaios laboratoriais têm sido usados para detectar anticorpos em pacientes com possível imunorresistência (Tabela 1). Eles podem ser amplamente divididos em ensaios estruturais e bioensaios. Ensaios estruturais, como ELISA e ensaios de imunoprecipitação (IPA)<sup>23</sup> são sensíveis na detecção de anticorpos BoNT, mas são incapazes de discriminar entre anticorpos neutralizantes e não neutralizantes. Bioensaios

como o MPA ou MHDA utilizam animais para identificar anticorpos neutralizantes que afetam a eficácia clínica da toxina.

Tabela 1. Ensaios para detectar anticorpos neutralizantes.

Ensaio de proteção de camundongos (MPA)
Ensaio de hemidiafragma de camundongo (MHDA)
Ensaio de imunoprecipitação (IPA)
Ensaio de Western Blot (WBA)
Ensaio de inibição de sinaptossomas (SIA)
Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA)
Teste do esternocleidomastóideo (ECM)
Estimulação elétrica do músculo injetado (EDB)
Outros ensaios (por exemplo, sudomotor, teste do suor da ninidrina)
Testes clínicos (UBI, FTAT)

Dadas as dificuldades de acesso a ensaios confiáveis que não exijam o sacrifício de animais e sejam relativamente acessíveis, tem havido interesse crescente em testes clínicos de imuno resistência que sejam fáceis de realizar e interpretar e se correlacionem bem com a resposta terapêutica (Tabela 2). O teste UBI consiste em injetar uma quantidade padrão de BoNT na sobrelha medial direita (por convenção) ( **Figura 1** ).<sup>24</sup> As seguintes dosagens têm sido usadas tradicionalmente por serem suficientes para paralisar os músculos corrugadores/próceros unilaterais: 20 U de *onabotulinumtoxinA* e 50 U de *abobotulinumtoxinA* e 1000 U de *rimabotulinumtoxinB*.

Após tempo suficiente para que o BoNT faça efeito (normalmente 1–3 semanas), o paciente é instruído a franzir a testa e observar no espelho se a testa franzida é simétrica ou assimétrica.<sup>24</sup> O paciente também é orientado a nos enviar autofotografias mostrando expressão facial normal e expressão carrancuda, o que ajuda a documentar qualquer assimetria, indicativa de ausência de SNR ( **Figura 1** ). Em contraste, franzir a testa simetricamente indica que os músculos injetados não estavam enfraquecidos e, portanto, o paciente provavelmente é imunorresistente a esse tipo de BoNT.

No estudo inicial comparando MPA com Western blot, vários pacientes também receberam UBI; oito pacientes que eram SNR tiveram resultados UBI negativos concordantes (nenhuma assimetria foi observada) e cinco dos seis pacientes que responderam tiveram clinicamente resultados UBI positivos (franzimento assimétrico). O único paciente com resultados discrepantes apresentou uma resposta clínica limítrofe. Embora tenha sido usado em apenas uma parte dos pacientes, a sensibilidade do UBI foi maior do que o MPA neste estudo.<sup>24</sup> Em outro estudo comparando MPA a IPA na detecção de anticorpos, 29 pacientes receberam UBI além de passar por esses ensaios. Nove dos 10 pacientes com SNR tiveram resultados UBI negativos (com o paciente discordante sendo –MPA mas +IPA); 15 dos 19 pacientes com resposta clínica tiveram resultados UBI positivos (assimétricos); três desses quatro pacientes discordantes apresentaram resposta clínica limítrofe,

reduzida em relação à resposta inicial à BoNT-A.<sup>24</sup> Nas últimas 3 a 4 décadas, usamos o UBI e descobrimos que o teste é confiável na detecção de SNR.

**Tabela 2.** Testes clínicos de resistência.

Nome de teste	Local de Injeção	Ferramentas Necessárias	Resultado Clinicamente Responsivo
UBI	sobrancelha mediana	Nenhum	Carrancudo assimétrico
FTAT	frontalis	Nenhum	Enrugamento assimétrico da testa
EDB	Extensor curto dos dedos	EMG	>50% de redução no EDB CMAP
SCM	Esternocleidomastóideo	EMG	% de redução de contração máxima > 2 DP abaixo da média de redução de controle %
NST	eminência hipotenar	solução de ninidrina	Diminuição da área anidrótica

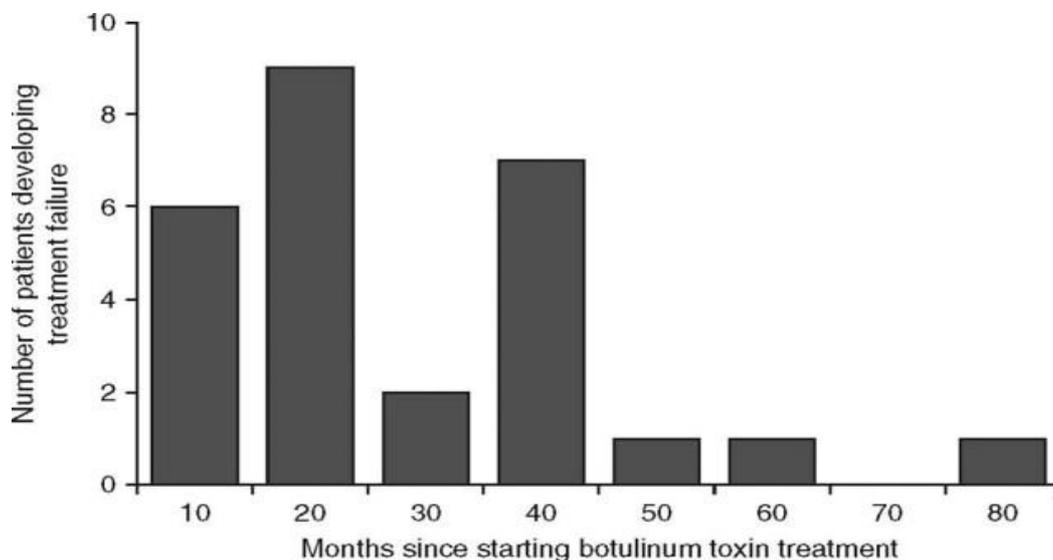
**Tabela 3.** Formulações de toxina botulínica.

Formulação de BoNT	Nomes Comerciais	Indicações aprovadas pela FDA	Dose Equivalente Estimada (para ONA)	Intervalos de imunogenicidade	Notas
Ona (antigo)	Botox® –	Fora de uso	1	5–17% [ 18 ]	
Ona (Novo)	Botox® –	CD, HA, BSP, ULS, OAB, CM, estrabismo [ 8 ]	1	0,2% [ 60 ]–3,6% [ 82 ]	Quantidades reduzidas de proteína inativa em comparação com a formulação mais antiga
abo	Dysport® –	CD, GL, ULS (adultos), LLS (crianças) [ 77 ]	2.5	0,9% [ 83 ]–3,6% [ 77 ]	
Inco	Xeomin® –	CD, BSP, GL, USL, sialorréia [ 84 ]	1	0% [ 51 ]–0,5% [ 19 ]	NAPs removidos
rima	Myobloc® (EUA), NeuroBloc®	CD [ 85 ]	50	18% [ 85 ]–42,4% [ 19 ]	Sorotipo B, efeitos autonômicos mais fortes

Legenda: Ona = onabotulinumtoxinA, Abo = abobotulinumtoxinA, linc = incobotulinumtoxinA, Rima = rimabotulinumtoxinB, CD = distonia cervical, AH = hiperidrose axilar, BSP = blefarospasmo, ELS = espasticidade dos membros superiores, LLS = espasticidade dos membros inferiores, OAB = bexiga hiperativa, CM = enxaqueca crônica, GL = linhas glabellares, NAPs = proteína acessória não tóxica.

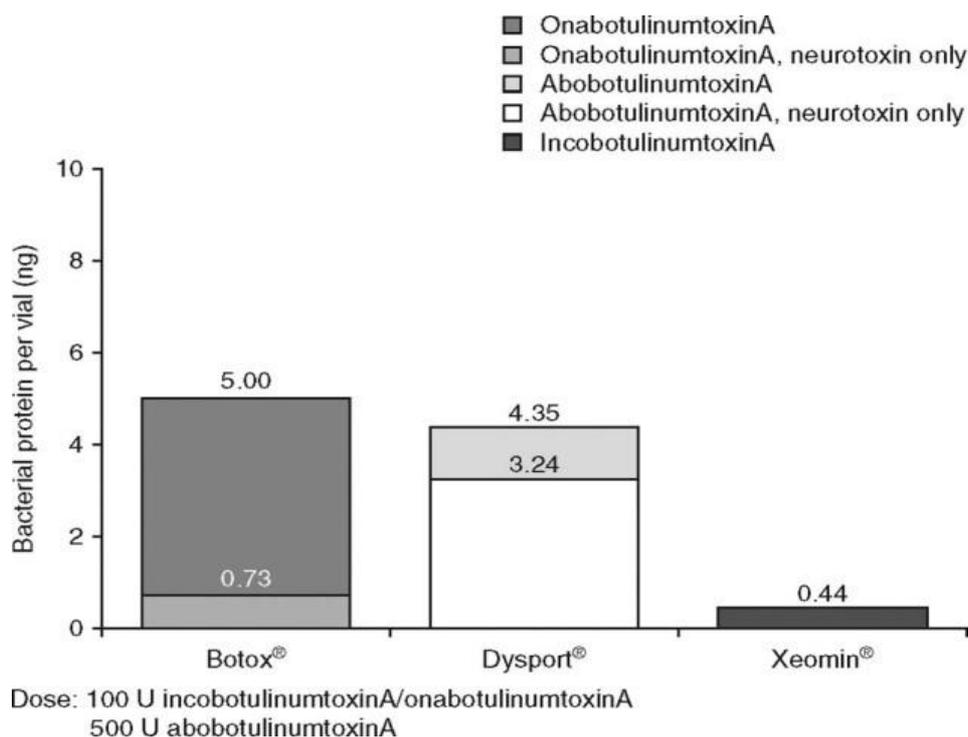
Uma razão importante para a falha do tratamento secundário de qualquer proteína terapêutica é sua neutralização por anticorpos; mesmo proteínas com uma sequência idêntica à proteína humana podem ser imunogênicas. O efeito clínico pode diminuir gradualmente, eventualmente levando à falha completa do tratamento. Em um estudo de 27 pacientes com falha completa do tratamento devido a anticorpos neutralizantes, a maioria (81%) dos pacientes já havia experimentado falha parcial do

tratamento induzida por anticorpos.<sup>25</sup> A maioria dos pacientes neste estudo desenvolveu falha completa do tratamento dentro de 40 meses após o início tratamento com toxina botulínica (figura 1).



**Figura 1.** Histograma mostrando latências entre o início da terapia com toxina botulínica e a ocorrência de falha completa da terapia induzida por anticorpos em um estudo de 27 pacientes<sup>25</sup>

Recentemente, Frevert procurou comparar o conteúdo de neurotoxina de cada agente com um novo e mais sensível ELISA, e descobriu que 100 U de onabotulinumtoxinA, abobotulinumtoxinA e incobotulinumtoxinA continham 0,73 ng, 0,65 ng e 0,44 ng de neurotoxina, respectivamente (tabela II; Figura 2). OnabotulinumtoxinA é único entre as formulações de toxina botulínica tipo A, pois é seco a vácuo por um processo envolvendo cloreto de sódio, que pode ter um efeito prejudicial na atividade da neurotoxina e pode ser responsável por seu maior teor de toxicidade (neurotoxina inativa). No entanto, o ensaio de potência demonstra o mesmo número de unidades para onabotulinumtoxinA e incobotulinumtoxinA, conforme relatado no rótulo do produto. Além disso, vários estudos clínicos relataram equipotência clara para esses agentes.<sup>25</sup>



**Figura 2.** Proteína bacteriana total e conteúdo de neurotoxina de produtos de toxina botulínica tipo A. As concentrações médias de neurotoxina botulínica tipo A em onabotulinumtoxinA, incobotulinumtoxinA e abobotulinumtoxinA foram analisadas por um ELISA sensível<sup>25</sup>

A toxina botulínica, como previsto, tem demonstrado ser um poderoso veneno e um agente terapêutico de sucesso: tudo é uma questão de dose.<sup>26</sup>

Atualmente, ainda não é conhecida a porcentagem de resistência imunológica em pessoas que utilizaram a toxina botulínica apenas para a finalidade estética, os resultados mostram a imunogenicidade da toxina botulínica em geral, porém nas doses usadas em indicações estéticas em particular, não parecem resultar em taxas clinicamente significativas de formação de anticorpos.<sup>27</sup> Embora, o uso da toxina botulínica tipo A seja considerado seguro, alguns pacientes relatam que perdem a resposta as injeções de toxina botulínica, onde ocorre a imunoresistência como resultado da formação de anticorpos, essas podem ser explicadas por diversos fatores como: intervalo de dosagem mais curto, doses mais altas por ciclo de aplicação, maiores quantidades de proteína antigênica, propriedades de cada sorotipo, formulação, fabricação e ainda a vacinação ou exposição prévia a bactéria.<sup>28</sup>

Embora a formação de imunoresistência à toxina continue sendo uma preocupação, várias estratégias podem ser usadas para mitigar o seu desenvolvimento. Isso inclui o desenvolvimento de formulações de produtos associados à carga mínima de proteínas, prevenção de adjuvantes, intervalo seguro entre as injeções e o uso da menor dose que fornece resposta clínica ideal e não compromete os benefícios potenciais<sup>29-30</sup>.

No entanto, avanços são feitos continuamente no campo da estética. Novas formulações que podem apresentar antigenicidade reduzida estão se tornando disponíveis, como a incobotulinumtoxinA (Xeomin®) /Xeomeen® /Bocouture®; anteriormente conhecido como NT 201, Merz Pharma), que

é uma neurotoxina botulínica tipo A livre de complexação proteínas. Além disso, procedimentos faciais inferiores usando toxina botulínica combinada com preenchimentos estão se tornando cada vez mais populares. As técnicas e padrões de injeção também estão evoluindo, para criar um resultado mais natural, as novas preparações de toxina botulínica visam minimizar o risco de imunorresistência em pacientes em tratamento de condições clínicas crônicas.<sup>31</sup>

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Portanto, para evitar uma imunogenicidade e consequente falha no tratamento, é ideal que se utilize uma proteína pura, que se observe se após a aplicação houve a ação da toxina dentro de 15 dias, que respeite o intervalo mínimo de 4 meses entre as aplicações, e as doses indicadas para cada caso; mas também é indispensável seguir as recomendações dos fabricantes de toxina botulínica para fins estéticos e respeitar as características individuais de cada paciente, alinhando suas expectativas à realidade.<sup>32</sup>

O fato é que a formação de anticorpos não obrigatoriamente deixa um paciente fora desta opção de tratamento, desde que você tenha o conhecimento necessário para adaptar tanto sua técnica como na escolha do medicamento. São necessários mais estudos investigando os efeitos imunológicos de longo prazo de diferentes produtos da toxina botulínica e pode ser útil desenvolver uma abordagem consensual para esquemas e técnicas de teste de anticorpos, bem como uma definição mais precisa do que constitui falha de tratamento. Uma melhor compreensão da possível influência imunológica das técnicas de fabricação e constituintes usados em diferentes formulações de toxina botulínica também é necessária. Desta forma, os profissionais devem ser cautelosos e utilizar sua experiência clínica para decidir como e quando tratar seus pacientes, a fim de minimizar o risco de imunoresistência ou intercorrências no processo de aplicação, ou manuseamento da toxina.

## REFERÊNCIAS

1. Aoki KR. Botulinum toxin: a successful therapeutic protein.[Internet]Curr Med Chem. 2004;11(23):3085-92. [cited 2023 May 12] Available from: <https://www.Eurekaselect.com/article/7848>.
2. Meunier FA, Herreros J, Schiavo G, Poulain B, Molgó J. Molecular mechanism of action of botulinum neurotoxins and the synaptic remodeling they induce in vivo at skeletal neuromuscular junction. [Internet] In: Massaro EJ. Handbook of neurotoxicology. Totowa: Human Press; 2002 Barbosa DBM, Brito A de S. A utilização da toxina botulínica tipo A para alcançar a estética facial. Revista Terra & Cultura: Cadernos de Ensino e Pesquisa [Internet]. 2020 Jul 3;36(70):75–86.[cited 2023 May 12] Available from: <http://periodicos.unifil.br/index.php/Revistateste/article/view/1354>.
3. Kumar R, Dhaliwal H, Kukreja R, Singh B. The Botulinum Toxin as a Therapeutic Agent: Molecular Structure and Mechanism of Action in Motor and Sensory Systems. Seminars in Neurology. [Internet] 2016 Feb 11;36(01):010–9. [cited 2023 May 12] Available from: <https://www.thiemeconnect.de/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0035-1571215>.
4. Jankovic J. Botulinum toxin: State of the art. Movement Disorders. [Internet] 2017 Jun 22;32(8):1131–8 [cited 2023 May 12] Available from: <https://movementdisorders.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mds.27072>.

5. Lacordia MHFA, Januário FS-M, Pereira JCC. Estrabismo após toxina botulínica para fins estéticos. [Internet]. *Rev brasoftalmol* 2011 May;70(3):179–81.[cited 2023 May 12] Available from:<https://doi.org/10.1590/S0034-72802011000300009>.
6. Caroline Dos Reis L, Uchôas Luz D, Alves Da Silva A, Flaviana R, Fernandes, Bacelar De Assis I.Desvendando o uso da toxina botulínica na estética e em enfermidades/discovering the use of botulinic toxin in aesthetics and in diseases [Internet]. 2020 [cited 2023 May 12] Available from: [https:// encurtador.com.br/TYZ48](https://encurtador.com.br/TYZ48).
7. Poli MA, Lebeda FJ. An overview of clostridial neurotoxins.[Interne] In: Massaro EJ. Handbook of neurotoxicology. Totowa: Human Press; 2002. p. 293-30 [cited 2023May 12] Available from: [https://link.springer.com/chapter/ 10.1007/978-1-59259-132-9\\_16](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-59259-132-9_16).
8. Bernard Poulain, Michel R. Popoff, Jordi Molgó. How do the Botulinum Neurotoxins block neurotransmitter release: from botulism to the molecular mechanism of action. *The Botulinum Journal*. 2008;1(1):14-87. [cited 2023 May 12] Available from: (10.1504/TBJ.2008.018951). (hal-00303601).
9. Turton K, Chaddock JA, Acharya KRavi. Botulinum and tetanus neurotoxins: structure, function and therapeutic utility. [Internet] *Trends in Biochemical Sciences*. 2002 Nov;27(11):552–8. [cited 2023 May 12] Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0968000402021771>.
10. Hicks RP, Hartell MG, Nichols DA, Bhattacharjee AK, van Hamont JE, Skillman DR. The medicinal chemistry of botulinum, ricin and anthrax toxins.[Internet] *Curr Med Chem*. 2005;12(6):667-90[cited 2023 May 12] Available from: [https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/ 15790305/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15790305/). [cited 2023 May 12] Available from: <https://hal.science/hal-00194091/>.
11. Paiva A, Meunier FA, Molgó J, Aoki KR, Dolly JO. Functional repair of motor endplates after botulinum neurotoxin type A poisoning: biphasic switch of synaptic activity between nerve sprouts and their parent terminals.*Proc Natl Acad Sci [Internet] USA*. 1999;96(6):3200-5 [cited 2023 May 12] Available from: [https:// www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC15919/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC15919/).
12. Fujita RLR, Hurtado CCN. Aspectos relevantes do uso da toxina botulínica no tratamento estético e seus diversos mecanismos de ação. *Rev. Saber Científico Internet] Porto Velho*. 2019;8(1):120-133. [cited 2023 May 12] Available from: [https:// revista.saolucas.edu.br/index.php /resc/article/view/ 1069/pdf](https://revista.saolucas.edu.br/index.php/resc/article/view/1069/pdf).
13. Sposito MMM. Toxina Botulínica do Tipo A: mecanismo de ação. [Internet] *Rev. Acta Fisiátr. São Paulo*. 2009;16(1):25-37.[cited 2023 May 12] Available from: [https://www.revistas.usp.br/actafisiatrica/ article/view/103037/101317](https://www.revistas.usp.br/actafisiatrica/article/view/103037/101317).
14. Gart Michael, Gutowski Karol. Overview of Botulinum Toxins for Aesthetic Uses. *Clinics in Plastic Surgery [Internet]*. 2016 May 04;43(3):459-71.[cited 2023 Apr 11]; Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27363760/>.
15. Archana MS. Toxin yet not toxic: Botulinum toxin in dentistry. *The Saudi dental journal [Internet]*. 2016 Jan 01 [cited 2023 Apr 4];28:63-9. DOI doi:10.1016/j.sdentj.2015.08.002 .Available:from:<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27486290/>.
16. Naumann M, et al. Meta-analysis of neutralizing antibody conversion with onabotulinumtoxinA (BOTOX®) across multiple indications. [Internet] *Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society*. 2010;25(13):2211–2218. [cited 2023 May 12] Available from: <https://doi.org/10.1002/mds.23254>.
17. Atassi MZ, Dolimbek BZ, Jankovic J, Steward LE, Aoki KR. Regions of botulinum neurotoxin A light chain recognized by human anti-toxin antibodies from cervical dystonia patients immunoresistant to toxin treatment. [Internet] *Immunobiology*. 2011 Jul; 216(7):782–92. [cited 2023 May 12]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21281977/>.

18. Baizabal-Carvalho José, Feld Jordan, Jankovic Joseph. Flu-like symptoms and associated immunological response following therapy with botulinum toxins. *Neurotoxicity research* [Internet]. 2013 May 16 2013(24):298-306. [cited 2023 Apr 4]; Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23677449/>.
19. Wanitphakdeedecha R, Kantaviro W, Suphatsathienkul P, Tantrapornpong P, Yan C, Apinumtham C, et al. Association Between Secondary Botulinum Toxin A Treatment Failure in Cosmetic Indication and Anti-Complexing Protein Antibody Production. [Internet] *Dermatology and Therapy*. 2020 May 22;10(4):707–20.[cited 2023 May 12] Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32445175/>
20. Park JY, Sunga O, Wanitphakdeedecha R, Frevert J. Neurotoxin Impurities. [Internet] *Plastic and Reconstructive Surgery - Global Open*. 2020 Jan;8(1):e2627 [cited 2023 May 12] Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32095419/>.
21. Naumann Markus, et al. Immunogenicity of botulinum toxins. *Journal of neural transmission* [Internet]. 2012 Sep 25 [cited 2023 Apr 4];120(2):275-90. DOI 10.1007/s00702-012-0893-9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23008029/>.
22. Hanna PA, Jankovic J, Vincent A. Comparison of mouse bioassay and immunoprecipitation assay for botulinum toxin antibodies. [Internet] *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 1999 May 1;66(5):612–6. [cited 2023 May 12] Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10209172/>
23. Brin MF, Comella CL, Jankovic J, Lai F, Naumann M. Long-term treatment with botulinum toxin type A in cervical dystonia has low immunogenicity by mouse protection assay.[Internet] *Movement Disorders*. 2008 Jul 30;23(10):1353–60. [cited 2023 May 12]. Available from: <https://movementdisorders.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mds.22157>.
24. Benecke Reiner. Clinical relevance of botulinum toxin immunogenicity. *BioDrugs* [Internet]. 2012 Apr 01 [cited 2023 Apr 4];26:e1-e9. DOI 10.2165/11599840-000000000-00000. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22385408/>.
25. Aoki K. Botulinum Toxin: A Successful Therapeutic Protein.[Internet] *Current Medicinal Chemistry*. 2004 Dec 1;11(23):3085–92. [cited on 2023 May 12] Available from: <https://www.eurekaselect.com/article/7848>.
26. Campos Eduarda Pautz, Vicente C. Toxina botulínica tipo A: Ações farmacológicas e uso na estética facial: Pharmacological actions and use in facial aesthetics. *Revista saúde Multidisciplinar*[Internet].2021;9(1).[cited 2023 May 12] Available from: <http://revistas.famp.edu.br/revistasaudemulti%20disciplinar/article/view/167>.
27. Dressler D. Clinical presentation and management of antibody-induced failure of botulinum toxin therapy. [Internet] *Movement Disorders*. 2004;19(S8):S92–100. [cited 2023 May 12] Available from:<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15027060/>.
28. Bellows S, Jankovic J. Immunogenicity Associated with Botulinum Toxin Treatment.[Internet] *Toxins*. 2019 Aug 26;11(9):491. [cited 2023 May 12] Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6784164/>.
29. Flynn TC. Advances in the use of botulinum neurotoxins in facial esthetics. *Journal of cosmetic dermatology* [Internet]. 2012 Mar 11 [cited 2023 Apr 4];11:42–50. DOI <https://doi.org/10.1111/j.1473-2165.2011.00593.x>. Available from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22360334/>.
30. Stengel G, Bee EK. Antibody-induced secondary treatment failure in a patient treated with botulinum toxin type A for glabellar frown lines. *Clinical interventions in aging* [Internet]. 2011 Nov 09 [cited 2023 Apr 4];6:281–284. DOI <https://doi.org/10.2147/CIA.S18997>. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22162643/>.

31. Silva VCM. O rejuvenescimento facial na Biomedicina Estética [Internet]. Universidade Federal de Pernambuco 2022 [cited 2023 May 13]. Available from: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/45422>.