

TOXINA BOTULÍNICA: REVISÃO DOS ASPECTOS GERAIS E DAS EVIDÊNCIAS DO SEU EFEITO ANALGÉSICO DIRETO

TOXIN BOTULINUM: REVIEW OF GENERAL ASPECTS AND EVIDENCE OF ITS DIRECT ANALGESIC EFFECT

Bruna Luiza Ribeiro de Almeida¹

Alex Giacomini²

Juliana Geremias Chichorro³

Resumo: As neurotoxinas botulínicas (BoNT) são toxinas produzidas por bactérias do gênero *Clostridium botulinum* e são consideradas as mais potentes toxinas da atualidade. Antes um veneno alimentar, mais tarde explorada como arma biológica e atualmente um ótimo recurso terapêutico. Já foram identificados sete sorotipos diferentes de BoNT (A-G). Dentre esses, os sorotipos A e B são utilizados na clínica, sendo que o sorotipo A é o mais empregado pela maior eficácia e segurança. A BoNT é amplamente conhecida e utilizada pelo seu uso estético, por meio de injeções intramusculares com o objetivo de atenuar rugas dinâmicas. Adicionalmente, tem sido empregada como terapia no tratamento do estrabismo, blefaroespasma, distonia cervical,

-
- 1 Biomédica, pós-graduada harmonização facial
 - 2 Biomédico, Pós-Graduado Em Biomedicina Estética
 - 3 Cirurgiã Dentista, Mestre e Doutora em Farmacologia



hiperidrose, sialorréia, espasmo hemifacial, dentre muitas outras condições clínicas nas áreas de urologia, neurologia, oftalmologia, gastroenterologia e mais recentemente avaliada na psiquiatria. As BoNTs também vêm sendo estudadas visando um novo horizonte terapêutico: o tratamento da dor. Em algumas síndromes dolorosas que podem ser tratadas com a BoNT, o mecanismo de ação está relacionado com a inibição da contração muscular por meio da inibição da liberação de acetilcolina na junção neuromuscular. Esse efeito envolve uma ação seletiva da toxina em proteínas da família SNARE (soluble N-ethylmaleimide sensitive factor attachment protein receptor), que medeiam o processo de exocitose da acetilcolina. Além disso, apresenta efeito analgésico em algumas condições clínicas que não estão relacionadas com

a contração muscular excessiva, como por exemplo, no tratamento da migrânea. Portanto, tem sido sugerido que a BoNT é capaz de induzir analgesia independente da inibição da contração muscular. Essas evidências têm estimulado o estudo da BoNT em outras condições dolorosas, tais como a neuralgia do trigêmeo. Uma das vantagens da aplicação clínica da BoNT é sua segurança. Os principais efeitos adversos estão relacionados com a aplicação e incluem dor, eritema, prurido, edema, parestesia e ptose. Nessa revisão a BoNT será analisada nos aspectos histórico, farmacológico, bioquímico e clínico, porém o foco será na investigação do efeito analgésico da BoNT que ocorre independentemente do seu efeito relaxante muscular.

Palavras-chave: BoNT, dor; analgesia, acetilcolina, SNARE



Abstract: Botulinum neurotoxins (BoNT) are toxins produced by bacteria of the genus *Clostridium botulinum* and are considered as the most potent toxins nowadays. Firstly, known as a food poison, later explored as a biological weapon and currently considered a great therapeutic resource. Seven different BoNT serotypes (A-G) have already been identified. Among them, serotypes A and B are used in clinics, and serotype A is the most used for the highest efficacy and safety. BoNT is widely known and used in aesthetics, through intramuscular injections to attenuate dynamic wrinkles. Additionally, it has been used as therapy in the treatment of strabismus, blepharospasm, cervical dystonia, hyperhidrosis, sialorrhea, hemifacial spasm, and many other clinical conditions in areas such as urology, neurology, ophthalmology, gastroenterology and more recently evaluated in psychiatry. BoNTs are also being studied for a new therapeutic horizon: the treatment of pain. In some painful syndromes that can be treated with BoNT, the mechanism of action is related to the inhibition of muscle contraction through inhibition of acetylcholine release at the neuromuscular junction. This effect involves a selective toxin action on SNARE family proteins (soluble N-ethylmaleimide sensitive factor attachment protein receptor), which mediate the acetylcholine exocytosis process. Moreover, it shows analgesic effect in some clinical conditions that are not related to excessive muscle contraction, such as in the treatment of migraine. Therefore, it has been suggested that BoNT is capable of producing analgesia independent



of muscle contraction inhibition. This evidence has stimulated the study of BoNT in other painful conditions, such as trigeminal neuralgia. One of the advantages of BoNT clinical application is its safety. Major adverse effects are application-related and include pain, erythema, pruritus, edema, bruising, hematoma, paraesthesia, and ptosis. In this review BoNT will be analyzed in the historical, pharmacological, biochemical and clinical aspects, but the focus will be on the investigation of the analgesic effect of BoNT that occurs regardless of its muscle relaxant effect.

Keywords: BoNT, pain, analgesia, acetylcholine, SNARE

INTRODUÇÃO

A toxina botulínica é uma neurotoxina extraída da fer-

mentação de bactérias do gênero *Clostridium botulinum*, bactéria anaeróbica gram-positiva, esporulada, em forma de bastonete. Essa bactéria se apresenta em sete sorotipos (A, B, C, D, E, F e G) (SILVA, 2011), originando 8 tipos de toxina diferentes (A, B, C1, C2, D, E, F, e G), as quais são liberadas com a lise destas bactérias (BALI e THAKUR, 2005). Os sorotipos A e B são comercialmente mais importantes, sendo o sorotipo A o mais utilizado. Estudos a respeito dos demais sorotipos estão em desenvolvimento (TING; FREIMAN 2004; COALHADO; BOEING; ORTEGA. 2009).

Atualmente, estão disponíveis para comercialização várias marcas de Neurotoxina Botulínica Tipo A (BoNT/A), tais como: Botox®, Botulim®, Botulift®, Prosigne®, Dysport®, Xeomim® e NABOTA® bem



como, em alguns países já está disponível uma BoNT do tipo B (BoNT/B) para uso terapêutico, Myobloc®. É importante ressaltar que na prática clínica, essas formulações não são intercambiáveis, devido às características específicas de cada uma (KUKREJA, SINGH. 2015). Cada BoNT é aprovada para indicações específicas, para qual seu uso foi avaliado. De maneira geral, tem sido empregada em diferentes áreas da medicina incluindo oftalmologia, neurologia, dermatologia, ginecologia, urologia, otorrinolaringologia e também na odontologia.

A BoNT tem seu uso aprovado para tratamento do estrabismo, blefaroespasma, distonia cervical, espasticidade muscular, espasmo hemifacial, (NEY, JOSEPH. 2007), tratamento de linhas faciais hiperkinéticas (BALI e THAKUR, 2005),

hiperidrose focal palmar e axilar, incontinência urinária causada por hiperatividade neurogênica do músculo detrusor da bexiga e profilaxia de migrânea crônica em adultos (BOTOX®: Bula). Há outros casos em que seu uso ainda não foi aprovado, mas está sendo avaliado e apresenta evidências científicas de eficácia: sialorréia, cefaleia tensional, dor lombar, disfonia espasmódica, disfunção da Articulação Temporomandibular e vaginismo, (NEY, JOSEPH. 2007), hiperplasia benigna da próstata e dor miofacial (MARQUES, 2014)

Atualmente, a migrânea crônica permanece a única indicação relacionada à dor aprovada para tratamento com BoNT. Até o ano 2000 apenas cinco estudos haviam sido publicados a respeito da BoNT/A no tratamento da migrânea, no entanto, mostraram um bom e consistente nível de



evidência de sua eficácia. Estes estudos observaram diminuição da intensidade dos episódios e da frequência de migrânea, cefaleia tipo tensão e outros tipos de cefaleia (SILBERSTEIN et.al.2006).

Tendo em vista essas considerações, o objetivo desse estudo é revisar os aspectos farmacocinéticos e farmacodinâmicos da BoNT e discutir os mecanismos relacionados ao seu efeito analgésico.

FARMACOCINÉTICA

Estudos farmacocinéticos sobre a BoNT são escassos, principalmente pela dificuldade de detectar suas concentrações plasmáticas após administração de doses terapêuticas (GRACIES, JM et al, WEINKERS, K. 1984). Após injeções locais em tecidos como o músculo, derme ou tecido subcutâneo, a BoNT/A

se liga à membrana neuronal e entra nos neurônios, enquanto a fração não ligada provavelmente é diluída na circulação linfática e levada para longe dos locais de injeção, sendo incapaz de afetar terminações neuronais mais distantes devido às baixíssimas concentrações (PIRAZZINI, et al. 2017).

O curso temporal da entrada de BoNT / A nos neurônios periféricos in vivo foi caracterizado e descrito apenas para doses não terapêuticas, mostrando que a BoNT/A pode acessar os terminais motores periféricos poucos minutos após a injeção sistêmica (SIMPSON, 2013).

DURAÇÃO DA AÇÃO E RESTAURAÇÃO DA FISIOLÓGIA NORMAL

A ação da BoNT no músculo estriado esquelético



tem seu início em alguns dias se estendendo até duas semanas. Uma vez instalado, o efeito perdura por seis semanas a seis meses (em média de três a quatro meses). Durante o período de efeito mais intenso, por meio de exame histológico, observa-se atrofia muscular e alteração das fibras (DRESSLER et al. 2007; UNNO, et al. 2005). Após dois a três meses, sua ação começa a diminuir gradativamente. A reversão da paralisia local ocorre por dois mecanismos: 1) Através do “brotamento” neural, em que se tem a neoformação de brotos axonais, com a reinervação muscular temporária e, 2) Através da regeneração das proteínas de acoplamento das vesículas de acetilcolina (complexo SNARE (Soluble N-ethylmaleimide sensitive factor attachment protein receptor)) (CARDOSO, 2003). A via metabólica da BoNT não

está devidamente documentada, porém pode ser explicada pela presença de proteases que ocasionam a degradação de suas cadeias polipeptídicas.

FARMACODINÂMICA

A BoNT é formada por uma cadeia pesada (100 kDa), responsável principalmente pela sua internalização no terminal nervoso, e uma cadeia leve (50 kDa), que possui atividade catalítica (TEHRAN, PIRAZZINI, 2018). Uma vez que a BoNT é injetada em um tecido, sua cadeia pesada liga-se à glicoproteínas de vesícula, e através dessa ligação vai ocorrer a endocitose da neurotoxina para o terminal nervoso motor. Essa especificidade ao local de ligação garante alta seletividade da BoNT para as sinapses colinérgicas (DESSLER, SABERI, BARBOSA, 2005). Depois



de internalizada, o pH ácido da vesícula sináptica favorece a liberação da cadeia leve para o citosol, onde ela irá interferir com o processo de exocitose de Acetilcolina (ACh) (PIRAZZINI et al., 2017).

Várias proteínas participam do processo de fusão da vesícula sináptica com a membrana pré-sináptica em resposta ao influxo de íons cálcio, que irá culminar na exocitose. Estão envolvidas nesse processo proteínas presentes na membrana da vesícula sináptica (VAMP e Sinaptobrevina), bem como proteínas presentes na membrana da terminação nervosa (SNAP25 e Syntaxina). A interação dessas proteínas para levar a fusão das membranas é chamada de complexo SNARE (ROSSETTO, PIRAZZINI, MONTECUCCO, 2014).

A cadeia leve da BoNT

atua como uma protease, interrompendo a exocitose de ACh através da clivagem de três proteínas diferentes do complexo de fusão sináptica. As proteínas alvo variam entre os sorotipos de BoNT. Os sorotipos de BoNT A e E clivam SNAP-25, enquanto que os sorotipos B, D F e G clivam a VAMP, tendo como alvo diferentes peptídeos. Já o sorotipo C pode clivar tanto a Syntaxina quanto a SNAP25 (DEMBEK 2007; DESSLER, SABERI, BARBOSA, 2005; PIRAZZINI et al., 2017).

A clivagem proteolítica do complexo SNARE evita a ancoragem da vesícula de ACh na superfície interna da membrana celular e resulta em bloqueio da fusão das vesículas. A inibição da liberação de ACh resulta em inibição da contração muscular, quando o tecido alvo é um músculo, bem como bloqueio da es-



timulação autonômica colinérgica, quando o tecido alvo recebe inervação parassimpática. Para que ocorra o término do efeito de BoNT é necessária a restauração ou turnover do complexo de proteínas SNARE (DESSLER, SABERI, BARBOSA, 2005).

EVIDÊNCIAS DO EFEITO ANALGÉSICO DA BONT/A

A dor é uma experiência sensorial e emocional desagradável que reduz substancialmente a qualidade de vida. O filósofo René Descartes descreveu a dor como uma sensação que vai da pele ao cérebro. Em certas condições, a dor se torna uma doença em si. Avanços recentes estão desenvolvendo o conceito de que a dor envolve células imunes, células da glia e astrócitos, que formam uma rede integrada com circuitos neuronais para modular

a dor (KUMAR, 2018).

O tratamento da dor apresenta-se como um novo horizonte terapêutico para o uso da BoNT, pois ao impedir a contração da musculatura, interrompe o ciclo espasmo-dor. Inicialmente, o efeito analgésico nos distúrbios neuromusculares e nas dores musculoesqueléticas foi atribuído inicialmente apenas ao efeito relaxante muscular. Entretanto, estudos mostram que a BoNT foi capaz de produzir analgesia em modelos animais de dor não muscular e em condições dolorosas não musculares em humanos, sugerindo novos mecanismos de ação e novas indicações terapêuticas para a BoNT na dor. (CUI, et al. 2004).

Acredita-se que a BoNT tenha quatro modos principais de atuação na dor:

- Vias diretas:



1) Normalização da hiperatividade muscular; (COALHADO; BOEING; ORTEGA. 2009) - Diminuindo a atividade contrátil do músculo devido à hiperatividade ou sensibilização do nociceptor (KUMAR, 2018). No entanto, essa teoria não explica por que o alívio da dor com a BoNT pode ocorrer antes do relaxamento muscular (GOBEL et al., 2001; ARCHANA 2016).

2) Normalização da excessiva atividade do fuso muscular; (COALHADO; BOEING; ORTEGA. 2009) - A BoNT pode inibir as fibras musculares extrafusais e normalizar níveis excessivos de atividade do fuso muscular (ROSALES et al., 1996; GOBEL et al., 2001). A liberação excessiva de ACh na junção neuromuscular leva a níveis altos de atividade da placa

terminal, resultando em contração muscular extrafusil. A BoNT inibe a transmissão de neurotransmissores nos gama-neurônios no fuso muscular e diminui atividade muscular (ARCHANA, 2016).

- Vias indiretas:

3) Inibição da liberação dos neuropeptídeos pelos nociceptores - Diversos estudos pré-clínicos reforçam a hipótese de que a BoNT pode interferir com a inflamação neurogênica, isto é, impede a liberação de neurotransmissores sensoriais das terminações nervosas periféricas. Foi demonstrado que a BoNT/A bloqueia a liberação de peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP) e substância P (SP) (DURHAM, et.al. 2004; ARCHANA 2016; COALHADO; BOEING;



ORTEGA 2009), sugerindo que a liberação sensorial de neuropeptídeos depende do complexo SNARE.

Segundo RANOUX e colaboradores (2008), a inibição da inflamação neurogênica pela BoNT é responsável pelo seu efeito analgésico direto em pacientes com dor crônica neuropática. Outros estudos em pacientes com dor crônica tem indicado como vantagens da BoNT em relação a outros fármacos, o efeito após uma única aplicação e o perfil de segurança (ATTAL et al., 2016). Portanto, tem sido considerado que sua eficácia em certas condições de dor resistentes à terapia é de especial importância (MATAK et.al. 2019). Através de sua capacidade de interferir com o processo de exocitose, também tem sido demonstrado que a BoNT/A inibe a liberação de somatostatina,

serotonina, bradicinina, glutamato, noradrenalina, trifosfato de adenosina (ATP), dentre outros mediadores. Considerando que vários destes mediadores tem papel bem estabelecido na transmissão nociceptiva, possivelmente esse mecanismo pode contribuir para o efeito analgésico da BoNT em diferentes condições dolorosas. Entretanto, são necessários estudos adicionais para avaliar a relevância desse mecanismo (PIRAZZINI, et.al 2007; GO, et.al 2021; WASKITHO, et.al 2021).

Nesse sentido, é importante ressaltar o efeito de BoNT na liberação de CGRP e sua relação com o efeito analgésico da toxina. O CGRP é considerado um dos mediadores chaves da migrânea e recentemente se tornou alvo de novas terapias para essa condição (para revisão ver EDVINSSON et al., 2018). O fato



da BoNT ser capaz de inibir a liberação de CGRP pode explicar sua eficácia na enxaqueca crônica, que foi demonstrada em dois grandes ensaios clínicos controlados e randomizados. Os resultados desses estudos favoreceram a aprovação do Botox® para essa indicação em 2011 (DODICK, et.al. 2010).

O potencial da BoNT em reduzir a inflamação neurogênica parece contribuir também para o seu efeito anti-inflamatório, evidenciado em alguns estudos. CUI et al. mostraram que a BoNT/ A reduziu o edema e o comportamento nociceptivo dos animais após injeção de formalina na pata. O efeito anti-inflamatório foi demonstrado ser independente da inibição da contração muscular, e envolveu a inibição da liberação de glutamato e neuropeptídeos pelas fibras de dor (CUI, et al. 2004). Esses dados

foram corroborados por achados de outros grupos, que tem mostrado uma ação analgésica direta de BoNT, promovida pela inibição da liberação dos neuropeptídeos (CGRP e substância P) e de glutamato dos nociceptores (COALHADO; BOEING; ORTEGA 2009; CHUANG, et al. 2008; CHUANG, et al. 2009).

4) Fluxo neuronal retrógrado para o SNC; (COALHADO; BOEING; ORTEGA. 2009) - A BoNT não pode atingir o Sistema Nervoso Central (SNC) por difusão, pois não atravessa a barreira hematoencefálica. No entanto, alguns estudos têm demonstrado o transporte retrógrado da BoNT da periferia para o SNC. Nesse sentido, é importante citar o estudo de Favre-Guilhard e colaboradores (2017), que demonstraram que a injeção unilateral de BoNT era ca-



paz de causar analgesia bilateral (em ambas as patas dos animais) em modelos de dor inflamatória e neuropática. Esse grupo tem demonstrado o transporte axonal retrógrado de BoNT para a medula espinhal, bem como sua importância para o efeito analgésico da toxina (Favre-Guilmond et al, 2017).

Ademais, foi demonstrado que fragmentos de BoNT nos aferentes nociceptivos de gânglios das raízes dorsais podem inibir neurotransmissores, em particular a Substância P (GOBEL, 2003; SPOSITO, 2009). Além disso, a injeção de BoNT marcada radioativamente mostrou ser detectável nas raízes espinhais da medula após 48hs, o que explica clinicamente o tempo de início da redução dos sintomas dolorosos. Porém, permanece incerto se a BoNT/A pode ter um transporte retrógra-

do para o SNC através de certas populações de neurônios, o que precisa ser melhor investigado (GOBEL, 2003; SPOSITO, 2009). No entanto, é válido ressaltar que recentemente foi demonstrado que o efeito central da BoNT, transportada retrogradamente, também contribui para sua eficácia no controle da espasticidade e desordens de movimento (CALEO e RESTANI, 2018; MATAK et al., 2019).

Além desses quatro mecanismos principais para explicar o efeito analgésico de BoNT em diferentes condições dolorosas, outros mecanismos vêm sendo propostos. Um deles diz respeito à participação do SNAP-25 na modulação da atividade dos canais de cálcio e, possivelmente de outros canais de íons dependentes de voltagem (HE et al., 2008; JI et al., 2002; ZAMPONI, 2003). Tem sido demonstrado que a in-



teração de canais de cálcio com proteínas das sinapses serve para regular atividade do canal tanto diretamente quanto indiretamente, através da alteração de segundos mensageiros que modulam esses canais. Portanto, a clivagem da SNAP-25 pela BoNT poderia alterar o funcionamento dos canais de cálcio e consequentemente a liberação de neurotransmissores.

Outro mecanismo proposto sugere que a BoNT/A ao clivar a SNAP-25 pode interferir na translocação dos receptores TRPV1 do compartimento endossômico para a membrana plasmática da célula. Receptores TRPV1 são considerados essenciais para a hiperalgesia inflamatória. Portanto, uma redução na sua expressão pode contribuir para o controle da hiperalgesia (MORENILLA-PALLAO, et.al.2004, SHIMIZU et al., 2012;

FAN et al., 2017).

Tomados em conjunto, os resultados discutidos acima sugerem que vários mecanismos parecem contribuir para o efeito analgésico de BoNT, os quais podem ter relevância diferente dependendo da condição dolorosa. Portanto, são necessários mais estudos para avaliar os mecanismos analgésicos da BoNT em diferentes condições e assim poder ampliar de maneira fundamentada suas indicações clínicas no tratamento da dor.

CONCLUSÃO

Diante de todas essas informações, pode-se concluir que a BoNT representa um avanço considerável na medicina, seja pelo amplo leque de usos, seja por sua eficácia e alternativa à tratamentos não responsivos ou não eficazes com medicações de



primeira escolha. Além disso, as BoNT's têm reconhecida ação terapêutica no tratamento de algumas síndromes dolorosas. A proposta deste trabalho, portanto, foi reunir dados a respeito da atividade terapêutica atribuída à BoNT, com foco no tratamento da dor.

A terapia com BoNT é segura e bem tolerada principalmente em casos de dor crônica, em que tratamentos farmacológicos tradicionais podem provocar efeitos colaterais. Além disso, efeitos colaterais sistêmicos são relativamente raros. Outra vantagem é a redução de medicamentos adjuvantes e a duração da sua ação, com três a quatro meses por dose, diferentemente de outras medicações que requerem uso contínuo.

A expectativa é que esse trabalho fomenta a literatura com mais informações acerca do uso

da BoNT na terapêutica, visando ampliar e aprofundar a investigação dos seus mecanismos e seu potencial uso terapêutico no tratamento de condições dolorosas. A respeito de perspectivas futuras, a expectativa é que com todo o interesse e especulação em neurotoxinas botulínicas, novas aplicações terapêuticas inovadoras surgiram na próxima década.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARCHANA, M. Toxin yet not toxic: botulinum toxin in dentistry. *The Saudi Dental Journal*, v. 28, 63–69, 2016.

ATTAL, N.et al. Safety and efficacy of repeated injections of botulinum toxin A in peripheral neuropathic pain (BOTNEP): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lan-*



cet Neurology, 15(6), 555–565.
doi:10.1016/s1474-4422(16)-
00017-x

BALI, J.; THAKUR, R.. Poison
as cure: a clinical review of bo-
tulinum toxin as an invaluable
drug. J. Venom. Anim. Toxins
incl. Trop. Dis, Botucatu , v.
11, n. 4, p. 412-421, Dec. 2005 .
Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pi91992005000400003&lng=en&nrm=iso>. access
on 21 Nov. 2019. [http://
dx.doi.org/10.1590/S1678-
91992005000400003](http://dx.doi.org/10.1590/S1678-91992005000400003).

BOTOX®: Toxina botulínica A.
ALLERGAN. Bula de medica-
mento.

CARDOSO, F. Toxina botulínica
tipo B no manejo de distonia não
responsiva à toxina botulínica
tipo A. Arq Neuropsiquiatr., v.61:

607-610. 2003.

CHUANG, Y.-C.; YOSHIMU-
RA, N.; HUANG, C.-C.; WU,
M.; CHIANG, P.-H.; CHAN-
CELLOR, M.B. Intraprostatic
botulinum toxin a injection inhi-
bits cyclooxygenase-2 expression
and suppresses prostatic pain on
capsaicin induced prostatitis mo-
del in rat. J. Urol., 180, 742–748.
2008.

CHUANG, Y.-C.; YOSHIMU-
RA, N.; HUANG, C.-C.; WU,
M.; CHIANG, P.-H.; CHAN-
CELLOR, M.B. Intravesical
botulinum toxin A administra-
tion inhibits COX-2 and EP4 ex-
pression and suppresses bladder
hyperactivity in cyclophospha-
mide-induced cystitis in rats.
Eur. Urol., v.56, 159–166. 2009.

CUI, M.; KHANIJOU, S.; RUBI-
NO, J.; AOKI, K.R. Subcutaneous



- administration of botulinum toxin A reduces formalin-induced pain. *Pain*, 107, 125–133. 2004
- DODICK, D.W. et al. OnabotulinumtoxinA for Treatment of Chronic Migraine: Pooled Results From the Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Phases of the PREEMPT Clinical Program. *Headach J. Head Face Pain*, 50, 921–936. 2010
- DRESSLER D, BENECKE R. Pharmacology of therapeutic botulinum toxin preparations. *Disabil Rehabil*; 29:1761–1768. 2007.
- DURHAM, PL; CADY, R .; CADY, R. Regulação da secreção de peptídeos relacionados ao gene da calcitonina das células nervosas trigêmeos pela toxina botulínica tipo A: implicações para a terapia da enxaqueca. *Dor de cabeça*; v.44 , 35-42; discussão 42-43. 2004.
- FAVRE-GUILMARD, C.; CHABRIER, P.-E.; KALINICHEV, M. Bilateral analgesic effects of abobotulinumtoxinA (Dysport®) following unilateral administration in the rat. *Eur. J. Pain*; v.21, 927–937. 2017
- He, Y., Elias, C.L., Huang, Y.C., Gao, X., Leung, Y.M., Kang, Y., Xie, H., Chaddock, J.A., Tsushima, R.G., Gaisano, H.Y. 2008 Botulinum neurotoxin A and neurotoxin E cleavage products of synaptosome-associated protein of 25 kd exhibit distinct actions on pancreatic islet beta-cell Kv2. 1 channel gating. *Pancreas* 36, 10-17.
- Ji, J., Salapatek, A.M., Lau, H., Wang, G., Gaisano, H.Y., Diamond, N.E. 2002 SNAP-25, a SNARE protein, inhibits two



types of K channels in esophageal smooth muscle. *Gastroenterology* 122, 994-1006.

KUKREJA, Roshan. SINGH, Bal. The botulinum toxin as a therapeutic agent: molecular and pharmacological insights. 2015

KUMAR, Raj. Therapeutic use of botulinum toxin in pain treatment. 2018. *Neuronal Signaling* (2018) 2 NS20180058 <https://doi.org/10.1042/NS20180058>

MARQUES. Joana Raquel Santos. A Toxina Botulínica: O seu uso clínico. Dissertação de mestrado. Repositório Institucional da Universidade Fernando Pessoa. 2014 acessado: <http://hdl.handle.net/10284/4851>

Matak I, Bölskei K, Bach-Rojecky L, Helyes Z. Mechanisms of Botulinum Toxin Type A Ac-

tion on Pain. *Toxins* (Basel). 2019 Aug 5;11(8):459. doi: 10.3390/toxins11080459. PMID: 31387301; PMCID: PMC6723487.

Waskitho A, Yamamoto Y, Raman S, Kano F, Yan H, Raju R, Afroz S, Morita T, Ikutame D, Okura K, Oshima M, Yamamoto A, Baba O, Matsuka Y. Peripherally Administered Botulinum Toxin Type A Localizes Bilaterally in Trigeminal Ganglia of Animal Model. *Toxins* (Basel). 2021 Oct 5;13(10):704. doi: 10.3390/toxins13100704. PMID: 34678997; PMCID: PMC8541196.

Morenilla-Palao, C.; Planells-Cases, R.; García-Sanz, N.; Ferrer-Montiel, A. Regulated Exocytosis Contributes to Protein Kinase C Potentiation of Vanilloid Receptor Activity. *J. Biol. Chem.* 2004, 279, 25665–25672.



Go EJ, Ji J, Kim YH, Berta T, Park CK. Transient Receptor Potential Channels and Botulinum Neurotoxins in Chronic Pain. *Front Mol Neurosci*. 2021 Oct 29;14:772719. doi: 10.3389/fnmol.2021.772719. PMID: 34776867; PMCID: PMC8586451.

NEY, John; JOSEPH, Kevin. Neurologic uses of botulinum neurotoxin type A. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2007 Dec; 3(6): 785–798. doi: 10.2147/ndt.s16122007

Pirazzini M, Rossetto O, Eleopra R, Montecucco C. Botulinum Neurotoxins: Biology, Pharmacology, and Toxicology. *Pharmacol Rev*. 2017 Apr;69(2):200-235. doi: 10.1124/pr.116.012658. PMID: 28356439; PMCID: PMC5394922.

Ranoux D, Attal N, Morain F, Bouhassira D. Botulinum toxin type A induces direct analgesic effects in chronic neuropathic pain. *Ann Neurol* 2008; 64:274-283.

Rosales RL, Arimura K, Take-naga S, Osame M. Extrafusal and intrafusal muscle effects in experimental botulinum toxin-A injection. *Muscle Nerve* 1996;19:488-496.

ROSSETTO, Ornella. PIRAZZINI, Marco. MONTECUCCO, Cesare. Botulinum neurotoxins: genetic, structural and mechanistic insights. *Nature Reviews Microbiology* volume 12, pages 535–549 (2014)

Shimizu, T.; Shibata, M.; Toriumi, H.; Iwashita, T.; Funakubo, M.; Sato, H.; Kuroi, T.; Ebine, T.; Koizumi, K.; Suzuki, N. Reduc-



tion of TRPV1 expression in the trigeminal system by botulinum neurotoxin type-A. *Neurobiol. Dis.* 2012, 48, 367–378)

SILBERSTEIN et al. Botulinum toxin type a in the prophylactic treatment of chonic Tension-type headache: A multicentre, double-blind, randomized, placebo-controlled, parallel-group study. *Cephalalgia*, 2006 Jul;26(7):790-800 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16776693>

SILVA, Joana Filipe Nogueira. A aplicação da Toxina Botulínica e suas complicações: Revisão Bibliográfica, Dissertação de Candidatura ao grau de. Mestre em Medicina Legal submetida ao Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar da Universidade do Porto.2011.

Simpson L. The life history of

a botulinum toxin molecule. *Toxicon.* 2013 Jun;68:40-59. doi: 10.1016/j.toxicon.2013.02.014. Epub 2013 Mar 18. PMID: 23518040.

Tehran DA, Pirazzini M. Novel Botulinum Neurotoxins: Exploring Underneath the Iceberg Tip. *Toxins (Basel).* 2018;10(5):190. Published 2018 May 10. doi:10.3390/toxins10050190

Ting PT, Freiman A. The story of *Clostridium botulinum*: from food poisoning to Botox. *Clin Med (Lond).* 2004 May-Jun;4(3):258-61. doi: 10.7861/clinmedicine.4-3-258. PMID: 15244362; PMCID: PMC4953590.

Unno E, Sakata R, Issy A. Estudo comparativo entre toxina botulínica e bupivacaína para infiltração de pontos-gatilho em síndro-



me miofascial crônica. Rev Bras
Anesthesiol. 2005;55(2):250-5.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0034-70942005000200011>

Zamponi GW. Regulation of
presynaptic calcium channels
by synaptic proteins. J Pharma-
col Sci. 2003 Jun;92(2):79-83.
doi: 10.1254/jphs.92.79. PMID:
12832834.

