

Joana Filipa Nogueira da Silva

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.
Orientador – Professor Horácio Costa
Categoria – Chefe do Serviço de Cirurgia
Plástica/Maxilo-Facial do CHVNG
Afiliação – Centro Hospitalar de Vila Nova
de Gaia/Espinho
Co-orientador – Doutor João Guimarães.
Categoria – Médico Assistente - Cirurgia
Plástica/Maxilo-Facial do CHVNG/E
Afiliação – Centro Hospitalar Vila Nova de
Gaia/Espinho

Dedico esta Dissertação às pessoas que me apoiaram durante a sua elaboração. Aos meus pais, pelo apoio. Ao Álvaro pela paciência durante a realização deste trabalho. A todos os que me apoiaram.

Agradecimentos

Aos meus Pais, Eduardo Silva e Maria José Silva, pelo apoio que me deram, e por estarem sempre presentes em todos os momentos que precisei deles.

Ao Álvaro Magalhães, pelo amor, pela ajuda que me concedeu e por ser sempre um amigo presente em todos os momentos em que precisei dele.

À Bárbara Maia pela ajuda na realização deste trabalho.

Ao Doutor Horácio Costa e Doutor João Guimarães pela colaboração.

À Professora Maria José Carneiro pela disponibilidade.

A todos os Professores devotos, parceiros e éticos que contribuíram para a minha formação.

“ Toda a nossa ciência, contraposta à realidade, é primitiva e infantil. No entanto, é a coisa mais preciosa que temos.”

Albert Einstein

Resumo:

No âmbito do Mestrado de Medicina Legal, do Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, foi realizada a seguinte dissertação, "A aplicação da Toxina Botulínica e suas complicações". Este tema foi escolhido devido à sua forte presença na actualidade, à curiosidade que esta substância desperta e ao pouco realce sobre as consequências da sua aplicação.

A Toxina Botulínica é uma substância que revela um crescendo constante na nossa sociedade. Caracteriza-se como um auxiliar na busca da beleza e do rejuvenescimento do Mundo.

Esta é uma toxina que provém da lise da bactéria *Clostridium Botulinum*, apresentando-se em 7 serótipos diferentes (A, B, C, D, E, F e G), sendo a Toxina Botulínica tipo A a mais utilizada. A Toxina Botulínica apresenta uma estrutura molecular formada por uma cadeia peptídica simples composta por 3 porções: L; Hc; Hn, tendo cada uma delas um papel importante no mecanismo de acção da toxina. Este mecanismo caracteriza-se pela diminuição da contracção muscular, através da inibição da acetilcolina. Assim, esta diminuição de tensão muscular, permite várias utilizações no ramo da Medicina Estética, sendo aplicada em intervenções como eliminação dos "pés de galinha", das linhas horizontais da testa, das rugas do complexo glabellar, elevação e modelação da sobrancelha, eliminação das rugas peribucais, suavização do sulco nasogeniano e redução das rugas horizontais do pescoço e bandas do platisma. Por outro lado, as diversas aplicações na Medicina terapêutica assumem um papel complementar na sua utilização, contribuindo para a melhoria da qualidade de vida do paciente.

Todas estas aplicações assumem um risco e pressupõem cuidados redobrados na sua realização, sendo as complicações variadas e na sua maioria passageiras. Complicações, como a ptose palpebral, o edema, o eritema e muitas outras, derivam de erros ligados ao produto ou/e à técnica de injeção. Estas complicações vêm a sua probabilidade reduzida com o cumprimento correcto dos protocolos, com a realização meticulosa de todos os procedimentos, com a experiência de técnicos especializados e com a honestidade médica, sendo estes aspectos cruciais para que todo o processo culmine num resultado positivo.

São vários os casos convergentes com a lei, envolvendo o produto ou mesmo quem aplica, sendo alvo de relato e investigação das entidades indicadas (FDA ("Food and Drug Administration") e Infarmed), contribuindo para a atribuição da

responsabilidade e compensando as vítimas lesadas. Quando as reacções adversas/complicações surgem e o dano subjacente se revela, é importante a averiguação de todos os dados de forma coerente e detalhada, permitindo a atribuição da responsabilidade e o alerta de muitos outros possíveis pacientes.

Assim, de forma a analisar alguns casos destas complicações, foi requerido ao Infarmed, mais propriamente à Direcção de Gestão do Risco do Medicamento, informações de casos relatados no nosso país, constatando-se uma fraca presença de informação e de notificações.

É de realçar, como premissa fundamental deste trabalho, o cuidado constante requerido na aplicação desta toxina, de forma a evitar a ocorrência de possíveis complicações.

A Toxina Botulínica é uma pedra, que deve ser polida e trabalhada com cuidado, podendo assim dar ao paciente toda a sua preciosidade.

Palavras-Chave: Toxina Botulínica, *Clostridium Botulinum*, Medicina Estética, Medicina Terapêutica.

Abstract:

The following dissertation, “The use of botulinum toxin and its complications”, was written within the framework of the Master Degree in Forensic Medicine at “Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar”. This subject was chosen due to its strong presence today, the curiosity the substance inspires and the little emphasis given to the consequences of its use.

Botulinum toxin is a substance that is showing constant growth in our society. It is considered an auxiliary in the quest for beauty and the rejuvenation of the world.

This toxin comes from the lysis of the bacterium *Clostridium Botulinum*, presenting itself in 7 different serotypes (A, B, C, D, E, F, and G), and botulinum toxin type A is the most used. Botulinum toxin has a molecular structure formed by a simple peptide chain composed of 3 parts: L, Hc, and Hn; and each of them has an important role in the action mechanism of the toxin. This mechanism is characterized by a decrease in muscular contraction, through the inhibition of acetylcholine. Thus, this decrease in muscular tension allows several uses in the area of Aesthetic Medicine, and is applied in operations such as the elimination of “crow’s feet”, the horizontal lines of the forehead, and the wrinkles of the glabellar complex, the elevation and shaping of the eyebrow, the elimination of the wrinkles around the mouth, the softening of the nasolabial folds and the reduction of the horizontal wrinkles of the neck and platysma bands. On the other hand, the different applications in Therapeutic Medicine take on a complementary role in its use, contributing to the improvement of the quality of life of the patient.

All the applications present a risk and require extra care in their execution; the complications are varied and generally short-lived. Complications such as palpebral ptosis, oedema, erythema and many others result from errors related to the product or/and the injection technique. The likelihood of these complications is reduced by strict compliance with the protocols, meticulous execution of all procedures, the experience of specialized technicians, and medical honesty, and these aspects are crucial to achieving a positive outcome.

There are various cases convergent with the law, involving the product or even those who apply it, which are being reported and investigated by the listed entities (FDA (“Food and Drug Administration”) and Infarmed), contributing to the attribution of responsibility and compensating the injured victims. When adverse reactions/complications arise and the underlying damage is revealed, it is important to investigate all data in a consistent and detailed manner, allowing for the allocation of responsibility and the warning of many other possible patients.

Therefore, in order to analyze some cases of these complications, Infarmed, more specifically the “Direcção de Gestão do Risco de Medicamento”, was asked for information about reported cases in our country, and a weak presence of information and notifications was verified.

It is important to highlight, as a fundamental premise of this work, the constant care required in the application of this toxin, in order to avoid possible complications.

The botulinum toxin is a stone that should be polished and worked with great care, so that it is capable of giving the patient all of its preciousness.

Keywords: Botulinum Toxin, Clostridium Botulinum, Aesthetic Medicine, Therapeutic Medicine

Sumário:

1.	Introdução:	1
1.1.	História da Toxina Botulínica.	2
1.1.1.	A Descoberta do <i>Doutor Justinius Kerner</i> (1786-1862).	2
1.1.2.	<i>Doutor Emile Pierre Van Ermengem</i> e o <i>Clostridium Botulinum</i>	4
1.1.3.	<i>Fort Detrick</i> – Uma pesquisa para uma Guerra Biológica.	5
1.1.4.	Contribuições da Toxina Botulínica ao longo da sua História.	8
1.2.	A relação entre o <i>Clostridium Botulinum</i> e a Toxina Botulínica.	10
1.2.1.	A estrutura molecular da Toxina Botulínica.	11
1.2.2.	Dados Farmacológicos.	13
1.2.3.	O Sistema Nervoso e a transmissão de informação – pré-enquadramento do mecanismo de acção da Toxina Botulínica.	14
1.2.4.	Modo de acção da Toxina Botulínica.	19
1.2.5.	Absorção e Difusão da Toxina Botulínica.	25
1.2.6.	Produtos comercializados – Toxina Botulínica.	26
1.2.7.	Outros aspectos relevantes da aplicação da Toxina Botulínica.	27
1.3.	Aplicações da Toxina Botulínica - envolvimento muscular facial.	30
1.4.	O Botox na gravidez.	38
2.	Desenvolvimento.	41
2.1.	Métodos de Aplicação da Toxina Botulínica na Estética.	41
2.1.1.	Indicações, Contra-indicações, Qualificações de aplicação e Recomendações na aplicação estética da Toxina Botulínica A (BOTOX®).	41
2.1.2.	Variáveis condicionantes do tratamento estético.	45
2.1.3.	Reconstituição e manuseamento da Toxina Botulínica A (BOTOX®).	46
2.1.4.	Material.	46
2.1.5.	Protocolo geral (parâmetros essenciais em todas as aplicações a realizar).	47
2.1.6.	Locais de Aplicação e Tratamento com Toxina Botulínica A (BOTOX®). 48	
2.1.7.	Recomendações e aspectos ligados à técnica de aplicação de Toxina Botulínica A (BOTOX®) em algumas das zonas de tratamento:	51
2.2.	Medicina Não Estética- Aplicações Terapêuticas:	76
2.2.1.	Hiperidrose.	76
2.2.1.1.	Definição:	76
2.2.1.2.	Aplicação:	79
2.2.2.	Estrabismo.	79

2.2.2.1.	Definição:	79
2.2.2.2.	Aplicação:	80
2.2.3.	Blefaroespasma e Espasmo Hemifacial.....	81
2.2.3.1.	Definição:	81
2.2.3.1.	Aplicação:	82
2.2.4.	Distonia Cervical ou Torcicolo Espasmódico.	84
2.2.4.1.	Definição:	84
2.2.4.2.	Aplicação:	85
2.2.5.	Outras aplicações.....	86
2.3.	Botulismo.	90
2.3.1.	Definição e Tipos de Botulismo.....	90
2.3.2.	Epidemiologia.	92
2.4.	Complicações.....	93
2.4.1.	Complicações na aplicação de toxina botulínica na face.	93
2.4.1.1.	Estrabismo:	98
2.4.1.2.	Blefaroespasma:.....	98
2.4.1.3.	Espasmo Hemifacial:	98
2.4.1.4.	Aplicações Estéticas na face:	99
2.4.2.	Outras aplicações e Reacções adversas correspondente.....	105
2.4.2.1.	Distonia Cervical:.....	105
2.4.2.2.	Hiperidrose:	105
2.4.3.	Complicações por sobredosagem.....	106
2.4.4.	Registos de Complicações.	106
3.	Discussão/Conclusão.....	115
4.	Anexos:	119
5.	Bibliografia	123

Lista de Tabelas:

Tabela 1 – Grupos de Toxina Botulínica, segundo as propriedades sorológicas.....	10
Tabela 2 - Diferenças entre o SNA Simpático e o SNA Parassimpático.....	16
Tabela 3 – Tipos de toxinas Botulínicas, receptores proteicos, seu uso clínico e sua descoberta.....	21
Tabela 4 - Objectivos a atingir no tratamento da Espasticidade.....	23
Tabela 5 – Composição do BOTOX®.....	27
Tabela 6 – Dose unitária de cada um dos 3 produtos comercializados.....	29
Tabela 7 - Músculos do Terço Superior da Face, sua Origem e Função.	31
Tabela 8 - Músculos do Terço Central da Face, sua Origem e Função.....	32
Tabela 9 - Músculos do Terço Inferior da Face, sua Origem e Função.	33
Tabela 10 - Músculos da face e rugas associadas.....	35
Tabela 11 – Músculos da face e rugas associadas (continuação).....	36
Tabela 12 – Aplicações terapêuticas da Toxina Botulínica (Aplicação não estética)...	37
Tabela 13 – Indicações Estéticas e Contra-Indicações no uso da Toxina Botulínica A. (BOTOX®).....	42
Tabela 14 – Qualificações de aplicação e Recomendações no uso da Toxina Botulínica A (BOTOX®).....	43
Tabela 15 - Procedimentos a seguir como preparação para o tratamento com Toxina Botulínica A.....	44
Tabela 16 - Factores que influenciam o plano de tratamento.....	45
Tabela 17 – Equipamento necessário na Aplicação da Toxina Botulínica A.....	46
Tabela 18 - Músculos adjacentes ao tratamento facial, pontos de aplicação e doses aplicadas (BOTOX®).....	49
Tabela 19 - Músculos adjacentes ao tratamento facial, pontos de aplicação e doses aplicadas (BOTOX®) – continuação.	50
Tabela 20 - Aplicações em outras áreas da Medicina	87
Tabela 21 - Aplicações em outras áreas da Medicina (continuação).....	88
Tabela 22 - Aplicações em outras áreas da Medicina.(continuação).....	89
Tabela 23 - Reacções Adversas/Complicações mais frequentes associadas à aplicação da Toxina Botulínica na face.....	93
Tabela 24 - Reacções Adversas/Complicações mais frequentes associadas à aplicação da Toxina Botulínica na face. (continuação).....	94
Tabela 25 - Reacções Adversas/Complicações mais frequentes associadas à aplicação da Toxina Botulínica na face. (continuação).....	95

Tabela 26 – Casos de amostras de Toxina Botulínica investigados pelo Gabinete de Investigação Criminal do FDA.....	108
Tabela 27 - Casos de suspeita da acção da Toxina Botulínica.	109
Tabela 28 – Caso 1 do registo fornecido pelo Infarmed.	111
Tabela 29 – Caso 2 do registo fornecido pelo Infarmed.	112
Tabela 30 – Caso 3 do registo fornecido pelo Infarmed	113
Tabela 31 – Informação das reacções adversas recebidas no Sistema Nacional de Farmacovigilância aos medicamentos com a substância activa toxina botulínica.	119
Tabela 32 - Informação das reacções adversas recebidas no Sistema Nacional de Farmacovigilância aos medicamentos com a substância activa toxina Botulínica. ...	120
Tabela 33 – Narrativa completa dos casos associados às reacções adversas recebidas no Sistema Nacional de Farmacovigilância aos medicamentos com a substância activa toxina Botulínica.	121

Lista de Abreviaturas:

EMG – Electromiografia.

FDA – “ Food and Drug Administration”.

Infarmed – Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde.

OCI – “Office of Crime Investigation”.

PEPS – Potencial excitatório pós-sináptico.

PIPS – Potencial inibitório pós-sináptico.

SNA – Sistema Nervoso Autónomo.

SNAP-25 – “synaptosome associated protein of 25 kDa” - Proteína Associada à Sinaptossoma de 25 kDa.

SNARE – “SNAP receptors,” - Receptores para SNAP

SNC – Sistema Nervoso Central.

SNP – Sistema Nervoso Periférico.

TBX-A – Toxina Botulínica A.

TBX-B – Toxina Botulínica B.

TIC – “Toxin Research International Inc”.

VAMP – “Vesicle's associated membrane protein” – Vesícula associada à proteína de membrana.

Lista de Figuras:

Ilustração 1 - O médico <i>Justinus Kerner</i>	3
Ilustração 2 – A bactéria <i>Clostridium Botulinum</i>	4
Ilustração 3 - <i>Fort Detrick</i> - Centro de investigação de substâncias de potencial uso em guerra biológica.	5
Ilustração 4 – O Doutor <i>Edward Schantz</i> , no seu laboratório.	7
Ilustração 5 - Criança com Estrabismo.....	8
Ilustração 6 - Estrutura da Toxina Botulínica e a sua actividade ao nível da membrana.	11
Ilustração 7 – Ligação	19
Ilustração 8 – Internalização da toxina por endocitose (imagem da esquerda) e bloqueio da libertação da acetilcolina (imagem da direita).	19
Ilustração 9 – Etapas da acção da Toxina Botulínica	20
Ilustração 10 – Mecanismo de acção da Toxina Botulínica.	22
Ilustração 11 - Rebrotamento e Restabelecimento da junção neuromuscular	24
Ilustração 12 – Produtos de Toxina Botulínica Tipo A: A – BOTOX®; B - Dysport®....	26
Ilustração 13 - Toxina Botulínica B – MYOBLOC®	26
Ilustração 14 - Músculos de Expressão Facial.	30
Ilustração 15 - Músculos Peribucais	34
Ilustração 16 - Equipamento necessário para a aplicação da Toxina Botulinica A-BOTOX®.	47
Ilustração 17- Músculos do Complexo Glabellar	52
Ilustração 18 - Pontos de aplicação para o tratamento do Complexo glabellar.	52
Ilustração 19 - Comparação entre o aspecto do Complexo Glabellar antes do tratamento (A) e um mês depois da aplicação da Toxina Botulínica A (B).	53
Ilustração 20 – Tratamento dos pés de galinha.....	54
Ilustração 21 - Músculo orbicular do olho divide-se em três partes:	55
Ilustração 22 - A Contracção da porção lateral do músculo orbicular do olho leva à formação dos “Pés de Galinha”, como é visível na imagem.....	55
Ilustração 23 – Linhas de “coelho” e respectivos pontos de aplicação; pode recorrer-se a um ponto de aplicação extra na linha média.	56
Ilustração 24 - Pontos de aplicação (1,2,3,4) no tratamento da elevação da sobrancelha, tendo como tratamento adjuvante, o aplicado no complexo glabellar.	57

Ilustração 25 - Músculo frontal (F), o músculo responsável pela elevação das sobrancelhas.	58
Ilustração 26 - Elevação das sobrancelhas, causada pela contracção do músculo frontal, originando as linhas horizontais da testa.....	58
Ilustração 27 - Músculos depressores das sobrancelhas:	59
Ilustração 28 - Linhas horizontais da testa causadas pela elevação das sobrancelhas (contracção do músculo frontal).	60
Ilustração 29 - Pontos de aplicação para reduzir a contracção do músculo frontal e eliminar as linhas horizontais da testa.....	61
Ilustração 30 - Imagem ilustrativa de um tratamento incorrecto.	61
Ilustração 31 – Comparação do antes e depois da aplicação da Toxina Botulínica:....	62
Ilustração 32 - Rugas peribucais	63
Ilustração 33 - Pontos de aplicação para tratamento das rugas peribucais, acima do lábio superior.	64
Ilustração 34 - Tratamento das rugas peribucais do lábio superior e do lábio inferior.	64
Ilustração 35 – Representação do chamado sorriso gengival: o antes (imagem esquerda) e o depois (imagem direita) da aplicação da Toxina Botulínica.	65
Ilustração 36 - Músculo Mentoniano	66
Ilustração 37 – Tratamento do músculo mentoniano.....	67
Ilustração 38 - Deformidades do queixo (contracção do m. mentoniano).	67
Ilustração 39 – Tratamento do músculo mentoniano.....	68
Ilustração 40 - Músculo do platisma.....	70
Ilustração 41 - Técnica de aplicação para tratamento das bandas do platisma.....	70
Ilustração 42 - Técnica para tratamento das rugas horizontais do pescoço.	71
Ilustração 43 - Bandas do platisma.....	71
Ilustração 44 – Rugas horizontais do platisma:	72
Ilustração 45 - Músculos envolvidos na formação do sulco nasogeniano.....	73
Ilustração 46 - Tratamento do sulco nasogeniano.....	74
Ilustração 47 – Ilustração representativa das linhas de marioneta.	75
Ilustração 48 - Tipos de Hiperidrose mais frequentes: Palmar, Plantar e Axilar.	76
Ilustração 49 - Outros tipos de Hiperidrose.	78
Ilustração 50 - Técnica de aplicação no tratamento da Hiperidrose (especificações importantes).’	79
Ilustração 51 - Técnica de Aplicação no tratamento do Estrabismo (especificações importantes).’	80
Ilustração 52 - Tempo médio de acção da Toxina.....	81

Ilustração 53 – Técnica de aplicação da Toxina Botulínica no blefaroespasma e no espasmo hemifacial.	82
Ilustração 54 - Características do tratamento do blefaroespasma e espasmo hemifacial com Toxina Botulínica A (Dysport®).	83
Ilustração 55 - Tipos de Distonia Cervical	84
Ilustração 56 - Técnica de aplicação no tratamento da Distonia cervical (especificações importantes).....	85
Ilustração 57 - Tipos de Botulismo	90
Ilustração 58 - Reacções adversas/complicações mais frequentes, num estudo de 1003 pacientes sujeitos à aplicação da Toxina Botulínica.....	96
Ilustração 59 – Ptose Palpebral.	96
Ilustração 60 - Reacções adversas derivadas da injeção.....	97
Ilustração 61 - Reacções adversas da Região Periorbitária.....	100
Ilustração 62 - Reacções adversas/Complicações na região do Músculo Frontal.	102
Ilustração 63 - Reacções adversas/Complicações da aplicação da Toxina Botulínica no Terço Médio e inferior da face.....	103
Ilustração 64 - Amostra de preparação de Toxina Botulínica usada apenas com fim investigacional:“For research purposes only not for human use”.....	107

1. Introdução:

A Medicina Estética e a Cirurgia Plástica são áreas em constante expansão.

A crescente valorização do aspecto visual nas sociedades ocidentais eleva ao seu expoente máximo a busca do “Eu jovem”, conduzindo a Medicina Estética e a Cirurgia Plástica a uma evolução constante e necessária. No entanto, a Cirurgia Plástica não se limita a contornar o poder do envelhecimento, mas também a tomar uma posição de reconstrução, elevando a importância do seu uso.

A Cirurgia Plástica divide-se em duas vertentes: a vertente reparadora, tendo como objectivo a reconstrução (restauração) ou o combate de um defeito congénito (complementar) e a vertente estética. Muitas são as técnicas usadas nesta área da Medicina, tendo estas uma evolução acentuada ao longo desta última década.

A Toxina Botulínica, tema deste trabalho, é uma das técnicas relevantes dos tempos que correm, podendo evitar o recurso a meios cirúrgicos. Esta toxina tem, principal relevo na Estética, com o objectivo de contornar as marcas do envelhecimento. No entanto, são inúmeras as aplicações desta toxina na terapêutica, tendo um objectivo complementar, como o assumido também pela Cirurgia Plástica. No entanto, o acto não cirúrgico característico da Toxina Botulínica torna a sua aplicação mais convidativa e libertadora de uma série de cuidados ligados a um tempo de recuperação mais longo e característico do acto cirúrgico.

1.1. História da Toxina Botulínica.

No século XVII já o Botulismo, doença causada pela ingestão da *Clostridium Botulinum* presente em comida contaminada, causava várias mortes na Europa. A pobreza deste tempo, em que reinava uma guerra napoleónica (1795-1813), levou à negligência das medidas sanitárias necessárias para uma produção adequada de comida, favorecendo a presença da bactéria do *Clostridium Botulinum*.¹

A História desta substância tão proclamada inicia-se com a descoberta de um Físico, *Justinus Kerner*. O físico alemão foi o primeiro a referenciar o Botulismo, no ano de 1822, atribuindo-lhe a designação de “envenenamento por salsicha”. Esta designação deveu-se ao facto da “salsicha” ter sido a causadora desta intoxicação. *J. Kerner* concluiu que seria um “veneno” a causa da doença, especulando mais tarde, um uso terapêutico para esta toxina.²

Em 1871, o termo “botulus” foi usado para nomear esta doença, que aumentava a sua ocorrência. O termo “botulus” provem do latim de “salsicha”, causador inequívoco desta doença, segundo *Kerner*. Com o aumento dos casos desta intoxicação, a “Dole Food Company, inc.”, desenvolveu novas tecnologias para enlatar a comida, que possibilitassem uma conservação e manuseamento seguro dos alimentos.

1.1.1. A Descoberta do Doutor *Justinus Kerner* (1786-1862).

Como já foi referido, *Justinus Kerner* era um físico, mas também poeta, tendo passado a ser conhecido como “Wurst”, ou seja “salsicha” em alemão, isto devido ao seu anterior estudo realizado sobre o misterioso envenenamento por salsicha.

Entre 1817 e 1820, ele publicou os primeiros casos sobre intoxicação por Toxina Botulínica, toxina produzida pelo *Clostridium Botulinum*, escrevendo em 1822 a primeira monografia sobre o mesmo assunto. Com este estudo *J. Kerner*, chegou a pontos cruciais e a algumas conclusões ligeiramente retrógradas para a nossa época. Concluiu, assim, que esta toxina:

- se desenvolvia nas salsichas, crescendo em meio anaeróbio;
- interrompia o neurotransmissor no Sistema Nervoso Periférico e Autónomo;
- era letal em pequenas doses.

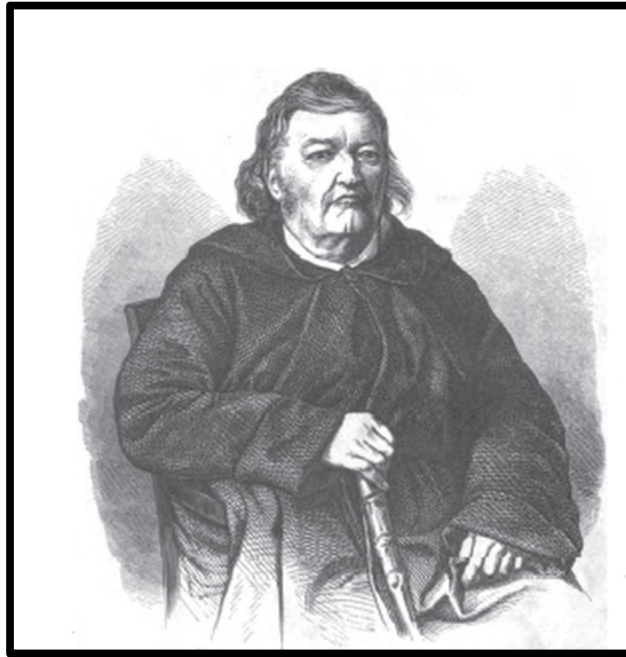


Ilustração 1 - O médico *Justinus Kerner*³

Além destas descobertas, *J. Kerner* também foi capaz de relatar alguns dos sintomas neurológicos desta toxina e que são de conhecimento actual: vômitos, espasmos intestinais, ptose, disfagia, falha respiratória e midríase (dilatação da pupila, em função da contracção do músculo dilatador da pupila). Tal como foi referido anteriormente, *J. Kerner* propôs um fim terapêutico para esta toxina. Assim, sugeriu que esta poderia ser usada para diminuir a actividade do Sistema Nervoso Simpático, quando este está associado a desordens nos movimentos, hipersecreção de fluidos corporais, úlceras provocadas por doenças malignas, delírios e raiva.

Depois de várias tentativas para produzir artificialmente esta toxina falharem, *J. Kerner* concluiu que esta toxina tinha origem biológica e animal, sendo esta uma descoberta crucial para esta época.⁴

1.1.2. Doutor *Emile Pierre Van Ermengem* e o *Clostridium Botulinum*.

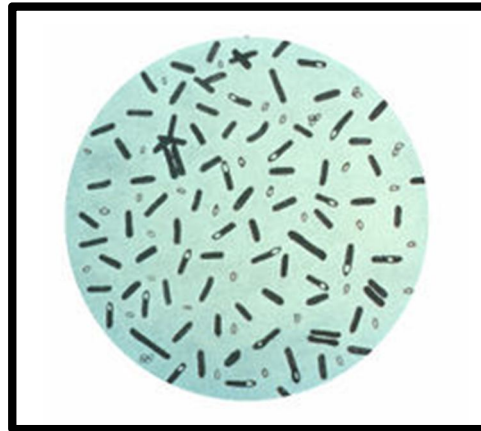


Ilustração 2 – A bactéria *Clostridium Botulinum*⁵

Emile Van Ermengem era um microbiologista ligado a *Robert Koch* (1843-1910), sendo o primeiro investigador a provar que certos microrganismos podem provocar doenças nos animais. O investigador *Koch* fez várias descobertas relevantes, descobrindo o *antrax* (1880), a tuberculose (1882), e a cólera (1883).

Em 1895, na vila belga de *Elezelles* ocorreu um surto de botulismo, conduzindo muitos indivíduos à morte. Assim, *Van Emergen* com a sua investigação foi o primeiro a estabelecer uma ligação entre o botulismo, a bactéria descoberta na carne de porco crua e salgada e o tecido *post-mortem* das vítimas que consumiram esta carne. *Van Ermengem* isolou com sucesso esta bactéria, dando-lhe o nome de *Bacillus botulinus*, sendo esta, mais tarde renomeada de *Clostridium Botulinum*.⁶

1.1.3. *Fort Detrick* – Uma pesquisa para uma Guerra Biológica.



Ilustração 3 - *Fort Detrick* - Centro de investigação de substâncias de potencial uso em guerra biológica.⁷

A Toxina Botulínica destaca-se também como um perigo biológico durante a sua história. As primeiras tentativas para desenvolver armas biológicas e químicas surgiram na Alemanha, durante a Segunda Guerra Mundial. No entanto, apesar de nenhuma destas tentativas ter sido consagrada, o governo americano continuou, ao longo dos anos, a sua investigação com vista à criação de novas armas biológicas. Assim foi criado *Fort Detrick*, durante a Segunda Guerra Mundial, pela Academia das Ciências dos Estados Unidos, em Maryland, tendo como objectivo a continuação da investigação focada na utilização de bactérias e toxinas como criação de novas armas biológicas. Este projecto foi realizado com a participação de *EB Fred* e *Ira Baldwin* da Universidade do *Wisconsin* e por *Stanhope Bayn Jones* da Universidade de *Yale*. O Gabinete de Serviços de Estratégia dos Estados Unidos (“The United States Office of Strategic Services”), através da criação do *Fort Detrick* tentou recorrer a diversas estratégias controversas para testar a Toxina Botulínica como arma biológica. Uma dessas estratégias tinha a colaboração de prostitutas chinesas, que recorrendo ao uso da toxina, assassinavam Oficiais Superiores Japoneses. Esta acção era realizada utilizando uma dose mortal de Toxina Botulínica contida numa cápsula de gelatina, sendo esta colocada na comida ou na bebida dos referidos Oficiais.

No entanto, o projecto que visava à utilização da Toxina Botulínica como arma biológica foi posteriormente abandonado pelos Estados Unidos da América. Esta decisão foi tomada e apoiada pela imunidade dos macacos (cobaias utilizadas nestes testes) em relação a esta toxina, não permitindo a evolução desta investigação. Ainda hoje se discute a imunidade destes animais à Toxina Botulínica.

Apesar da toxicidade inerente à Toxina Botulínica permitir que esta se destaque como um material de recurso para uma potencial arma biológica, é importante referir que esta é uma fraca escolha para este fim, tendo características que a excluem desta utilização. A Toxina Botulínica é facilmente inactivada através dos Protocolos de Saneamento Básico, não se transmite de pessoa para pessoa, tem de ser ingerida em quantidades suficientes para causar efeito, a sua dose letal é variável e além disso, pode ser tratada através da antitoxina botulínica, ciproflaxina e outros antibióticos. Assim, armas biológicas, como o *antrax* e algumas infecções virais são muito mais eficazes para este fim, visto que são facilmente concebidos, causando doenças transmissíveis de pessoa para pessoa, com elevado número de mortalidade, criando um pânico social.

Em 1920, o Doutor *Herman Sommer* e os seus companheiros de investigação obtiveram na Universidade da Califórnia, um concentrado de Toxina Botulínica tipo A, através da adição de um ácido a uma cultura de bactérias de *Clostridium Botulinum*.

Em 1946, investigadores do laboratório de *Fort Detrick* obtiveram uma forma cristalina de Toxina Botulínica tipo A, sendo este método usado, posteriormente, pelo Dr. *Edward Schantz*, de forma a produzir a primeira amostra de Toxina Botulínica de possível utilização humana.

Em 1972, o Presidente *Nixon* assina a Convenção das Armas Biológicas e Tóxicas, responsável pelo encerramento da investigação de agentes biológicos que tinham como fim uma utilização bélica. Desta forma, *Fort Detrick* foi formalmente fechado nesse mesmo ano, não sendo o suficiente para terminar as investigações sobre esta toxina, com vista ao uso medicinal. Esta investigação foi continuada pela Universidade de *Wisconsin*, através da coordenação de *Edward Schantz*.⁸



Ilustração 4 – O Doutor *Edward Schantz*, no seu laboratório.⁹

1.1.4. Contribuições da Toxina Botulínica ao longo da sua História.

Ao longo dos anos, a Toxina Botulínica foi assumindo diversas aplicações, que evoluíram e trouxeram novas possibilidades à Medicina. Destacam-se as áreas da Oftalmologia, da Neurologia e da Dermatologia, assumindo parte crucial na História da evolução da aplicação desta substância.

Oftalmologia:

A Toxina Botulínica foi usada, pela primeira vez, por *Alan Scott* e *Edward Schantz* em 1968. *Alan Scott* era um oftalmologista que iniciou uma investigação, com o objectivo de descobrir substâncias injectáveis que possibilitassem o combate ao Estrabismo. Assim, o seu objectivo seria encontrar uma substância capaz de bloquear o neurotransmissor envolvido na actividade muscular causadora deste problema.

Depois de considerar a opinião científica de *Edward Schantz* sobre a Toxina Botulínica, concluiu que a Toxina Botulínica seria uma alternativa ao método cirúrgico. Em 1978, *Alan Scott* obteve a autorização da FDA ("Food and Drug Administration") para aplicar esta toxina em voluntários portadores de Estrabismo.

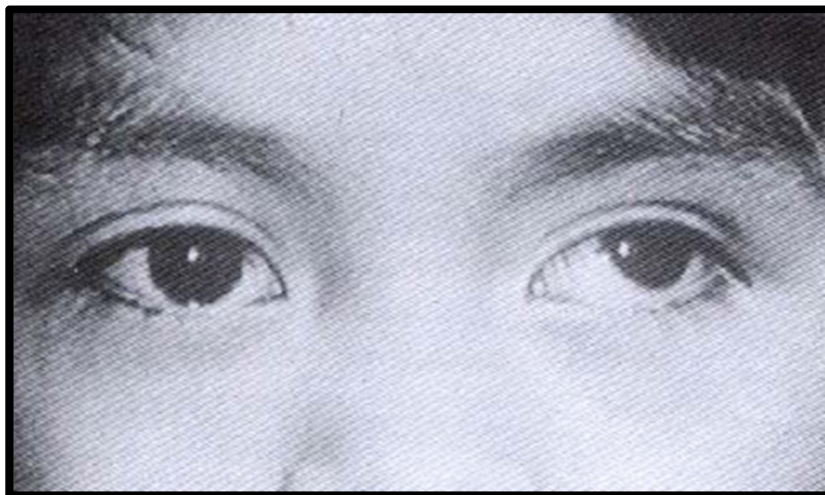


Ilustração 5 - Criança com Estrabismo¹⁰

Ao longo dos tempos, as utilizações desta substância foram crescendo, sendo actualmente usada no tratamento do blefaroespasmo, estrabismo e em outras anomalias de hiperactividade dos músculos extra oculares.

Neurologia:

A introdução da Toxina Botulínica na área Oftalmológica despertou na Neurologia um ciclo de investigações que possibilitassem o uso desta toxina nesta área. Actualmente, a Toxina Botulínica é usada para tratamento do torcicolo espasmódico, distonia, espasticidade, tremor, desordens vocais, paralisia cerebral nas crianças, desordens gastrointestinais, tensão, cefaleia e síndromes de dor.¹¹

Dermatologia:

A partir de 1990, a Toxina Botulínica tornou-se conhecida pelo seu lado cosmético. Depois do uso inicial em outras áreas da Medicina, proporcionou-se um encontro de outras aplicações.

Em 1987, a Oftalmologista *Jean Carruthers* observou que algumas das rugas horizontais de expressão, eram eliminadas durante o uso da Toxina Botulínica A (TBX-A), com vista ao tratamento do blefaroespasma. Depois desta descoberta, a *Doutora Carruthers* partilhou as suas observações com o seu marido dermatologista, levando à promoção desta nova substância como produto cosmético.

A partir de 1992, este casal canadiano, iniciou a promoção do uso da Toxina Botulínica através de várias campanhas educacionais. Em 1996, publicaram um artigo sobre a utilização cosmética da Toxina Botulínica.

Actualmente, a Toxina Botulínica é usada na dermatologia para o tratamento de casos como os designados “pés de galinha”, assimetrias faciais, elevação ou modelação da sobrancelha, rugas de expressão da testa, vindo a adquirir uma evolução cada vez mais acentuada na área dermatológica. Não é de esquecer as precauções a tomar com este produto, sendo a sua cuidada e correcta utilização fundamental para um bom resultado.

1.2. A relação entre o *Clostridium Botulinum* e a Toxina Botulínica.

As Toxinas Botulínicas são exotoxinas produzidas pelo *Clostridium Botulinum*, organismo *gram* positivo, anaeróbio e esporulado. Esta bactéria é produtora destas exotoxinas (neurotoxinas), sendo estas libertadas pela lise da bactéria¹². Esta bactéria é encontrada nos intestinos de animais silvestres e domésticos, produzindo toxinas extremamente potentes, capazes de provocar rapidamente a morte.¹³ Esta toxina destacou-se no seu passado como um relevante contaminante alimentar, atribuindo principal destaque à Toxina Botulínica tipo E.

É de referir que diferentes serótipos produzem diferentes toxinas. Assim, estes diversos tipos de toxina botulínica dividem-se em grupos, de acordo com as suas características genéticas e fenotípicas. Todos estes tipos de toxina apresentam uma actividade farmacológica semelhante, mas destacam-se por propriedades sorológicas diferentes, dividindo-se em diferentes grupos.¹⁴

Tabela 1 – Grupos de Toxina Botulínica, segundo as propriedades sorológicas.¹⁵

Grupos	Toxinas
Grupo I	Toxina Botulínica A; Toxina Botulínica B; Toxina Botulínica F.
Grupo II	Toxina Botulínica B; Toxina Botulínica E;
Grupo III	Toxina Botulínica C; Toxina Botulínica D.
Grupo IV	Toxina Botulínica G

A Toxina Botulínica é absorvida através do tracto digestivo, atingindo a corrente sanguínea e sendo transportada para os terminais neuromusculares. No caso de ocorrer absorção cutânea a toxina é transportada pelo sistema linfático, sendo levada até aos terminais neuromusculares.

É de destacar que o botulismo humano é causado pelos serótipos A, B e E.

1.2.1. A estrutura molecular da Toxina Botulínica.

As neurotoxinas do *Clostridium Botulinum* são produzidas como uma cadeia peptídica simples de 150kDa composta por 3 porções de 50kD, a saber: *L*, *Hc*, e *Hn*. As 3 porções da cadeia molecular da neurotoxina, também designadas de “BONTOXILYSIN” são conectadas entre si por pontes protéase-sensíveis (dissulfídicas). Estas porções desenvolvem diferentes papéis no processo de intoxicação celular e consequente bloqueio funcional.¹⁶

A cadeia *Hc* é responsável pela ligação com o moto neurónio, sendo constituída por duas subcadeias (*Hcn* e *Hcc*).¹⁷ Por outro lado, a cadeia *Hn* é responsável pela internalização e translocação da membrana da célula nervosa.¹⁸

A toxina torna-se activa no momento em que ocorre uma clivagem proteolítica selectiva da cadeia, formando duas cadeias activas, uma pesada de 100kDa (*Hc* + *Hn*) e uma leve de 50kDa (*L*), ligadas por uma ponte dissulfídica.

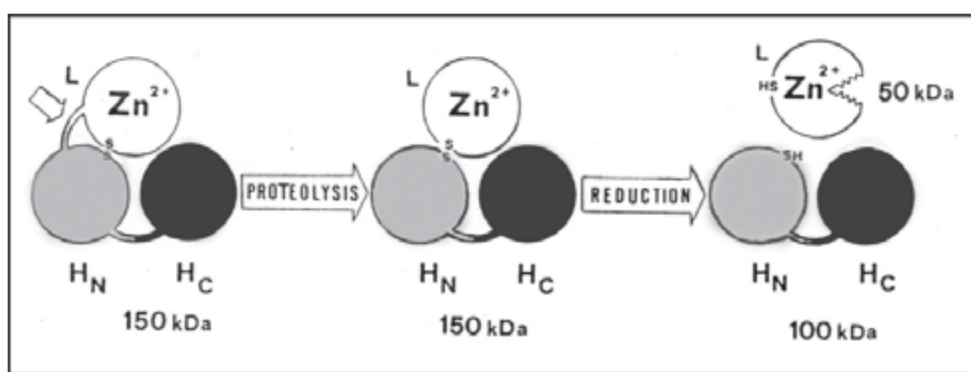


Ilustração 6 - Estrutura da Toxina Botulínica e a sua actividade ao nível da membrana.¹⁹

A cadeia L (leve) actua como um centro de ligações para as zinco-endopeptidases, com actividade proteolítica no terminal do axónio, sendo auxiliada pela cadeia H (pesada) com especificidade colinérgica, capaz de originar a translocação da cadeia leve, pela membrana sináptica do neurotransmissor.²⁰ Cada molécula de neurotoxina contém um átomo de zinco, com excepção da Toxina Botulínica C que contém dois átomos de zinco. Esta proporção de moléculas com zinco (potencialmente activas) e sem zinco (inactivas) na cadeia L depende, nomeadamente, da temperatura e do tempo de incubação.²¹ A toxicidade da Toxina Botulínica resulta da actividade catalítica inerente à cadeia L (leve) e da ligação dissulfídrica anteriormente relatada, destacando esta como a causadora da toxicidade e responsável pela penetração na célula.²² A cadeia H (pesada), por seu lado, vai ligar-se às proteínas existentes na membrana sináptica, fazendo com que a cadeia L entre na célula e clive uma proteína específica num local específico.

No entanto, se a ligação dissulfídrica for quebrada antes da internalização da toxina na célula em questão, a cadeia L não vai ser capaz de conseguir penetrar a membrana sináptica do terminal do axónio, havendo uma perda total de toxicidade.²³ A ligação bioquímica inerente pode também ter a duração do seu efeito condicionado por diversos factores, estando entre eles:

- o tempo de vida da cadeia L dentro do citosol da célula;
- o turnover (Velocidade de síntese para repor a proteína degradada) das proteínas alvo SNARE (VAMP, SNAP-25 e syntaxin);
- eventos bioquímicos secundários, ligados à produção das SNARE.²⁴

É importante, também, destacar que preparações diferentes têm pesos diferentes, sendo este um factor determinante na difusão desta toxina e na intensidade da sua toxicidade. No entanto, a afinidade desta toxina varia com o tipo de complexo neurotóxico exposto (estando este associado às diferentes quantidades de proteína não tóxica e à hemaglutina), sendo interessante relatar que a Toxina Botulínica A é a que se destaca com maior afinidade. É relevante referir, o facto de esta toxina ser relativamente estável em meio ácido (3,5 a 6,5pH), comprometendo a sua eficácia em meio alcalino, através da sua dissociação.

Por outro lado, os esporos do *Clostridium Botulinum* são altamente resistentes a temperaturas elevadas, conduzindo a uma dificuldade de eliminação.

De todas as toxinas, a B, E e F são toxinas não proteolíticas, não alterando o cheiro, nem o sabor dos alimentos, sendo assim organolepticamente indetectáveis.²⁵

1.2.2. Dados Farmacológicos.

Após a ligação deste complexo neurotóxico (toxina), através do terminal nervoso, dá-se a internalização depois de 20 minutos, podendo mesmo atingir, no máximo, a duração de 90 minutos.²⁶ Segue-se a endocitose dentro de vesículas, posteriormente condutora da clivagem proteica, fenómeno que acontece dentro da célula nervosa, na presença de um pH ácido. Esta acidez origina a libertação da cadeia L, responsável pelo bloqueio da neuroexocitose.

No caso da Toxina Botulínica A, esta vai actuar sobre as proteínas presentes na membrana pré-sináptica, mais especificamente sobre a SNAP-25, clivando-a em 3 pontos do terminal-C. Esta neurotoxina tem assim uma proteólise selectiva, actuando como uma metaloendoprotease zinco dependente.²⁷ A função específica destas metaloendoproteases é auxiliar no reconhecimento dos substratos através da interacção com o ponto de clivagem e com o segmento não contínuo, que contém a estrutura modificada comum para a VAMP, SNAP-25, e a *syntaxin*. Por outro lado, é importante referir que a SNAP-25 é um resíduo proteico, ligado à superfície da membrana e requerido no crescimento do axónio. As diferentes neurotoxinas reconhecem as estruturas terciárias dos seus alvos VAMP, SNAP-25 e *syntaxin*. Estes alvos compartilham entre si um pequeno trecho da cadeia, que é designado por “tema principal”. Este “tema principal” está presente duas vezes na VAMP, quatro vezes na SNAP-25 e duas vezes na *syntaxin*. O “tema principal” fica exposto e adopta uma configuração similar para cada um dos três alvos das neurotoxinas. Além disto, as neurotoxinas específicas para a VAMP, para a SNAP-25, e para a *syntaxin* apresentam reacção cruzada entre si, competindo pelo mesmo sítio de ligação. Porém, não são capazes de induzir a clivagem e em consequência o efeito tóxico de um alvo que não seja o seu específico.²⁸ Este fenómeno acontece devido o facto da Toxina Botulínica ser extremamente específica, reconhecendo o sítio de clivagem de um lado e o “tema principal” adicional comum aos 3 alvos proteicos - VAMP, SNAP-25 e *syntaxin*.

Assim, as toxinas reconhecem os seus substratos proteicos, através de dois locais, interagindo um deles com a região que inclui a cadeia peptídica a ser clivada e outro com a região de ligação similar à VAMP, SNAP-25 e *syntaxin*. Desta forma, a interacção com a cadeia peptídica a ser clivada, atribui à toxina a especificidade que lhe é característica.

1.2.3. O Sistema Nervoso e a transmissão de informação – pré-enquadramento do mecanismo de acção da Toxina Botulínica.

O Sistema Muscular está irreversivelmente ligado ao Sistema Nervoso, parte crucial e “chefe” do corpo humano.

O Sistema Nervoso encontra-se dividido em Sistema Nervoso Central e Periférico.

O Sistema Nervoso Central (SNC) é formado pelo Encéfalo e pela Medula Espinhal, caracterizando-se como um receptor de informação sensorial, capaz de avaliar a informação recebida, processando e integrando a informação e iniciando a resposta, assemelhando-se a um computador. Por outro lado, um computador apenas se limita a estas actividades, não produzindo ideias, emoções e outro tipo de processos mentais.

O Sistema Nervoso Periférico (SNP) assume esta importante ligação com o “mundo”, funcionando como um detector de estímulos e transmitindo-os sobre a forma de potenciais de acção. O SNP recolhe a informação de numerosas fontes dentro e fora do corpo e transmite-as ao SNC.²⁹ O SNP é formado por nervos e respectivos gânglios, sendo estes constituídos por fibras, capazes de fazer uma ligação entre o Sistema Nervoso Central e todo o Corpo Humano. Estes nervos dividem o SNP em duas partes: uma parte craniana, formada por 12 pares de nervos e uma parte raquidiana, constituída por 31 pares de nervos. Os gânglios, por seu lado, são aglomerações de corpos celulares neuronais que se localizam no exterior do SNC.³⁰

O SNP apresenta uma divisão muito característica das funções adoptadas por cada uma das suas partes constituintes, compreendendo duas subdivisões: a divisão aferente e a divisão eferente. A divisão aferente, também designada por sensorial vai assumir o papel importante de transmissão dos potenciais de acção dos órgãos sensoriais ao SNC, sendo importante referir que os corpos celulares destes neurónios localizam-se nos gânglios, junto à medula espinhal ou junto à origem de alguns nervos cranianos (SNC).

Por outro lado, a divisão eferente, constituída pelos neurónios eferentes é responsável pela transmissão de potenciais de acção da periferia para o SNC, dividindo-se em duas partes: o Sistema Nervoso Somático Motor e o Sistema Nervoso Autónomo, distinguindo-se na sua função.

O Sistema Nervoso Somático Motor vai transmitir potenciais de acção provenientes do SNC aos músculos esqueléticos, traduzindo-se numa reacção. Neste processo, os corpos celulares dos neurónios do Sistema Nervoso Somático Motor vão apresentar-se dentro do SNC, enquanto que os seus axónios estendem-se até às junções neuromusculares. O Sistema Nervoso Somático Motor desempenha um papel crucial na postura, na locomoção e no equilíbrio, sendo muitas destas acções voluntárias.

Por outro lado, o Sistema Nervoso Autónomo (SNA) vai transmitir potenciais de acção do SNC para o músculo liso, cardíaco e para certas glândulas, sendo o seu controlo feito de forma involuntária, característica que lhe atribui uma diferente designação, Sistema Nervoso Involuntário ou Vegetativo. É importante referir que o SNA tem dois conjuntos de neurónios, que se expressam em séries, localizando-se entre o SNC e os órgãos efectores. Este mecanismo vai caracterizar-se por uma espécie de ligação “dupla” de neurónios, em que os primeiros destes neurónios se localizam no interior do SNC, enviando os seus axónios para gânglios autónomos e designando-se por neurónios pré-ganglionares. Nos gânglios autónomos localizam-se os corpos celulares dos segundos neurónios, os neurónios pós-ganglionares. Entre estes neurónios, no interior do gânglio autónomo, encontra-se um espaço, designado por sinapse, sendo que os axónios dos segundos neurónios se vão estender deste gânglio até aos órgãos efectores, transmitindo o potencial de acção até à “meta” pretendida.

Ao contrário do Sistema Nervoso Somático Motor que vai apenas actuar de forma excitatória, o Sistema Nervoso Autónomo vai ter um efeito excitatório ou inibitório.

O SNA vai dividir-se, por sua vez, em duas partes: o SNA Simpático e o SNA Parassimpático. O SNA Simpático vai assumir uma função de preparação do corpo para uma acção, sendo que o Parassimpático se destaca pelo controlo do repouso e das funções meramente vegetativas, como a digestão de alimentos. No entanto, é importante destacar que ambos se revelam em acções involuntárias, visto que constituem o SNA.

O SNA Simpático vai diferir em alguns aspectos do SNA Parassimpático, sendo importante destacar estas diferenças, de forma a compreender melhor o seu mecanismo. Estes diferem basicamente nos pontos que se seguem.

Tabela 2 - Diferenças entre o SNA Simpático e o SNA Parassimpático³¹

	SNA Simpático	SNA Parassimpático
<u>Localização dos corpos celulares dos neurónios pré-ganglionares no SNC</u>	Nos cornos laterais da substância cinzenta da medula espinhal	No Tronco Cerebral e cornos laterais
<u>Localização dos gânglios autónomos</u>	Ao longo da coluna vertebral – gânglios da cadeia simpática latero vertebral; nos nervos esplâncnicos (gânglios pré-viscerais)	Perto dos órgãos efectores (gânglios terminais)
<u>Comprimento relativo dos axónios pré-ganglionares e pós-ganglionares</u>	Axónios pré-ganglionares curtos; Axónios pós-ganglionares longos.	Axónios pré-ganglionares longos; Axónios pós-ganglionares curtos.
<u>Relação numérica entre número de neurónios pós-ganglionares para cada neurónio pré-ganglionares.</u>	Muitos	Poucos

No entanto, é a fisiologia do Sistema Nervoso Autónomo que se distingue como peça importante para a compreensão da actuação da substância em destaque neste trabalho. Nesta fisiologia complexa, é importante destacar um componente essencial, os Neurotransmissores. Os Neurotransmissores são substâncias químicas capazes de gerar respostas.

As terminações nervosas do SNA Simpático e Parassimpático vão segregar os chamados neurotransmissores, podendo segregar acetilcolina ou noradrenalina. Quando uma terminação nervosa segrega acetilcolina, vai adquirir o nome de neurónio colinérgico, em contrapartida a segregação de noradrenalina atribuí a designação de neurónio adrenérgico. É importante destacar que quase todos os neurónios pré-ganglionares simpáticos e parassimpáticos e todos os neurónios pós-ganglionares do parassimpático são neurónios colinérgicos, segregando acetilcolina. Por outro lado, quase todos os neurónios pós-ganglionares do simpático são adrenérgicos, segregando noradrenalina. É obrigatório não esquecer que alguns neurónios pós-ganglionares simpáticos que inervam as glândulas sudoríparas, são colinérgicos.

Depois desta breve referência aos neurotransmissores envolvidos nestas reacções, deve-se destacar que estes neurotransmissores vão combinar-se com os receptores de membrana de algumas células, estabelecendo assim, uma resposta que pode tanto ser excitatória, como inibitória.³²

Aqui pode ser destacado o conceito de sinapse, conceito importante para a compreensão deste fenómeno de geração de respostas. Assim, na sinapse vai-se destacar três componentes essenciais, o terminal pré-sináptico (fim do axónio), a fenda sináptica (espaço entre os dois terminais) e o terminal pós-sináptico (membrana pós-sináptica). Desta forma, os potenciais de acção, capazes de gerar uma resposta, vão provocar a libertação das substâncias dos neurotransmissores, nos terminais pré-sinápticos. Segue-se uma difusão ao longo da fenda pós-sináptica, capaz de estimular ou inibir a membrana pós sináptica, ou seja os receptores.³³

No SNA, estes receptores apresentam diferentes denominações derivadas do neurotransmissor a que se combinam para gerar um sinal que permite às células a formulação de uma resposta, como já tinha sido referenciado.

Os receptores colinérgicos caracterizam-se por uma sinapse colinérgica, em que se liberta acetilcolina a partir do terminal pré-sináptico, combinando-se depois de passarem pela fenda sináptica com a membrana pós-sináptica. Por outro lado, quando os receptores respondem à noradrenalina, designam-se por receptores adrenérgicos, sendo esta libertada pelos neurónios pós-ganglionares adrenérgicos do SNA Simpático, difundindo-se na sinapse e ligando-se, posteriormente, a moléculas receptoras de membranas celulares dos órgãos efectores.³⁴

Falando agora, mais especificamente do mecanismo que liga todos os componentes necessários para a transmissão de um estímulo e que faz com que este se traduza numa resposta, é importante destacar determinados processos e conceitos.

É de relevo referir que existem receptores que apenas se ligam a um único neurotransmissor, mas outros que têm a capacidade de se ligarem a mais do que um.

Outro aspecto importante é a possibilidade que um neurotransmissor tem de ser responsável por diferentes resultados, visto que pode ligar-se a um receptor capaz de gerar uma despolarização na sinapse ou a outro tipo de receptor capaz de provocar uma hiperpolarização em outra sinapse, podendo assim a resposta se caracterizar por inibitória ou excitatória. Assim, a combinação dos neurotransmissores com os receptores anteriormente falados, vai traduzir-se numa despolarização da membrana ou numa hiperpolarização da membrana. Quando a despolarização acontece, a resposta vai ser excitatória, sendo a despolarização local designada por potencial excitatório pós-sináptico (PEPS). Os neurónios nas suas terminações pré-sinápticas libertam neurotransmissores que vão causar este PEPS, obtendo a designação de neurónios excitatórios. Para que este fenómeno (PEPS) aconteça, ocorre anteriormente um aumento de permeabilidade da membrana aos iões de sódio (Na^+). Assim, como o gradiente de concentração é elevado para os iões de Na^+ , a carga negativa no interior da célula vai atrair os iões de Na^+ positivamente carregados, estes vão-se difundir na célula provocando despolarização, que ao atingir um limiar vai produzir um potencial de acção, gerando a resposta.³⁵

Por outro lado, quando a combinação de um neurotransmissor resulta numa hiperpolarização da membrana pós-sináptica, a resposta produzida vai ser inibitória. Assim, os neurónios, nas suas terminações pré-sinápticas vão libertar neurotransmissores, que vão gerar um potencial inibitório pós-sináptico (PIPS), designando-se por neurónios inibitórios. Neste caso, vai existir um aumento da permeabilidade aos iões de Cloro ou Potássio. Desta forma, quando aumenta a permeabilidade, os iões Cloro (Cl^-) que estão mais concentrados no exterior da célula, vão-se deslocar para dentro da célula tornando-a mais negativa. Por outro lado, a concentração de iões Potássio (K^+) é maior no interior da célula, fazendo com que estes se desloquem para o exterior da célula, de forma a criar uma positividade relevante no exterior. Tudo isto vai contribuir para uma hiperpolarização da membrana, visto que o interior das células que a constituem vai estar carregado negativamente, gerando uma resposta inibitória.

O neurotransmissor, acetilcolina, que se caracteriza como um neurotransmissor de relevo para este estudo, pode levar a uma resposta inibitória ou excitatória, dependendo do receptor da membrana em questão.³⁶

1.2.4. Modo de acção da Toxina Botulínica.

A Toxina Botulínica tem grande influência sobre as células nervosas, tendo um efeito crítico sobre estas.

Ao entrar na corrente sanguínea, a Toxina Botulínica atinge os terminais nervosos, estabelecendo uma ligação com a membrana neuronal do terminal nervoso, ao nível da junção neuromuscular (**Ilustração 7**).

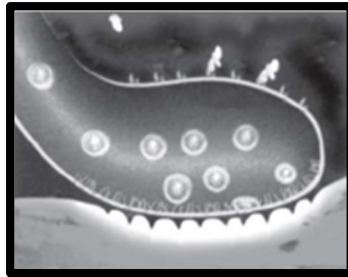


Ilustração 7 – Ligação ³⁷

Ao ocorrer esta ligação vai ser activado o deslocamento da toxina para o citoplasma do terminal do axónio, através de endocitose mediada por clatrina. Este processo vai ser responsável pelo bloqueio da transmissão sináptica excitatória, levando à paralisia flácida. (**Ilustração 8**)

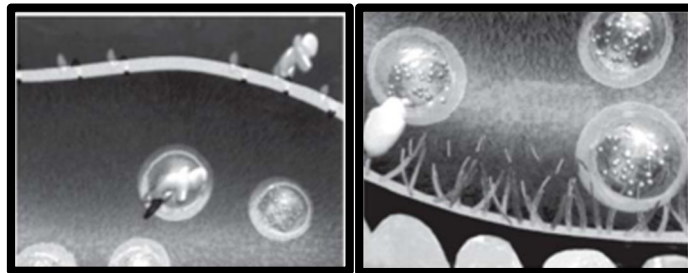


Ilustração 8 – Internalização da toxina por endocitose (imagem da esquerda) e bloqueio da libertação da acetilcolina (imagem da direita). ³⁸

A acção da toxina ocorre em três etapas importantes.

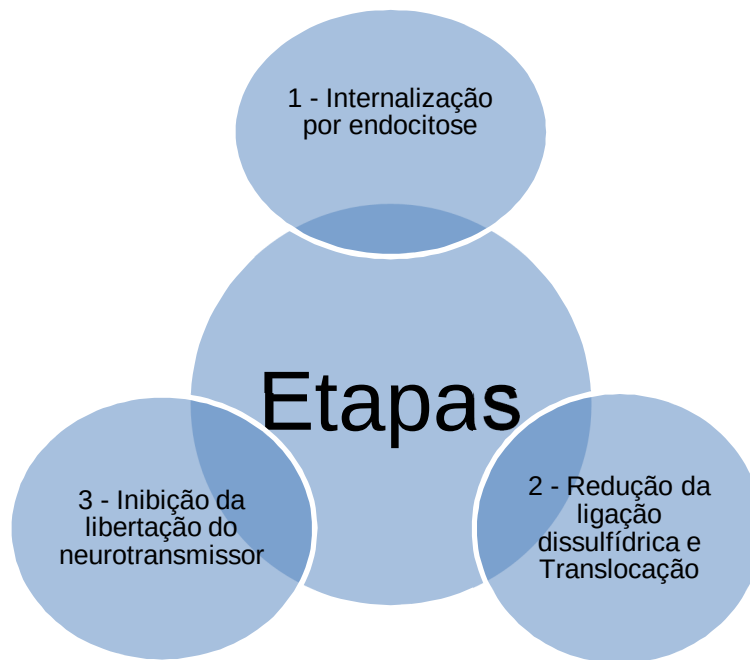


Ilustração 9 – Etapas da acção da Toxina Botulínica

É importante referir que é essencial que a toxina penetre o terminal do axónio, de forma a exercer o seu efeito, sendo que a ligação desta é selectiva. A especificidade colinérgica da toxina é determinada pela cadeia H (pesada), pelo terminal-C desta cadeia, enquanto que a toxicidade intracelular é atribuída à cadeia L (leve). A ligação dissulfídrica, por seu lado, tem a função crucial de iniciar todo este processo, visto que proporciona a penetração na célula e a sua clivagem, através do mecanismo de redução da ligação dissulfídrica. No entanto, é importante destacar que a ligação dissulfídrica se caracteriza como um condicionante de todo o processo referido. Quando a ligação dissulfídrica é quebrada, antes de ser internalizada na célula, a cadeia L (leve) não consegue penetrar a membrana do terminal do axónio, havendo uma perda total da toxicidade. Por outro lado, quando esta toxina entra em contacto com célula, sem ser sujeita a qualquer quebra da ligação, esta ligação dissulfídrica vai sofrer redução após entrada na célula, libertando a cadeia L no citoplasma celular.³⁹ Esta cadeia, uma vez no citoplasma, é responsável pela clivagem das proteínas de fusão (*VAMP*, *SNAP-25*, *syntaxin*), impedindo assim a libertação da acetilcolina para a fenda sináptica (**Ilustração 8**). Esse processo produz uma desnervação química funcional, reduzindo a contracção muscular de

forma selectiva.⁴⁰ A cadeia L da Toxina Botulínica não vai eliminar a síntese de acetilcolina, mas apenas inibir a sua libertação.

São várias as proteínas necessárias ao mecanismo de libertação da acetilcolina, sendo condicionadas pelo efeito de clivagem da toxina botulínica.

Assim, dependendo da toxina em questão, as proteínas de fusão afectadas podem não ser as mesmas. As Toxinas Botulínicas A, C e E actuam nas proteínas da membrana pré-sináptica, clivando a SNAP-25. A Toxina Botulínica C pode também clivar a *Syntaxin*. Por outro lado, as Toxinas Botulínicas B, D, F e G vão clivar a vesícula associada à membrana proteica (VAMP).⁴¹

Tabela 3 – Tipos de toxinas Botulínicas, receptores proteicos, seu uso clínico e sua descoberta.⁴²

<u>Ano da Descoberta</u>	<u>Investigador responsável pela Descoberta</u>	<u>Tipo de Toxina Botulínica</u>	<u>Receptor</u>	<u>Uso clínico</u>
1897	<i>Wrmengem</i>	<i>B</i>	VAMP	Aprovado pela FDA
1904	<i>Landman</i>	<i>A</i>	SNAP-25	Aprovada pela FDA
1922	<i>Bengston e Seldon</i>	<i>C</i>	Syntaxin	Não aprovada pela FDA
1929	<i>Robinson</i>	<i>D</i>	VAMP	Não aprovada pela FDA
1936	<i>Gunnison</i>	<i>E</i>	SNAP-25	Não aprovada pela FDA
1960	<i>Moller e scheibel</i>	<i>F</i>	VAMP	Não aprovada pela FDA
1970	<i>Gimenez e Cicarelli</i>	<i>G</i>	VAMP	Não aprovada pela FDA

A propagação do potencial de acção, a despolarização do nervo terminal e os canais de Na, K, e Ca não são afectados pela toxina. A despolarização induz a um fluxo de cálcio, momentaneamente há um aumento do cálcio intracelular que induz a um potencial. A toxina reduz esse potencial a um simples estímulo.⁴³

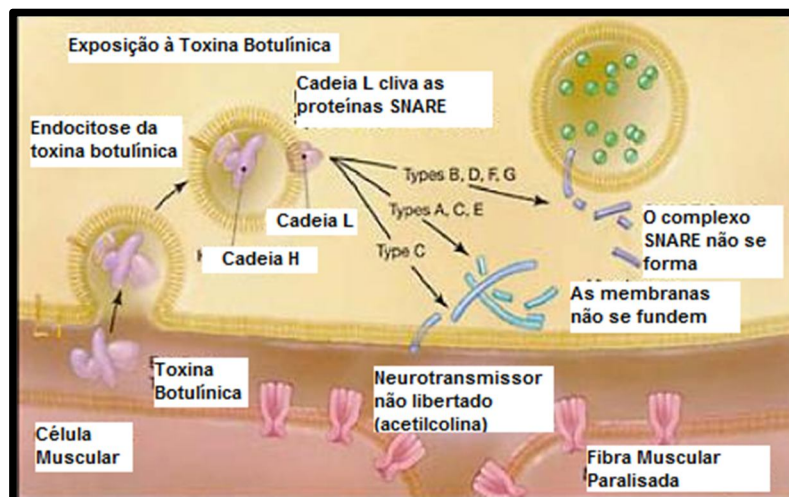


Ilustração 10 – Mecanismo de acção da Toxina Botulínica.⁴⁴

É de destacar que as junções neuromusculares do músculo estriado são muito sensíveis à Toxina Botulínica A, toxina mais utilizada. Também os gânglios colinérgicos autónomos são inibidos por este tipo de Toxina Botulínica, mas com um grau de sensibilidade bem mais reduzido.

Destacando agora, a acção da Toxina Botulínica no músculo e para uma melhor compreensão, é de referir e destacar a Espasticidade.

A Espasticidade é uma condição clínica que pode ser definida como uma resistência ao estiramento passivo de um músculo ou de um grupo muscular (hipertonia). A sua importância clínica, foca-se nas lesões em neurónios superiores, aspecto presente em acidentes vasculares, traumatismos cranianos, inflamações da medula. Resumindo, um músculo espástico é um músculo em hipertonia, um músculo em constante acção.

Como é do conhecimento geral, um estímulo gera um impulso nervoso, libertando acetilcolina, a qual leva à contracção muscular. Por vezes, existe uma libertação excessiva de acetilcolina, sendo esta libertação capaz de provocar uma actividade excessiva do músculo, a espasticidade.

A Toxina Botulínica A vai ter um papel crucial na inibição desta acção. Esta neurotoxina vai actuar sobre o terminal do nervo motor (nervo periférico colinérgico) inibindo a libertação de acetilcolina. Além disso, também é capaz de inibir a libertação de neurotransmissores pré e pós-ganglionares do terminal do nervo colinérgico do Sistema Nervoso Autónomo.⁴⁵

A Toxina Botulínica A vai funcionar como um inibidor da endoprotease, que actua na junção neuromuscular.

Este processo inibidor da libertação de acetilcolina acontece através da acção das metaloendoproteases, capazes de desactivar componentes cruciais do mecanismo de neuroexocitose. Assim, esta toxina vai clivar algumas das proteínas de fusão (SNAP-25) fundamentais para a actuação da acetilcolina, tal como tinha sido referido anteriormente.⁴⁶

Esta neurotoxina vai originar uma desnervação química reversível gerando uma degeneração axonal distal e uma acção prolongada, porém, transitória sobre o funcionamento da placa motora.⁴⁷ Assim, vai ocorrer uma redução da actividade muscular tônica, levando a um aumento de motricidade activa e passiva, permitindo um alongamento mais eficaz dos músculos. Os objectivos do uso deste tratamento para a Espasticidade, estão referidos abaixo.

Tabela 4 - Objectivos a atingir no tratamento da Espasticidade⁴⁸

Objectivos a atingir no tratamento da Espasticidade através da administração da Toxina Botulínica A
Reduzir as deformidades e contracturas
Excluir a cirurgia no caso de paralisia cerebral
Facilitar a fisioterapia e terapêutica ocupacional
Aliviar a dor
Minimizar os efeitos a nível cosmético
Optimizar o tratamento de enfermagem

A recuperação da função deste músculo acontece depois de algumas semanas ou mesmo meses, devido à rápida formação de junções neuromusculares. Desta forma, esta toxina vai provocar uma inatividade do músculo por alguns meses. No entanto, a recuperação vai acontecer, através de uma formação amplificada de novas junções neuromusculares. Posteriormente, o músculo acaba por desenvolver novos receptores para a acetilcolina e a debilidade anteriormente instalada, acaba por se reverter, caracterizando-se por uma desnervação química temporária. É importante referir que esta neurotoxina não atinge o Sistema Nervoso Central, pois em condições normais não ultrapassa a barreira hemato-encefálica.

Existem também evidências de que a desnervação química induzida pela toxina estimula o crescimento de brotamentos axonais laterais. Através destes brotamentos nervosos, o tônus muscular é parcialmente restaurado. Com o tempo há o restabelecimento das proteínas de fusão e a evolução dos brotamentos, (**Ilustração 11**) de modo a que ocorra a recuperação junção neuromuscular.⁴⁹

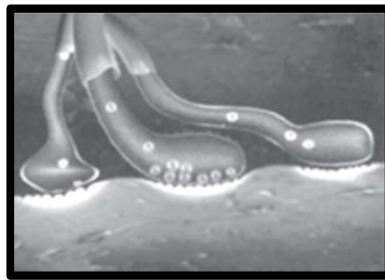


Ilustração 11 - Rebrotamento e Restabelecimento da junção neuromuscular⁵⁰

1.2.5. Absorção e Difusão da Toxina Botulínica.

De forma a avaliar aspectos ligados à farmacocinética do TBX-A, vários estudos foram conduzidos em diversos animais. Supõe-se que exista uma pequena distribuição sistémica do produto após o uso de doses terapêuticas.

Estudos *in vitro* realizados em ratos indicam que a Toxina Botulínica tem alta afinidade para ligação aos terminais colinérgicos da membrana pré sináptica.⁵¹ No entanto, estudos clássicos a respeito da absorção, distribuição, biotransformação e eliminação não foram realizados devido à natureza do produto. Por outro lado, estudos realizados numa amostra de ratos mostram uma difusão lenta no músculo injectado, seguida de uma rápida metabolização sistémica e excreção urinária.⁵²

É importante referir que no músculo, a quantidade de substância marcada, reduz-se até aproximadamente metade, em cerca de 10 horas.⁵³ Nas 24 horas pós-injecção, 60% da substância marcada é excretada pela urina. A toxina vai metabolizar-se através da protease e os componentes moleculares transformam-se através dos circuitos metabólicos normais. Acredita-se que a distribuição sistémica das doses terapêuticas de TBX-A seja muito pequena.

Estudos demonstram que existem alterações das fibras musculares nas regiões bloqueadas, mostrando um raio de acção da toxina a partir do ponto de injecção em média de 3 cm, variando entre 2 a 4 cm.

É importante referir que a diluição também pode influenciar a difusão, sendo que o raio de difusão aumenta com a diluição.⁵⁴ Destaca-se que a estratégia ideal para difusão desta toxina será aplicar um volume reduzido em músculos de menor dimensão e em contrapartida, volumes maiores para grupos de músculos mais extensos, como por exemplo o músculo frontal.

É de realçar também o facto da seringa a utilizar, ser um critério importante no aproveitamento do líquido, sendo que volumes reduzidos devem ser aproveitados sem qualquer desperdício, usando uma seringa adequada.⁵⁵

1.2.6. Produtos comercializados – Toxina Botulínica.

Existem 3 produtos de relevo de preparação de Toxina Botulínica, que são comercializados para aplicação na Medicina. A Toxina Botulínica A é comercializada, maioritariamente em duas marcas diferentes: BOTOX® e Dysport®. O BOTOX® é comercializado mundialmente, sendo por isso o mais utilizado, o Dysport®, por outro lado é comercializado apenas na União Europeia e no continente Asiático.



Ilustração 12 – Produtos de Toxina Botulínica Tipo A: A – BOTOX®; B - Dysport®⁵⁶

A Toxina Botulínica B aparece no mercado com apenas uma marca, a MYOBLOC®. Este produto é comercializado unicamente nos EUA.

Destaca-se o facto das marcas BOTOX® e Dysport® serem vendidas em forma liofilizada, sendo que tal não acontece com a marca MYOBLOC®, a qual é comercializada em solução aquosa.⁵⁷

No entanto, apesar de serem destacados estes produtos, existem mais dois produtos de Toxina Botulínica A comercializados, o Xeomin® e o Azzalure®.



Ilustração 13 - Toxina Botulínica B – MYOBLOC®⁵⁸

1.2.7. Outros aspectos relevantes da aplicação da Toxina Botulínica.

O *Clostridium Botulinum*, como já foi referido, dá origem a 7 serótipos de toxinas diferentes, sendo que a Toxina Botulínica A é a destacada, nomeadamente para fins estéticos. A Toxina Botulínica A é um método extremamente eficaz no tratamento das designadas rugas hipercinéticas, recorrendo-se a esta, para o tratamento de grandes áreas relativas à parte superior da face.

A aplicação da Toxina Botulínica tem vantagens cruciais, no que diz respeito ao tempo de recuperação, sendo este reduzido e contribuidor de uma reduzida morbilidade, permitindo aos pacientes uma recuperação rápida e pouco limitativa das suas actividades.⁵⁹

Antes de ser focado o assunto referente às normas específicas de utilização da Toxina Botulínica, é importante referir que a existência de diferentes marcas de Toxina Botulínica A no mercado exige diferente aplicação, no que refere à dose a aplicar.

Quanto à constituição do BOTOX®, cada dose contém os componentes referidos no quadro abaixo.

Tabela 5 – Composição do BOTOX®⁶⁰

BOTOX® (Toxina Botulínica A, Allergan, Irvine, CA)	Quantidades
Toxina Botulínica A	100 U
Albumina Humana	0,5 mg
Cloreto de Sódio	0,9 mg

O BOTOX® é conservado a pelo menos 4°C negativos, sendo sujeito a reconstituição com soro fisiológico. O mesmo acontece com a marca Dysport®.

Por outro lado, o MYOBLOC® (TBX-B) não necessita de reconstituição, visto que já se encontra em solução.⁶¹

O BOTOX®, devido à sua estrutura formada por um complexo cristalino da proteína de alto peso molecular da toxina e por uma hemaglutinina, é facilmente desnaturado, através de agitação da solução, de tal forma que deve ser manuseado cuidadosamente, mantendo a sua potência. Depois de ser reconstituído através da adição de soro fisiológico, o material deve ser usado dentro de 4 horas, sendo que estudos indicam que a sua potência se mantém em estado refrigerado até 4 semanas, depois da reconstituição. No entanto, é importante destacar que ocorre uma redução significativa da sua potência, a partir do início da 1ª semana após aplicação, tendo um estudo comprovado uma perda de 50 % de potência da Toxina Botulínica uma semana após reconstituição.⁶²

O MYOBLOC®, devido ao seu estado aquoso, apresenta um tempo de conservação bem mais extenso, podendo prolongar-se até 36 meses se refrigerado (de 2°C a 8°C) e até 9 meses sem refrigeração.⁶³

Quanto à quantificação da Toxina Botulínica, esta é quantificada em unidades de actividade biológica (U), sendo que cada unidade é definida como a dose que se manifestou letal para 50% da amostra de animais testados, depois de uma injeção intraperitoneal (DL50).

Relacionando a eficácia de cada preparação diferente, é importante destacar que o BOTOX® é 3 a 4 vezes mais potente do que o Dysport®, sendo que a quantidade de Dysport® deve ser 3 ou 4 vezes superior à quantidade de BOTOX®, de forma a atingir os mesmos efeitos clínicos. Em relação ao MYOBLOC®, cada dose aplicada deve ser 50 a 100 vezes superior à dose BOTOX®, com o objectivo de atingir os mesmos efeitos clínicos. De forma a compensar esta diferença, cada fabricante produziu frascos que contêm diferentes quantidades.

Tabela 6 – Dose unitária de cada um dos 3 produtos comercializados⁶⁴

Produtos	Dose unitária (por frasco)
BOTOX®	100 U
Dysport®	500 U
MYOBLOC®	5000 U

Focando-se na variação de volumes a aplicar, a eficácia e a tolerância mostram-se similares, não havendo qualquer estudo comparativo deste parâmetro.

Em relação à utilização de cada um destes produtos, é importante destacar, que a Toxina Botulínica B (MYOBLOC®) é menos utilizada. Normalmente, o MYOBLOC® é utilizado para o tratamento em pacientes com blefaroespasma e espasmo hemifacial, que não tenham uma resposta positiva ao uso da Toxina Botulínica A. Esta manifestação deve-se normalmente, a uma utilização prolongada desta toxina e a uma resposta neutralizadora de anticorpos em relação à mesma.⁶⁵

Os efeitos da aplicação podem ser sentidos entre o terceiro e o décimo dia após a aplicação e duram em torno de 6 semanas a 6 meses, ocasião em que o paciente poderá ser avaliado quanto à possibilidade de se recomendar uma nova aplicação em tempo devido. Também é relatada uma maior duração de efeito e aumento do tempo entre duas aplicações, em pacientes que utilizam a TBX-A por um tempo mais prolongado.⁶⁶

1.3. Aplicações da Toxina Botulínica - envolvimento muscular facial.

A Toxina Botulínica pode ser aplicada em diversos músculos relevantes, sendo de principal interesse o conhecimento Anatômico Humano. Na **Tabela 7, 8 e 9** apresentam-se os diversos músculos em que se procede à aplicação da Toxina Botulínica, tendo como foco a área da Dermatologia e da Medicina Estética. Assim, como estas áreas são alvo de um envolvimento muscular extremo, mostra-se necessário um conhecimento aprofundado dos mesmos, nomeadamente da zona facial. Esta zona é a principal área de aplicação desta toxina, tendo maioritariamente um sentido estético.

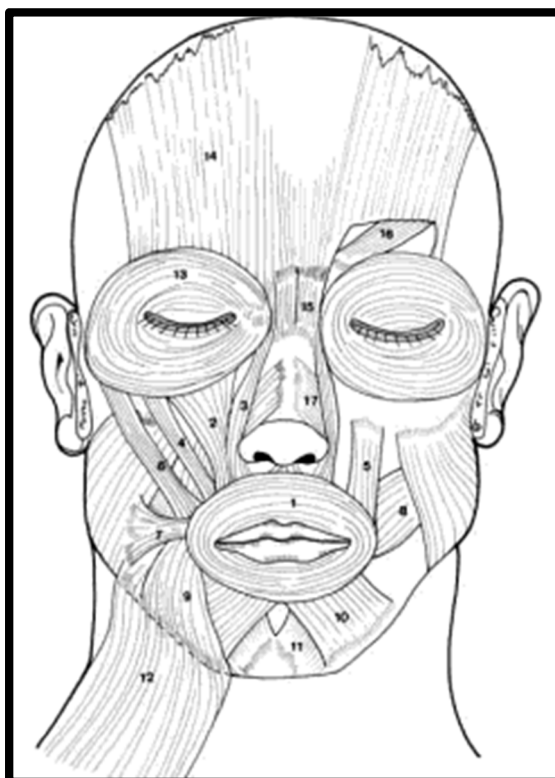


Ilustração 14 - Músculos de Expressão Facial. Os Músculos mais Profundos aparecem no lado esquerdo da Face:

(1) M. orbicular dos lábios; (2) M. levantador do lábio; (3) M. levantador do lábio superior e da asa do nariz; (4) M. zigomático menor; (5) M. levantador do ângulo da boca; (6) M. zigomático maior; (7) M. risório; (8) M. bucinador; (9) M. depressor do ângulo da boca; (10) M. depressor do lábio inferior; (11) M. mentoniano; (12) M. platisma; (13) M. orbicular do olho; (14) M. frontal; (15) M. prócero; (16) M. corrugador do supercílio; (17) M. nasal.⁶⁷

Tabela 7 - Músculos do Terço Superior da Face, sua Origem e Função.⁶⁸

<u>Zona da Face</u>	<u>Músculos de possível intervenção</u>	<u>Origem</u>	<u>Função</u>
Terço Superior da Face	Frontal	Formado por dois ventres frontais e dois occipitais; Os ventres occipitais têm origem na linha superior da nuca, ao nível do processo mastóide temporal. Os ventres frontais originam-se na gálea.	<u>Elevação das sobrancelhas durante a expressão de espanto</u>
	Prócero	Tem dois ventres que se originam na raiz do nariz	<u>Auxilia na depressão da porção medial das sobrancelhas. Colabora para a expressão de preocupação.</u>
	Depressor do Supercílio.	Tem origem na parte superior do dorso nasal, tendo inserção na parte interna da gálea.	<u>Auxilia na depressão das sobrancelhas, tal como o M. Prócero.</u>
	Corrugador do Supercílio.	Origina-se na porção lateral da raiz do nariz, bilateralmente	<u>Aproxima as sobrancelhas da linha média na expressão de preocupação e auxilia no fecho forçado dos olhos.</u>
	Orbicular do Olho	É um esfíncter fino que circula a órbita e tem três porções: a orbital, palpebral e lacrimal. A porção palpebral origina-se no ligamento palpebral mediano. A porção lacrimal encontra-se atrás do saco lacrimal, originando-se na crista do osso tarsal.	<u>Fecho dos olhos</u>
	Levantador da pálpebra superior	Origina-se na asa menor do osso esfenóide, acima do canal óptico. Dirige-se para a frente, acima do músculo recto superior.	<u>Elevação da pálpebra superior</u>

Tabela 8 - Músculos do Terço Central da Face, sua Origem e Função.⁶⁹

<u>Zona da Face</u>	<u>Músculo</u>	<u>Origem</u>	<u>Função</u>
Terço Central da Face	Zigomático maior.	Lábio superior, porção lateral do quadrante superior, entrelaçado com os músculos adjacentes, mediantemente ao ângulo da boca.	<u>Eleva o ângulo da boca para cima e para fora, como num sorriso, expressão de felicidade. É adjuvante da mastigação.</u>
	Zigomático menor	Lábio superior, porção média do quadrante superior, entrelaçado com os músculos adjacentes, entre a porção malar do elevador do lábio superior e o zigomático maior.	<u>Eleva o quadrante superior do lábio em conjunto com o elevador do lábio superior, mostrando os dentes mandibulares.</u>
	Levantador do Lábio Superior (porção malar)	Lábio superior, porção medial do quadrante superior, entrelaçado com os músculos adjacentes; porém mais lateral do que a porção nasal, mas ainda no quadrante superior.	<u>Eleva o quadrante superior do lábio na porção medial ao canino.</u>
	Levantador do Lábio Superior (porção nasal)	Lábio superior, porção medial do quadrante superior, entrelaçado com os músculos adjacentes.	<u>Eleva o quadrante superior do lábio na altura do canino.</u>
	Levantador do ângulo da boca	Ângulo da boca do lábio superior.	<u>Eleva o ângulo da boca e o lábio superior, junto com o zigomático maior; forma o sulco nasogeniano.</u>
	Depressor do septo nasal	Base do septo nasal	<u>Deprimir o septo nasal; a sua acção pode ser melhor observada durante o sorriso.</u>
	Nasal (porção transversa)	Na transição do osso nasal com a maxila.	<u>Movimento do nariz e auxiliar da porção alar que abre as narinas.</u>

Tabela 9 - Músculos do Terço Inferior da Face, sua Origem e Função.⁷⁰

<u>Zona da Face</u>	<u>Músculo</u>	<u>Origem</u>	<u>Função</u>
Terço inferior da Face e Queixo	Orbicular dos lábios	Várias capas de fibras musculares que rodeiam o orifício da boca, derivadas em parte do bucinador, depressor e elevador do ângulo da boca.	<u>Fecha e retrai os lábios.</u>
	Bucinator	Tem origem no processo alveolar da mandíbula e maxila. Localiza-se sob o masséter	<u>Mantém constante o formato da bochecha e está envolvido nas funções de assobio e sopro.</u>
	Risório	Ângulo da boca, como continuação da rima bucal	<u>Dirige o ângulo da boca para cima e para trás.</u>
	Depressor do ângulo da boca	Linha oblíqua do maxilar inferior na porção antero lateral.	<u>Deprime o ângulo da boca.</u>
	Depressor do lábio inferior	Borda do maxilar entre a porção central e a inserção do depressor do ângulo da boca.	<u>Inverte o lábio inferior.</u>
	Mentoniano	Porção centro lateral do maxilar.	<u>Retraí o mento, elevando as partes moles da borda do queixo; auxilia na depressão do lábio inferior.</u>
	Platisma	Abaixo da borda inferior da clavícula sobre a fáscia do peitoral maior e do deltóide anterior médio.	<u>Torna tensa a pele do pescoço enquanto auxilia a tracção da mandíbula e do lábio inferior para baixo, pelo ângulo da boca.</u>

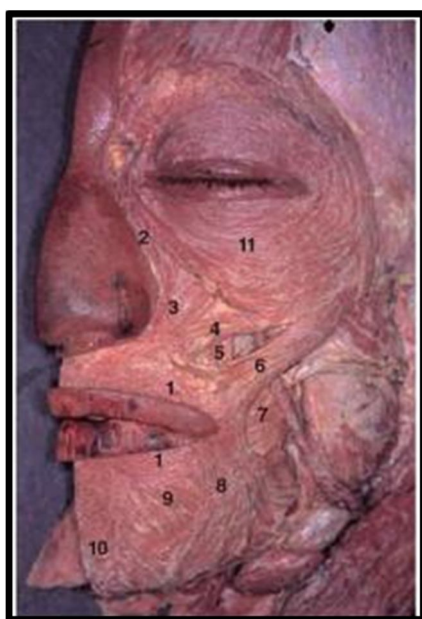


Ilustração 15 - Músculos Peribucais ⁷¹:

(1) M. Orbicular dos Lábios; (2) M. Levantador do lábio superior e da asa do nariz; (3) M. Levantador do lábio superior; (4) M. Zigomático menor; (5) M. Levantador do ângulo da boca; (6) M. Zigomático maior; (7) M. Bucinador; (8) M. Depressor do ângulo da boca; (9) M. Depressor do lábio inferior; (10) M. Mentoniano; (11) M. Orbicular do olho.

Estes são alguns dos músculos de importante conhecimento para a aplicação mais presente da Toxina Botulínica, a aplicação facial, sendo crucial o seu conhecimento. Este conhecimento permite-nos uma relação coerente com as rugas faciais que provocam, permitindo uma análise e aplicação de uma técnica coerente em cada indivíduo, nomeadamente na Medicina Estética.

Tabela 10 - Músculos da face e rugas associadas.⁷²

<u>Músculo</u>	<u>Rugas</u>
Frontal	Paralelas Horizontais sobre a testa
Prócero	Paralelas e Horizontais sobre a glabella
Corrugador do Supercílio	Oblíquas na região da glabella e quadrante superior interno da órbita. A sua acção sobre o músculo prócero resulta em linhas longitudinais na glabella.
Orbicular do olho	“Pés de Galinha”
Levantador da pálpebra superior	Não forma linhas de expressão (músculo funcional)
Zigomático maior	Colabora para o sulco nasogeniano, para as rugas em torno dos olhos e para a linha do sorriso.
Zigomático menor	Colabora para o sulco nasogeniano e para as rugas em torno dos olhos.
Levantador do lábio superior (porção malar)	Colabora para o sulco nasogeniano e para as rugas em torno dos olhos.
Levantador do lábio superior (porção nasal)	Colabora para as rugas da lateral do nariz, no canto interno dos olhos e para o início do sulco nasogeniano junto ao nariz.
Levantador do ângulo da boca	Colabora com a linha do sorriso.

Tabela 11 – Músculos da face e rugas associadas (continuação)⁷³

<u>Músculo</u>	<u>Rugas</u>
Depressor do septo nasal	Horizontal entre a borda do lábio superior e a base do septo nasal.
Nasal (porção transversa)	Colabora para as linhas sobre o nariz nas suas laterais e para as linhas da região infra ocular interna.
Orbicular dos lábios	Linhas em torno da boca.
Bucinator	Pode colaborar com as linhas em torno da boca (músculo funcional).
Risório	Linha do sorriso
Depressor do ângulo da boca	Colabora para o sulco abaixo do queixo.
Depressor do lábio inferior	Colabora para o sulco abaixo do queixo.
Mentoniano	Forma a linha em meia-lua no queixo.
Platisma	Forma as rugas horizontais no pescoço e as bandas do platisma.

Além destas aplicações, a Toxina Botulínica caracteriza-se como uma toxina com muitas utilidades não estéticas.

Tabela 12 – Aplicações terapêuticas da Toxina Botulínica (Aplicação não estética)⁷⁴

<u>Aplicações terapêuticas da Toxina Botulínica</u>	
Oftalmologia	Estrabismo, blefaroespasma, apraxias oculares, exotropia, entrópio e ptose protectora.
Urologia	Discinergia do esfíncter detrusor.
Otorrinolaringologia	Disfonias, distonias mandibulares, distonia da língua, distonia laríngea e bruxismo.
Ginecologia	Vaginismo
Ortopedia	Imobilização pós-operatória e alívio de contracturas.
Neurologia	Distonias cranianas, cervicais do tronco e dos membros, espasmo hemifacial, sincinesias faciais, tremores, síndrome <i>Gilles de la Tourette</i> , mioclonia, sintomatologia do tétano, dor e rigidez.
Gastroenterologia	Acalásia de esófago, fissura anal, anismo, disfunção do <i>esfíncter de Oddi</i> , bloqueio do plexo celíaco e pseudoacalásia.
Fisiatria e Reabilitação	Condições espásticas: paralisia cerebral, sequelas de acidentes vasculares cerebrais, traumatismos cranianos, doenças neurológicas que cursam com espasticidade, mialgias, fibromialgias.
Dermatologia e Cirurgia Plástica	Síndrome de <i>lágrimas de crocodilo</i> , sialorréia, mioclonia palatal, actividade paroxística da mandíbula, hipertrofia do masséter, síndrome de <i>Frey</i> , hiperidrose focal palmar, plantar e axial.

As aplicações da Toxina Botulínica são diversas abrangendo tanto a Medicina Estética, como a Medicina Terapêutica e levando a uma divergência importante nas técnicas e nomeadamente nas doses a aplicar.

1.4. O Botox na gravidez.

Foram realizados estudos de forma a determinar os efeitos da Toxina Botulínica na gravidez. Avaliando inicialmente, o efeito desta toxina na fertilidade, recorreu-se a um estudo realizado com recurso a uma amostra de ratos machos e fêmeas. Este estudo revelou que a dose indicada para os machos seria de 4 U/kg e para as fêmeas de 8 U/kg, sendo importante salientar que doses superiores a 16U/kg estão associadas a um ligeiro decréscimo da fertilidade. Houve ligeiras alterações do ciclo estrogénico em ratos (fêmeas) com doses de 16 U/kg, sendo este um facto importante de referir.⁷⁵

Da mesma forma, realizaram-se estudos para determinar a ligação da toxina botulínica aos defeitos de formação do tubo neural, uma das malformações congénitas mais prevalentes em fetos. Assim, de forma a determinar os efeitos da Toxina Botulínica no desenvolvimento desta malformação, recorreu-se a uma amostra de embriões precoces de galinhas. Desta forma, utilizou-se uma amostra de ovos, à temperatura de 37,5°C, até os embriões atingirem o 8º estado de desenvolvimento. No entanto, não se verificou qualquer influência da Toxina Botulínica no desenvolvimento do tubo neural.⁷⁶

Para além desta investigação, outro projecto científico gestacional de relevo, inicia-se com a injeção intramuscular com Toxina Botulínica A em cobaias (ratos) gestantes, durante o período da organogénese, sendo que a dosagem máxima de segurança (dose em que não se registam efeitos clínicos) foi definida como 4U/kg. Por outro lado, as doses superiores utilizadas (8 ou 16 U/kg) estão associadas a reduções de peso fetal e deficiência na ossificação, podendo este aspecto ser reversível.

Outro estudo de relevo tem como amostra um grupo de coelhas grávidas, que receberam doses diárias de Toxina Botulínica A de 0,125U/kg, do 8º ao 18º dia de gestação e doses de 2U/kg, do 6º ao 13º dia de gestação, tendo esta experiência resultado numa grave toxicidade materna, morte e abortamento.⁷⁷ Assim, é demonstrado que as doses máximas de segurança vão depender de vários factores, como a espécie e as características inerentes à mesma, sendo possível através deste estudo associar uma sensibilidade superior dos coelhos em relação a esta toxina.

Todos estes estudos, anteriormente descritos, são limitativos, mas sugerem um aspecto de relevo, o facto da Toxina Botulínica A não atravessar a placenta. Isto é posteriormente comprovado, pelo recurso a um estudo em que foi avaliada a concentração inicial de Toxina Botulínica A em diferentes fluídos corporais, antes da administração de uma elevada dose desta toxina em coelhas grávidas. Após administração e consecutiva análise, não se detectou qualquer nível de Toxina Botulínica A na placenta dos mesmos.⁷⁸

Este agregado de estudos relativos à Toxina Botulínica A, ganham sentido através de uma “aplicação” humana dos mesmos. Seguindo este “caminho”, torna-se necessário recorrer a casos reais e a uma avaliação cuidada de cada caso. Serve de exemplo dois casos, em que duas mulheres grávidas com Botulismo têm uma gravidez com desenvolvimento fetal normal. Nestes dois casos, a única anomalia detectada está associada ao culminar da gravidez com um nascimento prematuro, sendo que não foi detectado qualquer vestígio de Toxina Botulínica A no feto (sérum). Estes resultados destacam-se como mais um elemento representativo da inexistência de ligação entre a exposição à Toxina Botulínica A e o perigo de vida do feto.⁷⁹ É neste conjunto de estudos que a teoria anteriormente divulgada ganha consistência, concluindo-se que não há passagem desta toxina para a placenta.

No entanto, não é recomendada a aplicação de preparações de Toxina Botulínica em mulheres grávidas, visto que a informação e pesquisa sobre esta área é limitada, não se sabendo se esta toxina tem influência sobre o leite materno.⁸⁰ Desta forma, é crucial ter em conta que o uso desta toxina deve ser controlado e evitado numa situação sensível, como é o estado de gravidez.

2. Desenvolvimento

2.1. Métodos de Aplicação da Toxina Botulínica na Estética.

A Toxina Botulínica existe essencialmente, como meio de aplicação em dois tipos, tipo A e tipo B, sendo que estas duas formas necessitam de diferentes doses de aplicação e um conhecimento anatómico aprofundado da zona a aplicar.

A Toxina Botulínica A é usada há mais de duas décadas, tendo uma diversidade imensa de aplicações. Como já foi referido, esta Toxina encontra-se disponível em duas formas, BOTOX® (*Allergan Inc., Irvine, CA*) e Dysport® (*Ipsen Limited, Berkshire, England*)", encontrando-se ambas na sua forma liofilizada e sujeitando-se a uma reconstituição com soro fisiológico antes de serem utilizadas.

A Toxina Botulínica B, por seu lado, está disponível na marca MYOBLOC® (*Ellan pharmaceuticals, San Diego, CA*). No entanto, a Toxina Botulínica mais usada é a Toxina Botulínica A, dando neste trabalho especial relevo ao BOTOX®.

2.1.1. Indicações, Contra-indicações, Qualificações de aplicação e Recomendações na aplicação estética da Toxina Botulínica A (BOTOX®).

O uso da Toxina Botulínica A apresenta determinadas especificações de acordo com os tratamentos a aplicar.

As "guidelines" devem incluir informações sobre o músculo objecto de aplicação, o local da injeção, as doses adequadas consoante o sexo e local a aplicar, a resposta prevista após aplicação e os períodos de intervalo, provavelmente necessários entre os tratamentos. Além disso, as "guidelines" devem apresentar igualmente, as possíveis complicações derivadas do tratamento.

A análise deste ponto vai permitir a redução da probabilidade de complicações e por consequência o aumento da eficácia.

No caso da Toxina Botulínica A, representada pela marca BOTOX®, existem vários aspectos essenciais que contribuem para a eficácia das aplicações, destacando a referência às indicações do produto, contra-indicações, qualificações de aplicação do produto e recomendações.⁸¹

Tabela 13 – Indicações Estéticas e Contra-Indicações no uso da Toxina Botulínica A. (BOTOX®)⁸²

<u>Indicações Estéticas</u>	<u>Contra-Indicações</u>
Rugas causadas pela persistente contração muscular (linhas horizontais da testa, linhas do complexo glabellar, “pés de galinha”, “bunny lines” (linhas de coelho), rugas peribucais, bandas do platisma) – (Rugas hipercinéticas)	- Uso em pacientes com doenças no Sistema Nervoso Periférico ou com desordens neuromusculares; - Co-administração de antibióticos que contêm aminoglicosídeos ou outros agentes que interferem na transmissão neuromuscular; - Uso no tratamento de pacientes com processos inflamatórios presentes na pele e no local em que é realizada a aplicação; - Gravidez e Amamentação.

Tabela 14 – Qualificações de aplicação e Recomendações no uso da Toxina Botulínica A (BOTOX®)⁸³

<u>Qualificações de aplicação</u>	<u>Recomendações</u>
Médico dermatologista, qualificado, com experiência nas aplicações (formações na área (Pós-Graduação) e treino).	- O Médico inexperiente deve iniciar as aplicações no terço superior da face, podendo evoluir para outras zonas mais tarde e após experiência mais vasta; - Quanto ao paciente, este deve ter expectativas realistas sobre os resultados.

É importante tentar cumprir as expectativas do paciente, sendo fundamental seguir determinados pontos cruciais, através de um método que conduza e contribua para um resultado final positivo. Deve-se assim:

- definir os objectivos estéticos com os pacientes;
- desenvolver um plano do tratamento;
- estabelecer expectativas realistas aos pacientes;
- informar os pacientes sobre os efeitos adversos da aplicação do produto, sobre a história do uso seguro deste produto, sobre a baixa probabilidade de ocorrência de efeitos secundários, destacando o facto de que grande parte das reacções adversas são curtas e transitórias;
- avaliar a história clínica do paciente;
- reduzir o risco de interacção medicamentosa, recomendando aos pacientes que evitem medicação que iniba a coagulação, como a Vitamina E, Aspirina e drogas anti-inflamatórias não esteróides, durante 10 a 14 dias antes do tratamento;
- avisar os pacientes que não devem massajar a área da aplicação, depois do tratamento;
- aconselhar os pacientes a contrair o local da aplicação após injeção (entre os primeiros 90 a 120 minutos após injeção), ajudando à actuação da toxina.

Desta forma, na aplicação estética o paciente deve ter em atenção todas as indicações do médico, que lhe informará das precauções a tomar antes do tratamento.

Tabela 15 - Procedimentos a seguir como preparação para o tratamento com Toxina Botulínica A.⁸⁴

Procedimentos a seguir como preparação para o tratamento com Toxina Botulínica
Evitar álcool nas 48 horas anteriores ao tratamento
Evitar medicamentos que contenham aspirina, 1 a 2 semanas antes do tratamento
Não poderá realizar o tratamento no caso de: • Doença neurológica; • Uso de antibióticos com aminoglicosídeos; • Alergia à Albumina Humana; • Gravidez.

2.1.2. Variáveis condicionantes do tratamento estético.

É de referir que se deve dar grande relevo às variáveis com capacidade de influenciar o tratamento a desenvolver, sendo que estas devem ser bem avaliadas antes de iniciar o tratamento.

Tabela 16 - Factores que influenciam o plano de tratamento⁸⁵

Factores (variáveis) que influenciam o plano de tratamento	
<u>Objectivos iniciais</u>	Influenciam a criação do plano de tratamento.
<u>Região da aplicação</u>	Influencia a dose, local de aplicação e o intervalo de tempo entre as aplicações.
<u>Género</u>	Doses mais elevadas nos homens (usualmente).
<u>Etnia</u>	Baseia-se nos ideais estéticos, na anatomia funcional e espessura da pele de cada etnia, influenciando o plano de tratamento.
<u>Espessura da pele</u>	Doses mais elevadas para pele mais espessa.
<u>Variação anatómica</u>	Condiciona os locais de aplicação e a dose a aplicar.

2.1.3. Reconstituição e manuseamento da Toxina Botulínica A (BOTOX®).

Na reconstituição e manuseamento da Toxina Botulínica A (BOTOX®) devem ser considerados determinados parâmetros, tais como:

- injectar a Toxina Botulínica A reconstituída com soro fisiológico;
- evitar agitar durante o processo da reconstituição, apesar de muitos estudos declararem que este procedimento não tem qualquer influência;
- é sugerido teoricamente, o uso do BOTOX® até 4 horas depois do processo da reconstituição, no entanto a prática clínica não acompanha este parecer, afirmando que a potência desta toxina se mantém de 4 a 6 semanas depois da reconstituição.^{86,87}

2.1.4. Material.

Para a aplicação desta toxina são necessários alguns equipamentos básicos e indispensáveis à realização desta técnica.

Tabela 17 – Equipamento necessário na Aplicação da Toxina Botulínica A.⁸⁸

Equipamento necessário na Aplicação da Toxina Botulínica A
Seringa com 3-cc com agulha de calibre 25 para realização da reconstituição
Toalhetes com álcool
Gaze
Agulha de calibre 30-32 para a aplicação
Seringa igual à utilizada para o teste da insulina (esta seringa é utilizada devido às aplicações reduzidas a realizar, de 0,5 ml ou 1ml de cada vez).
Gelo para servir de anestesia



Ilustração 16 - Equipamento necessário para a aplicação da Toxina Botulínica A- BOTOX®.

(1)Frasco de Toxina Botulínica A (BOTOX®); (2)Toalhetes de álcool; (3)Agulhas de calibre 30 para a aplicação; (4)Frasco de soro fisiológico; (5)Seringa 3cc com agulha de calibre 25, para reconstituição do BOTOX®; (6)Seringas utilizadas para o teste da insulina; (7)Gaze.⁸⁹

2.1.5. Protocolo geral (parâmetros essenciais em todas as aplicações a realizar).

O Protocolo geral utilizado na aplicação da Toxina Botulínica é fundamentado por passos importantes que não devem ser omitidos. Assim, é de destacar alguns princípios fundamentais:

- deve-se seguir todos os procedimentos de esterilização e preparação da pele para posterior aplicação;
- acomodar o paciente, fazendo com que a cabeça do paciente fique abaixo do nível do aplicador;
- usar seringas de plástico descartáveis, com agulhas de calibre 30-32;
- a anestesia local é geralmente reservada para os mais sensíveis, podendo ser usado só gelo;
- a fotografia é um meio importante de comparação do antes e depois;⁹⁰
- a EMG (Electromiografia) é por vezes usada de forma a auxiliar o médico, visto que indica a posição da agulha durante a aplicação. No entanto, não permite a determinação do músculo em que se encontra a agulha (não é usado no tratamento da hiperidrose);⁹¹

- deve usar-se seringas com 1ml (seringas usadas no teste da insulina), com marcas que permitam uma fácil visualização dos volumes injectados (seringas *Luer-Lok* são muito usadas);⁹²
- não é necessário a aplicação de anestesia geral;
- a área objecto de tratamento deve ser limpa com álcool, sendo que o álcool deverá ter secado na totalidade antes do início do tratamento, de forma a prevenir a desnaturação da proteína;
- o gelo pode ser usado como anestesia antes do tratamento, mas poderá causar dores de cabeça que podem ser constantes e muito incómodas para o paciente.⁹³

As aplicações da Toxina Botulínica são diversas na área da Medicina Estética, seguindo cada uma destas aplicações um protocolo que deve ser seguido. Os procedimentos a destacar são as aplicações no Complexo glabellar e nas linhas de expressão verticais (“vertical frown lines”), linhas horizontais da testa, “pés de galinha”, linhas de coelho (“bunny lines”), rugos da zona peribucal (“perioral wrinkle lines”), bandas do platisma (“platysmal bands”), zona do mentoniano, tendo cada um destes aspectos que os distinguem uns dos outros.

Este protocolo geral também pode ser utilizado em aplicações com objectivo meramente terapêutico destacadas anteriormente.

2.1.6. Locais de Aplicação e Tratamento com Toxina Botulínica A (BOTOX®).

Os locais de aplicação desta toxina são vários, tendo características próprias e doses características, como é visível na tabela que se segue. As doses variam com o produto a aplicar, sendo importante referir que os valores relatados são referentes à Toxina Botulínica A, mais especificamente ao BOTOX®.

Tabela 18 - Músculos adjacentes ao tratamento facial, pontos de aplicação e doses aplicadas (BOTOX®)⁹⁴

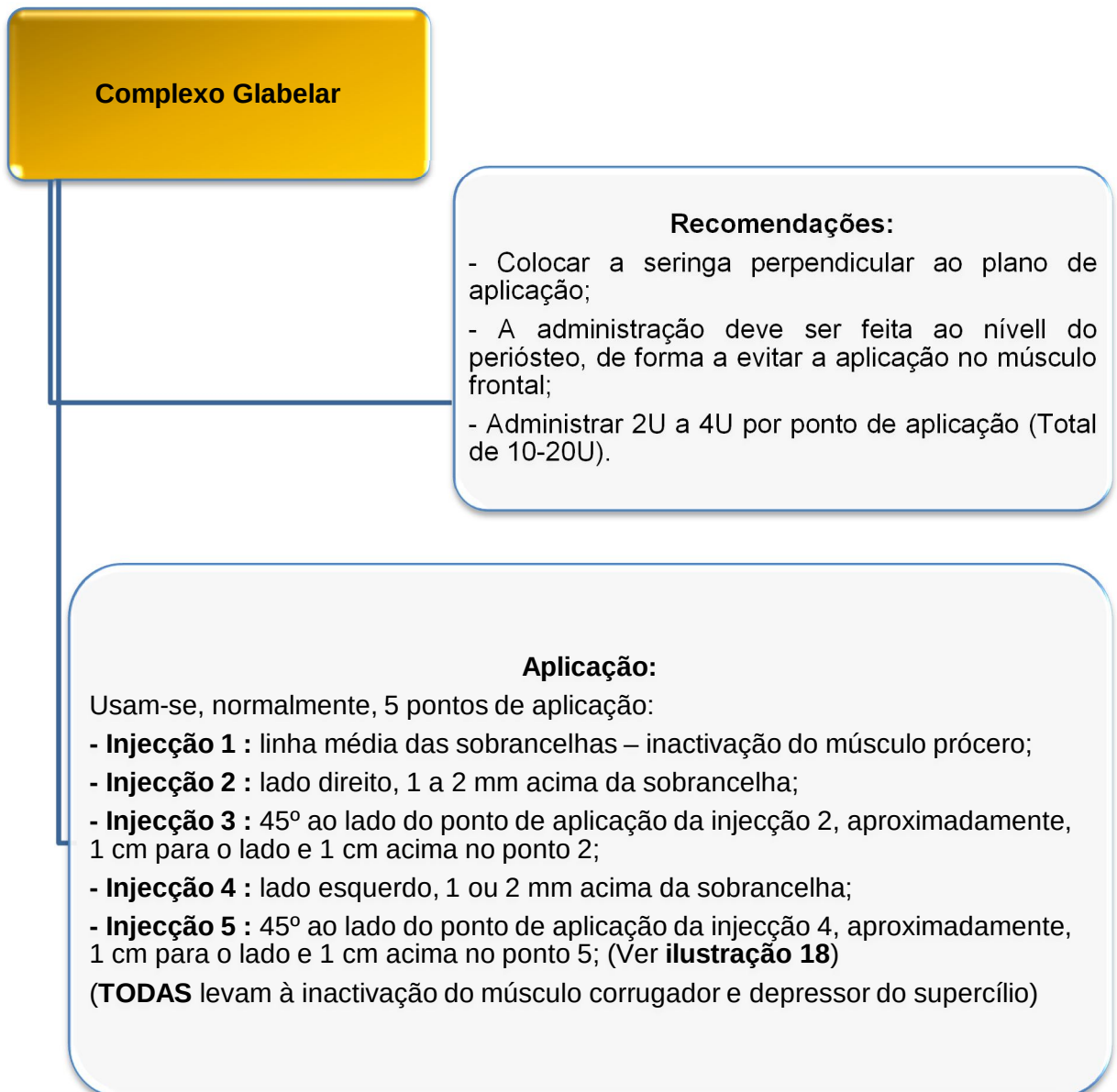
<u>Área de Tratamento</u>	<u>Músculos abrangidos</u>	<u>Pontos de aplicação</u>	<u>Dose inicial</u>
<u>Complexo glabellar e linhas verticais de expressão</u>	Corrugador do Supercílio; Próceros; Depressor do Supercílio; Orbicular do olho; Frontal.	3-7 pontos de aplicação (nos Homens são realizados mais pontos de aplicação).	Mulheres:12-30U Homens: 14-40U
<u>“Pés de galinha”</u>	Porção lateral do M. orbicular do olho	2-5 pontos de aplicação.	12-30U
<u>Linhas horizontais de expressão da testa</u>	Frontal	4-8 pontos de aplicação.	Mulher:10-20U Homem:12-24U
<u>Linhas de “coelho” (“Bunny lines”)</u>	Nasal	1 ponto de aplicação na linha média; 1 ponto de aplicação por cada lado.	1U, se necessário 2-5U, dividindo por cada lado a aplicar
<u>Rugas em torno da boca (Rugas Peribucais)</u>	Orbicular dos lábios	2-5 pontos de aplicação para iniciar; 1 ponto de aplicação/quadrante labial	4-10 U, dividindo pelos quadrantes a aplicar.
<u>Linha em meia-lua do queixo</u>	Mentoniano	1-2 pontos de aplicação	Mulher: 2-6 U Homem:2-8 U

Tabela 19 - Músculos adjacentes ao tratamento facial, pontos de aplicação e doses aplicadas (BOTOX®) – continuação.⁹⁵

<u>Área de tratamento</u>	<u>Músculos abrangidos</u>	<u>Pontos de aplicação</u>	<u>Dose inicial</u>
<u>Sorriso Gengival</u> <u>“Gummy Smile”</u>	Levantador do lábio superior (porção nasal)	1 ponto de aplicação/lado	2-4 U divididas pelos lados a aplicar
<u>Linhas de marioneta</u> <u>“Marionette Lines”</u>	Depressor do ângulo da boca	1 ponto de aplicação/lado	4-10 U divididas por cada lado a aplicar

Todas estas linhas e rugas presentes na face apresentam especificações de tratamento, que devem ser tomadas em conta, conforme cada caso e cada paciente.

2.1.7. Recomendações e aspectos ligados à técnica de aplicação de Toxina Botulínica A (BOTOX®) em algumas das zonas de tratamento:



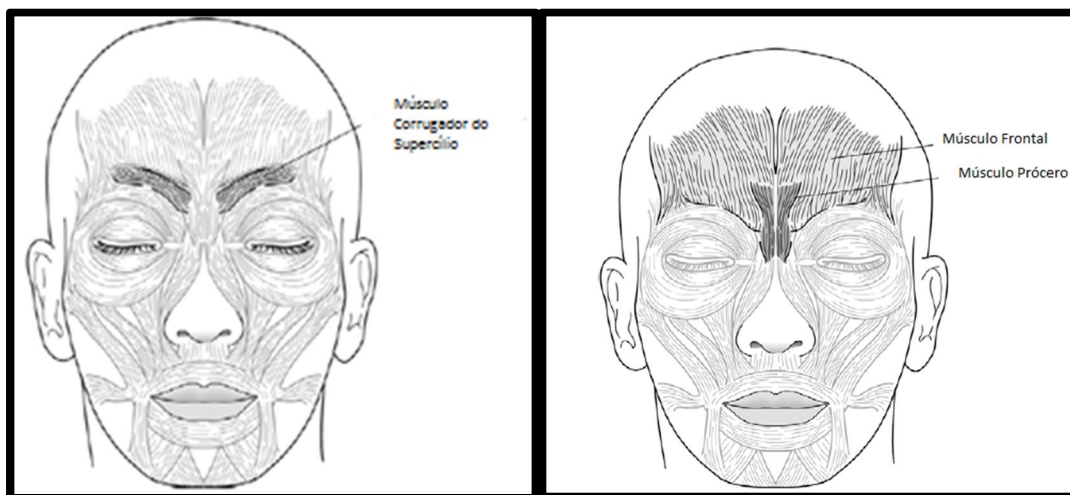


Ilustração 17- Músculos do Complexo Glabellar

(Músculo Corrugador do Supercílio à esquerda e Músculo Frontal e Prócero à direita).⁹⁶

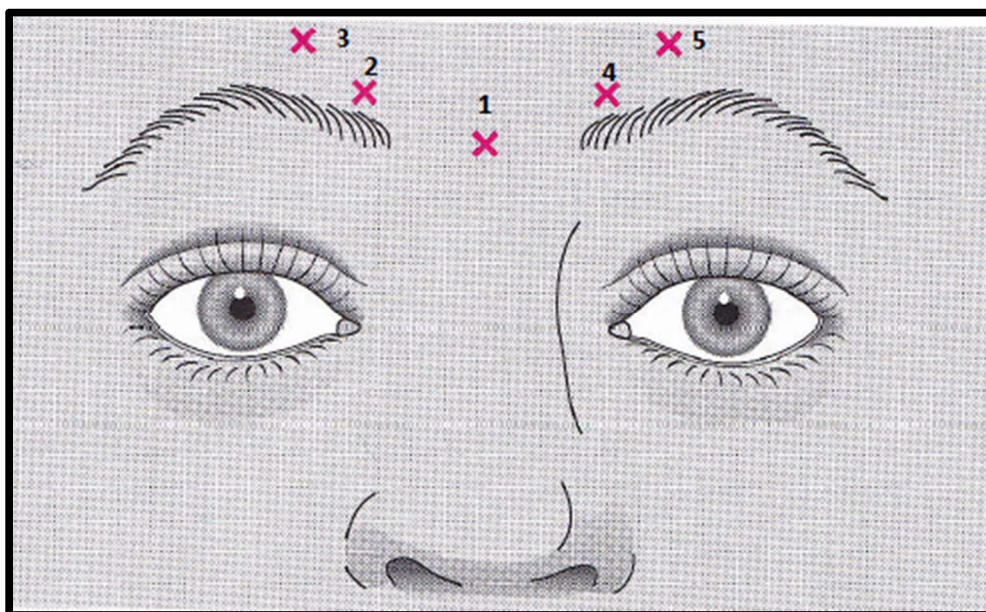


Ilustração 18 - Pontos de aplicação para o tratamento do Complexo glabellar.⁹⁷

É de referir a importância do conhecimento anatómico para aplicação do tratamento com Toxina Botulínica de forma adequada. Como é visível na **Ilustração 17**, os músculos envolventes neste complexo responsáveis pelas rugas do complexo glabellar vão ser os músculos referidos. O Músculo Corrugador do Supercílio vai contribuir para a formação das linhas oblíquas na região da glabella e quadrante superior interno da órbita, sendo que a acção que exerce sobre o Prócero leva à formação das linhas longitudinais da glabella. Assim, aplica-se a Toxina nos pontos indicados, de forma a proporcionar um tratamento adequado, que permita a obtenção dos resultados figurados na **Ilustração 19**.



Ilustração 19 - Comparação entre o aspecto do Complexo Glabellar antes do tratamento (A) e um mês depois da aplicação da Toxina Botulínica A (B).⁹⁸

Região Periorbital "Pés de galinha"

Recomendações:

- O ângulo da seringa será de mais ou menos 45° directamente na superfície;
- Não é necessário usar o periósteo como referência;
- Deve-se realizar uma massagem que permita consistência e uniformidade de resultados.

Aplicação:

- Normalmente, usam-se 3 pontos de aplicação na zona dos "Pés de galinha", distando 1 cm entre eles (**Ilustração 20(A)**);
- Para pacientes com rugas infraorbitais proeminentes, também pode ser aplicado este procedimento em 2 pontos de aplicação. (**Ilustração 20(B)**).

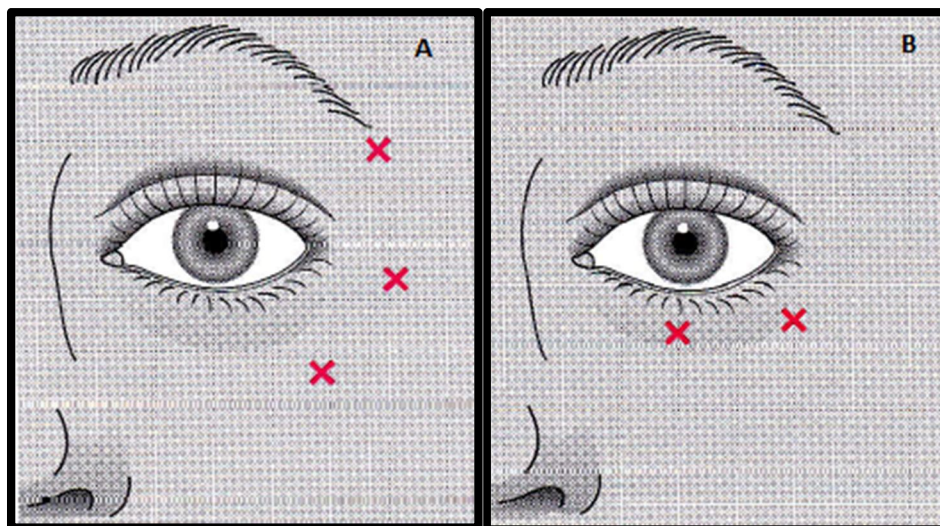


Ilustração 20 – Tratamento dos pés de galinha.⁹⁹

(A) Os 3 pontos de aplicação no tratamento dos "pés de galinha"; (B) Aplicação suplementar para pacientes com rugas infra orbitais proeminentes, utilizando-se 2 pontos de aplicação ¹⁰⁰

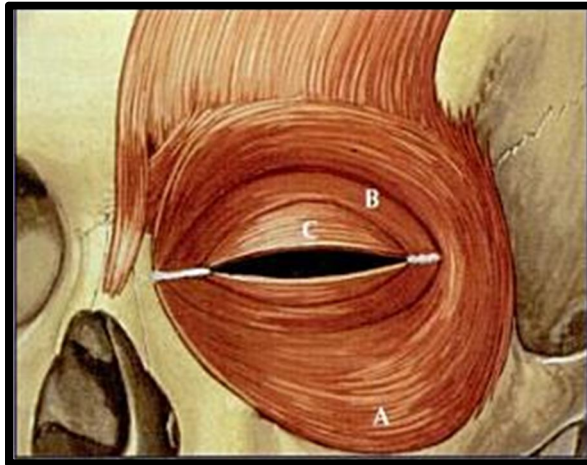


Ilustração 21 - Músculo Orbicular do olho divide-se em três partes:

(A) - porção pré orbital; (B) - porção pré septal; (C) - porção pré tarsal.¹⁰¹



Ilustração 22 - A Contracção da porção lateral do músculo orbicular do olho leva à formação dos “Pés de Galinha”, como é visível na imagem.¹⁰²

No tratamento dos “ Pés de Galinha” o principal músculo envolvido é, sem dúvida, o músculo orbicular do olho (**Ilustração 21**). Isto é visualizado, nomeadamente na **Ilustração 22**, sendo que a contracção da sua porção lateral vai levar à formação destas rugas laterais, os “Pés de Galinha”.

Linhas de Coelho "Bunny Lines"

Recomendações/Aplicações

- Aplica-se 2-5U, dividindo por cada lado a aplicar;
- Esta aplicação é realizada no músculo nasal, de forma a diminuir a contracção deste músculo;
- Pode-se realizar 1 ponto de aplicação na linha média, além de 1 ponto de aplicação por cada lado.



Ilustração 23 – Linhas de “coelho” e respectivos pontos de aplicação; pode recorrer-se a um ponto de aplicação extra na linha média.¹⁰³

As linhas de “coelho” resultam da contracção do músculo nasal, devendo ser aplicada a Toxina Botulínica, de forma a reduzir estas linhas e a tensão muscular. Assim, são realizadas duas aplicações, em cada lado da zona do músculo nasal, como visionado na **Ilustração 23**. No entanto, pode ser realizada uma aplicação extra na zona média deste músculo, de forma a tornar o tratamento mais eficaz.

Elevação da Sobrancelha

Recomendações:

- Ter cuidado na aplicação, tendo em conta as zonas de risco.

Aplicação:

Usam-se normalmente, 4 pontos de aplicação:

Injecção 1 : Na linha do canto externo ocular;

Injecção 2 : 1cm acima do ponto de aplicação da injecção 1;

Injecção 3: 1 cm acima do ponto de aplicação da injecção 2;

Injecção 4 : Abaixo do ponto de aplicação 1, distando 1 cm deste.

Além destes pontos realiza-se o tratamento aplicado no complexo glabellar, que vai auxiliar no enfraquecimento dos músculos depressores da sobrancelha. (Ilustração 24)

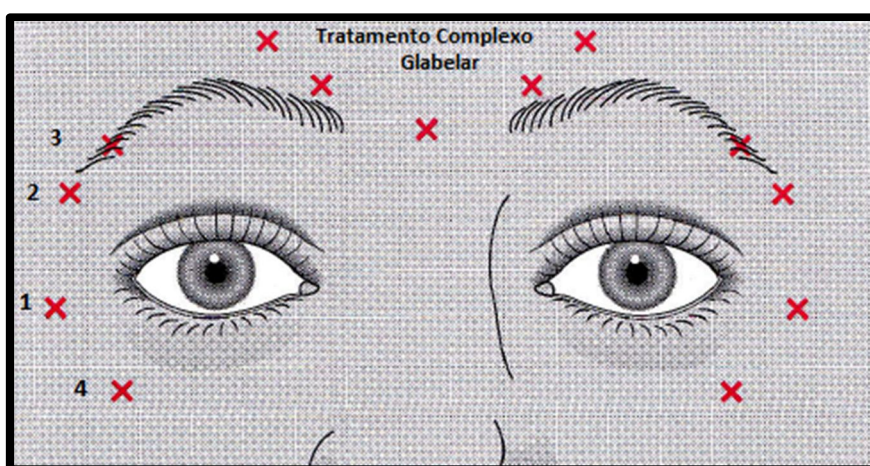
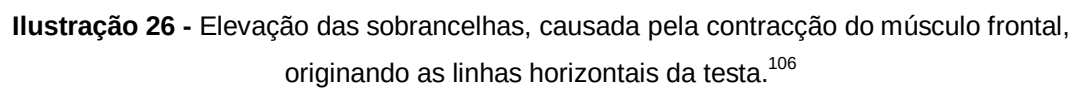
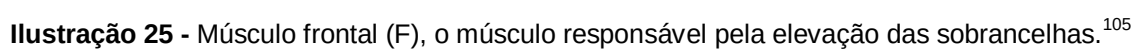


Ilustração 24 - Pontos de aplicação (1,2,3,4) no tratamento da elevação da sobrancelha, tendo como tratamento adjuvante, o aplicado no complexo glabellar.¹⁰⁴



O músculo frontal é o músculo responsável pela elevação das sobrancelhas, sendo que quando este se contraí é responsável pela elevação das mesmas e pela criação das linhas horizontais da testa (**Ilustração 25**). Assim, para permitir esta elevação quando ela não está presente, aplica-se o tratamento referido na **Ilustração 24**, de forma a diminuir a acção dos músculos depressores das sobrancelhas (músculo corrugador e depressor do supercílio, músculo prócero e porção pré orbital do músculo orbicular do olho) (**Ilustração 27**)

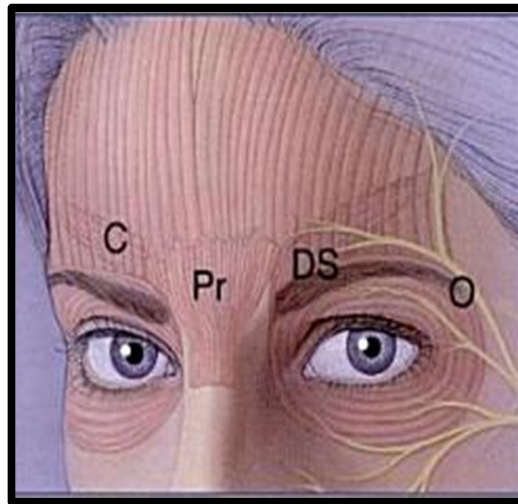


Ilustração 27 - Músculos depressores das sobrancelhas:

(C) Músculo corrugador do supercílio; (Pr) Músculo Prócer; (Ds) Músculo depressor do supercílio; (O) Porção pré orbital do músculo orbicular do olho.¹⁰⁷

Testa:
Linhas horizontais de expressão

Recomendações:

- O paciente deve elevar as sobrancelhas para acentuar as linhas do músculo;
- Evitar a aplicação na zona latero inferior da testa;
- Manter alguma actividade no músculo frontal, prevenindo uma migração da substância e uma ptose palpebral;
- Deve realizar-se a aplicação na zona central da testa, podendo no caso de falha, provocar um movimento pouco natural da sobrancelha;
- A região lateral do músculo deve ser tratada, evitando a elevação da sobrancelha só na parte lateral e o chamado "Jack Nicholson look". (**Ilustração 31 (B)**)

Aplicação:

- Usam-se, normalmente, de 6 a 8 pontos de aplicação;
- As aplicações são realizadas com pelo menos 1 cm de distância das sobrancelhas (os pontos de aplicação devem ser localizados acima da primeira linha horizontal da testa). (**Ilustração 29**)

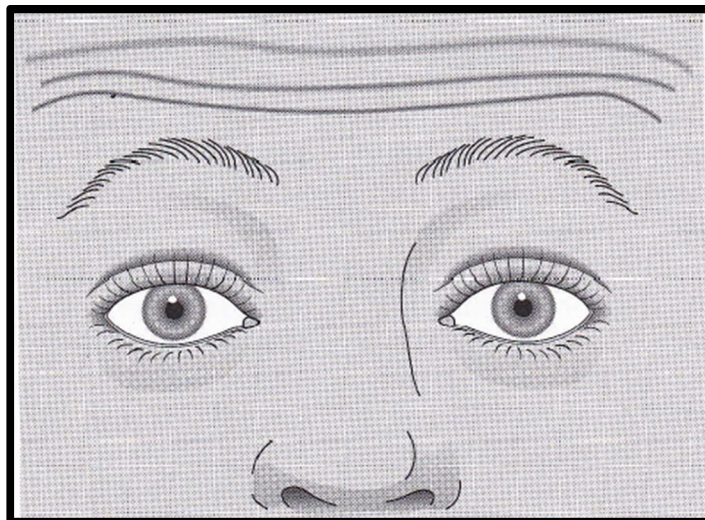


Ilustração 28 - Linhas horizontais da testa causadas pela elevação das sobrancelhas (contração do músculo frontal).¹⁰⁸

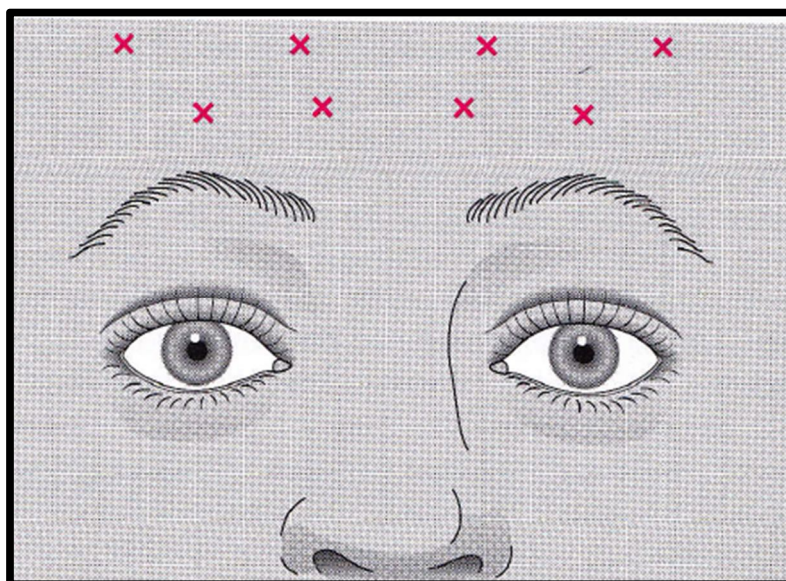


Ilustração 29 - Pontos de aplicação para reduzir a contracção do músculo frontal e eliminar as linhas horizontais da testa.¹⁰⁹



Ilustração 30 - Imagem ilustrativa de um tratamento incorrecto.

Aqui não foi realizada aplicação na zona central da testa.¹¹⁰

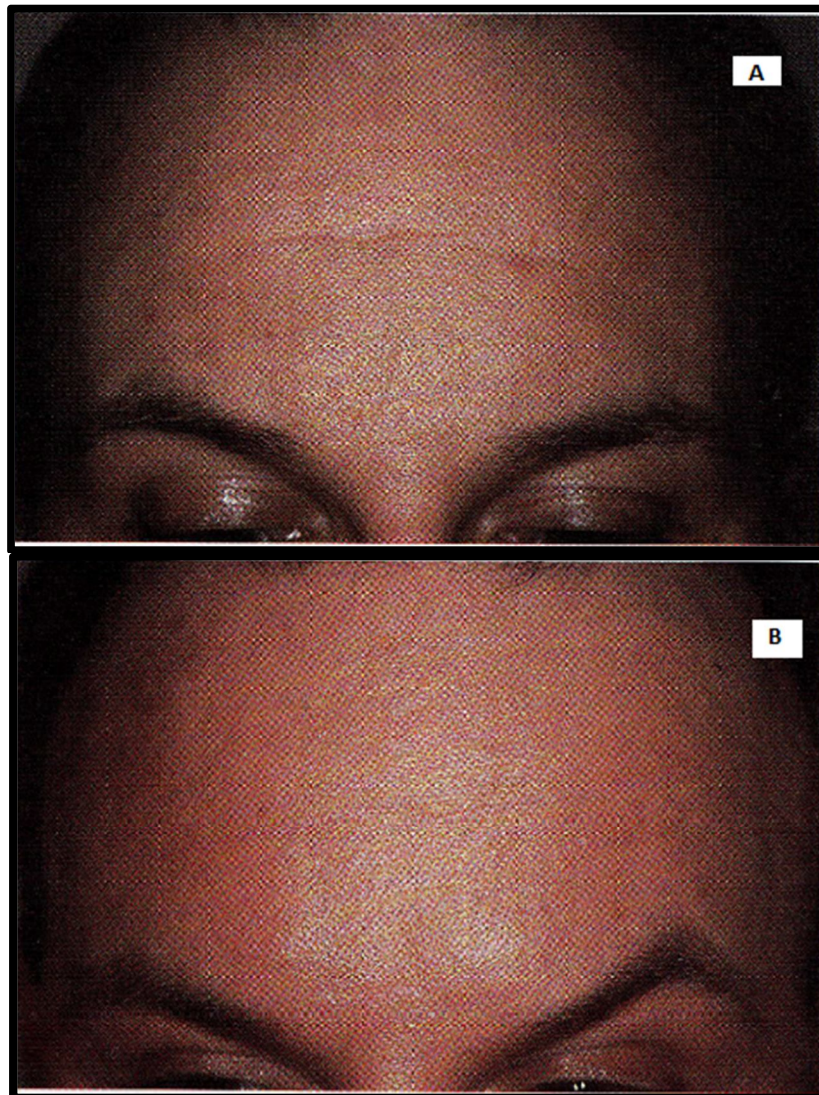


Ilustração 31 – Comparação do antes e depois da aplicação da Toxina Botulínica:

(A) - visualiza-se as linhas horizontais da testa antes da aplicação da Toxina Botulínica; (B) - verifica-se a evolução 2 meses após a aplicação.¹¹¹

De forma a eliminar as linhas horizontais da testa, as aplicações de Toxina Botulínica vão ser realizadas nos pontos de aplicação referenciados sob o músculo frontal. Assim, estas vão ser eliminadas pela redução da contracção do músculo frontal.

No entanto, tal como é referido acima, deve realizar-se a aplicação na zona central da testa, podendo no caso de falha, provocar um movimento pouco natural da sobrancelha. (**Ilustração 30**) A região lateral do músculo também deve ser tratada, como foi referido antes, evitando a elevação lateral da sobrancelha, o chamado "Jack Nicholson look".(**Ilustração 31 (B)**)

Parte superior do Lábio
(Rugas Peribucais)

Recomendações:

- Poderá ser usado o EMG, para ajudar na localização do músculo, devendo só ser utilizado quando o único músculo a ser tratado é o músculo orbicular da boca;
- a paralisação não deve ser completa, pois assim poderá interferir na fala.

Aplicação:

- As técnicas variam, mas são realizadas normalmente 3 a 4 pontos de aplicação - 5 mm acima da zona do lábio superior.



Ilustração 32 - Rugas peribucais¹¹²

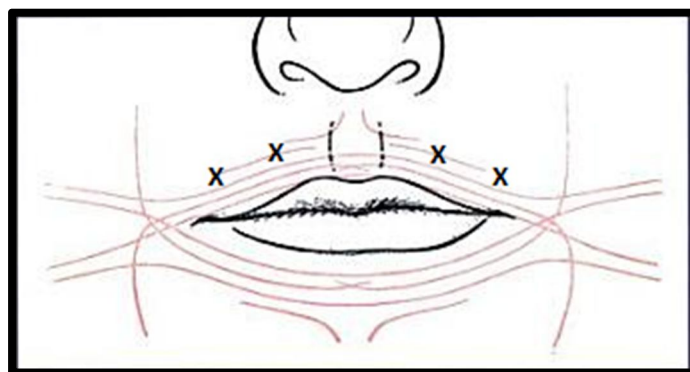


Ilustração 33 - Pontos de aplicação para tratamento das rugas peribucais, acima do lábio superior.¹¹³

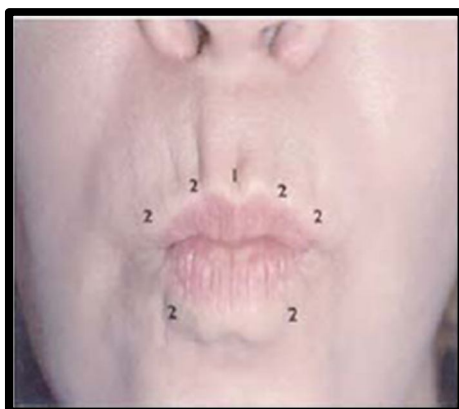


Ilustração 34 - Tratamento das rugas peribucais do lábio superior e do lábio inferior.

Representação dos pontos de aplicação da Toxina Botulínica.¹¹⁴

As rugas peribucais da zona superior do lábio são causadas pelo músculo orbicular dos lábios, devendo proceder-se a uma aplicação de Toxina Botulínica neste músculo, de forma a diminuir a contração muscular. **(Ilustração 33)** O mesmo poderá ser feito para as rugas peribucais localizadas na zona abaixo do lábio inferior. **(Ilustração 34)**

Sorriso Gengival "Gummy Smile"

Recomendações/Aplicações:

- Realiza-se 1 ponto de aplicação por cada lado, sendo aplicada uma dose de 2-4 U, dividida pelos lados a aplicar.



Ilustração 35 – Representação do chamado sorriso gengival: o antes (imagem esquerda) e o depois (imagem direita) da aplicação da Toxina Botulínica.¹¹⁵

A aplicação da Toxina Botulínica no tratamento do sorriso gengival, vai conduzir à redução da contração do músculo levantador do lábio superior (porção nasal), músculo responsável pelo levantamento do lábio superior. Quando este músculo se encontra em hiperactividade, conduz a uma elevação excessiva do lábio superior, levando à exposição da gengiva. Na **ilustração 35**, verifica-se o antes e o depois da aplicação da Toxina Botulínica, sendo evidente a suavização da elevação do lábio superior.

Zona do Mentoniano (queixo)

Recomendações/Aplicações:

- Zona de difícil aplicação, podendo causar várias complicações;
- A margem de segurança nesta zona é reduzida.

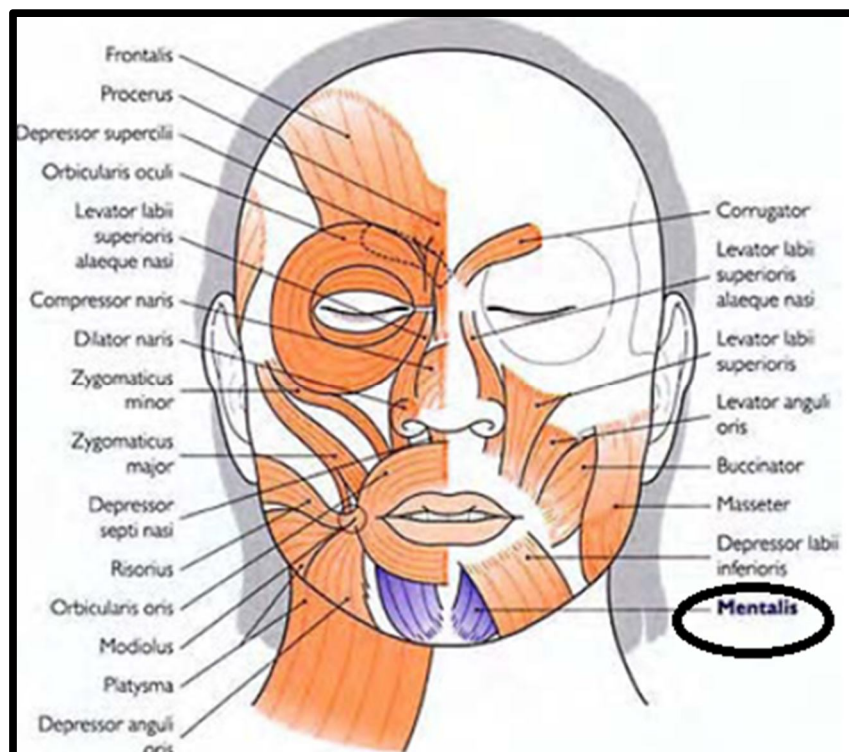


Ilustração 36 - Músculo Mentoniano¹¹⁶



Ilustração 37 – Tratamento do músculo mentoniano.

(6) Ponto de aplicação.¹¹⁷



Ilustração 38 - Deformidades do queixo (contração do m. mentoniano).

O antes (imagem esquerda) e 2 semanas depois (imagem direita) da aplicação de Toxina Botulínica; (4) Pontos de aplicação.¹¹⁸

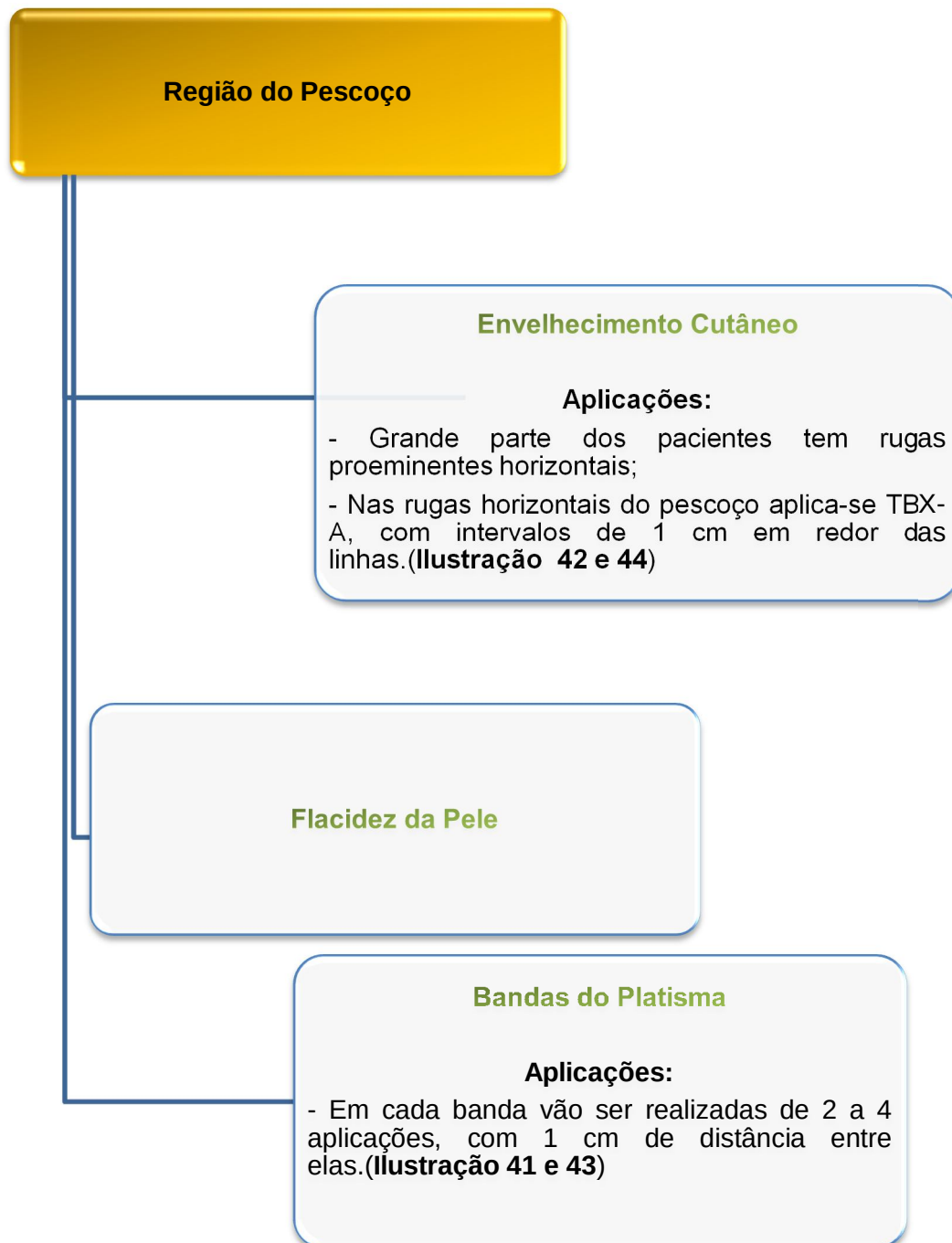
O músculo mentoniano quando se encontra em estado persistente de actividade, gera algumas deformidades na zona do queixo, como é visível nas imagens. (**Ilustração 37, 38 e 39**) Assim, é necessária a aplicação da Toxina Botulínica nos locais assinalados nas imagens, reduzindo a tensão do músculo. Este estado persistente de actividade pode gerar deformidades, quando há expressão de emoções e quando se fala, como é visível nas **Ilustrações 37 e 38**.

Além disso, como é visualizado na **Ilustração 39**, a aplicação da Toxina Botulínica também pode ser utilizada para o tratamento de um queixo proeminente, sendo que o não tratamento desta situação poderá levar ao “wicked witch’s chin”, o chamado “queixo de bruxa” ou “queixo caído”.



Ilustração 39 – Tratamento do músculo mentoniano.

Projeção do queixo: o antes (imagem acima) e o depois (imagem abaixo) da aplicação da Toxina Botulínica; (3) Pontos de aplicação. ¹¹⁹



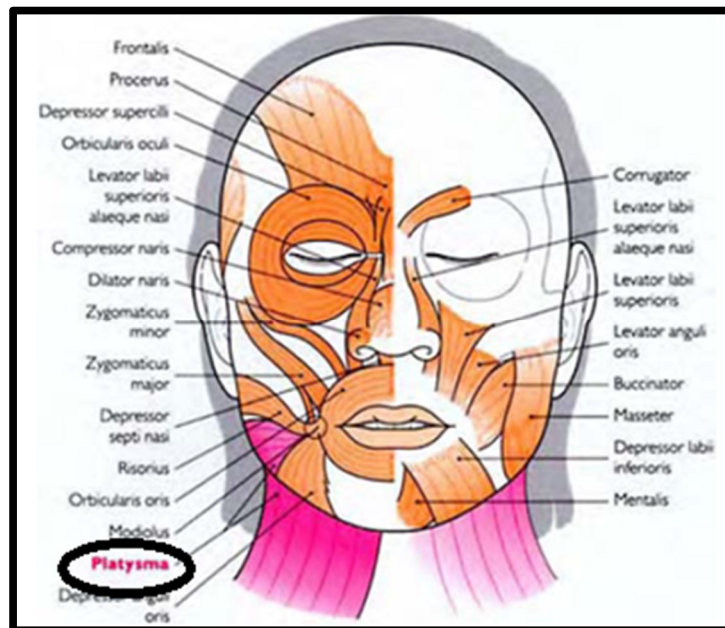


Ilustração 40 - Músculo do platysma¹²⁰

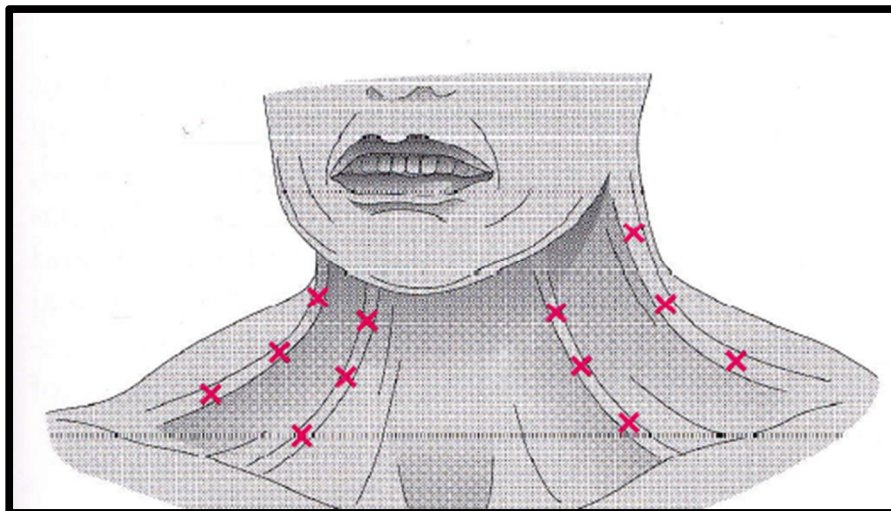


Ilustração 41 - Técnica de aplicação para tratamento das bandas do platysma.¹²¹

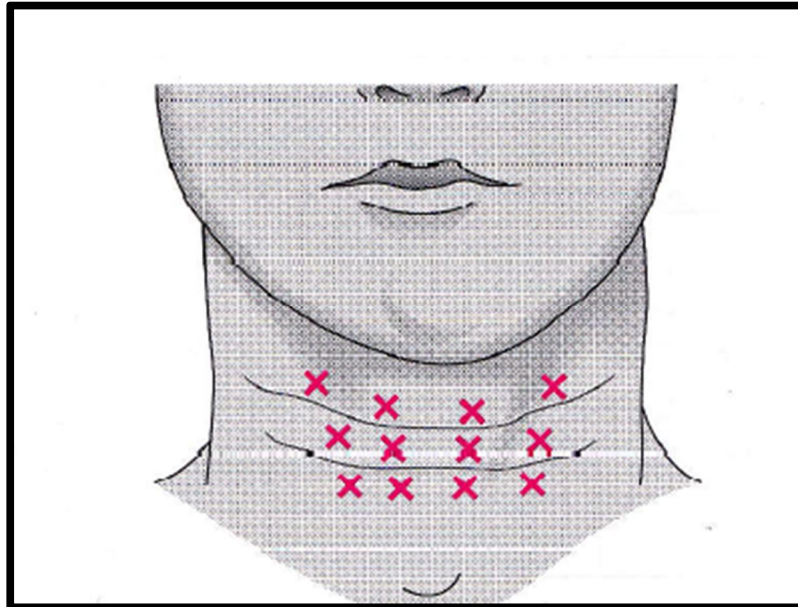


Ilustração 42 - Técnica para tratamento das rugas horizontais do pescoço.¹²²

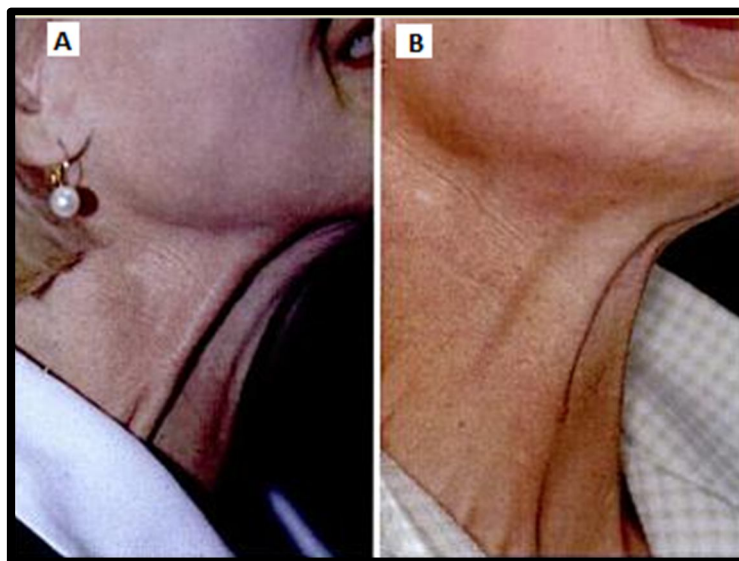


Ilustração 43 - Bandas do platisma:
(A) antes da aplicação da Toxina Botulínica; (B) depois do tratamento.¹²³



Ilustração 44 – Rugas horizontais do platisma:
imagem esquerda - antes do tratamento com Toxina Botulínica; imagem direita - depois do
tratamento.¹²⁴

As Bandas do Platisma e rugas horizontais do pescoço são reduzidas pela técnica da aplicação da Toxina Botulínica, tendo normalmente resultados favoráveis, como é visível nas **Ilustrações 43 e 44**.

Sulco Nasogeniano (Bigode do Chinês)

Recomendações:

-Prudência no uso do TBX-A nesta zona, pois pode levar a uma aparência constante de infelicidade do paciente; daí que esta aplicação deve ser bem estudada e analisada.

Aplicação:

- Reduz a expressão do Sulco Nasogeniano.

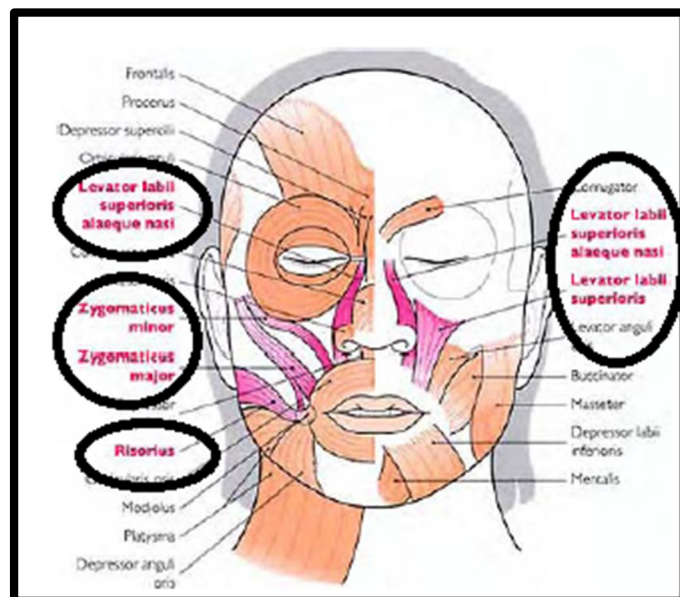


Ilustração 45 - Músculos envolvidos na formação do sulco nasogeniano (músculo levantador do lábio superior, músculo zigomático maior, músculo zigomático menor, risório).¹²⁵



Ilustração 46 - Tratamento do sulco nasogeniano:
o antes (imagem superior) e o depois (imagem inferior) do tratamento com Toxina Botulínica.¹²⁶

O tratamento do sulco nasogeniano leva a resultados favoráveis eliminando ou reduzindo a expressão do sulco nasogeniano (**Ilustração 46**). De acordo com vários autores, em muitos pacientes o músculo levantador do lábio superior (porção nasal) é o principal responsável pela produção da parte superior e mediana do sulco nasogeniano, sendo que o complexo zigomático e o músculo levantador do lábio superior se caracterizam pela elevação do lábio e pela produção do sorriso. Por outro lado, há pacientes em que o complexo zigomático com a colaboração do músculo levantador do lábio superior leva à intensificação do sulco nasogeniano e às rugas laterais, conduzindo à extensão dos “pés de galinha” ao longo da face.

Deve-se evitar um tratamento inadequado, pois pode levar a uma expressão constante de infelicidade do paciente.

Linhas de Marioneta "Marionette Lines"

Recomendações/Aplicações:

- O músculo depressor do ângulo da boca pode ser localizado através da palpação e pode ser seguramente identificado;
- Este músculo pode ser identificado a partir da zona terminal inferior do sulco nasogeniano;
- Deve-se evitar aplicações na zona marginal do nervo mandibular e na veia e artéria facial;
- Deve-se evitar a aplicação no músculo depressor do lábio inferior e no músculo orbicular dos lábios;
- Ter cuidado nas doses injectadas, devendo estas ser reduzidas.



Ilustração 47 – Ilustração representativa das linhas de marioneta.

(A) – Presença das linhas de marioneta, sinalizadas pela seta acima; (B) – Redução da expressão das linhas de marioneta, depois da aplicação da Toxina Botulínica A.¹²⁷

A representação destas linhas de marioneta é causada pela contracção excessiva do músculo depressor do ângulo da boca, sendo essencial a aplicação da Toxina Botulínica no músculo em questão, de forma a reduzir a contracção do músculo e a diminuir a expressão das linhas de marioneta, como é representado na **ilustração 47**.

2.2. Medicina Não Estética- Aplicações Terapêuticas:

A Medicina Não Estética tem tido ao seu serviço, ao longo dos tempos, a Toxina Botulínica como sua aliada e adjuvante de muitas doenças do Ser Humano.

A evolução da Medicina e da Investigação foi responsável por este gigante passo contribuidor da melhoria da qualidade de vida de muitos indivíduos.

2.2.1. Hiperidrose.

2.2.1.1. Definição:

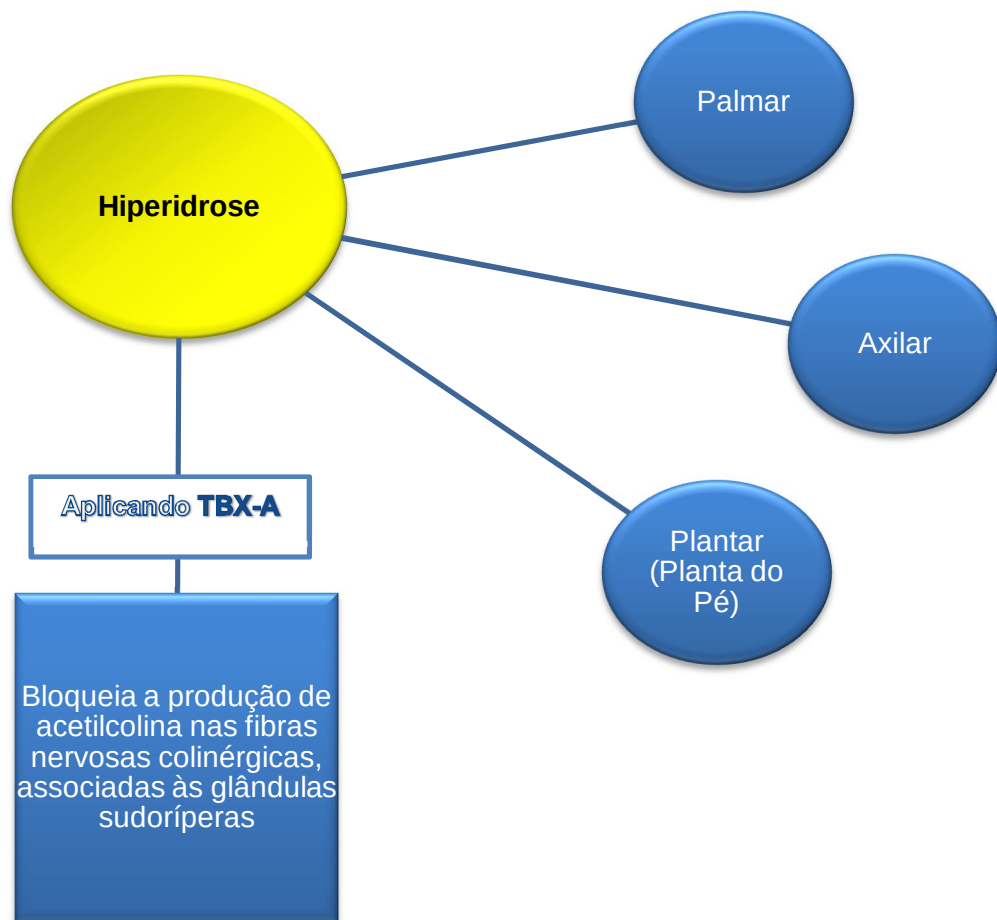


Ilustração 48 - Tipos de Hiperidrose mais frequentes: Palmar, Plantar e Axilar.

A Hiperidrose pode caracterizar-se como um distúrbio incomodativo para muitos indivíduos, actuando como um limitador de algumas actividades. Esta pode ocorrer em vários locais, destacando os três locais de maior frequência: palma da mão, axilas e palma do pé.

A aplicação de TBX-A, de forma a combater este distúrbio, vai actuar como um inibidor da produção de acetilcolina, não estimulando as glândulas à produção de suor.

128

A técnica utilizada para avaliação de cada paciente e quantificação do seu quadro clínico, baseia-se no teste de iodo-amido e na gravimetria. No teste do iodo-amido, a área a ser avaliada é limpa e seca, aplicando-se de seguida, uma solução alcoólica de iodo a 3,5%. Após alguns minutos, polvilha-se amido sobre a zona a avaliar, sendo que o amido nos pontos de sudação reagirá com o iodo, apresentando um precipitado de cor púrpura.

Na técnica da gravimetria, a área a ser avaliada vai ser seca, aplicando-se de seguida um papel de filtro, que vai absorver o suor. Posteriormente, este papel de filtro será pesado numa balança de precisão.¹²⁹

É importante destacar, que vários estudos indicam uma acção satisfatória da Toxina Botulínica A na diminuição da sudorese. No estudo de *Heckmann et al.*, 145 voluntários que produziam diariamente cerca de 490 g de suor em cada axila foram tratados com injeções desta toxina. Duas semanas depois, houve uma redução da taxa diária de suor para 67 g. *Heckmann et al.* também foi responsável pela realização de outro estudo relevante, focando a sua investigação numa amostra de 12 pacientes com Hiperidrose axilar. A dose utilizada por axila foi de 250 U. Antes do tratamento, o grau de sudorese entre eles variava de 150 mg/min a 890 mg/min, medido pelo teste da gravimetria. Sete dias depois, esse valor caiu para 50 mg/min em todos os pacientes. Quatro deles sentiram apenas uma dor aguda durante o primeiro dia depois da aplicação. Em sete pacientes a anidrose durou 12 meses, 9 meses em três pacientes e de 3 a 6 meses em outros dois pacientes.¹³⁰

São vários os estudos que comprovam o efeito da Toxina Botulínica, tendo esta um efeito positivo na redução da hiperidrose. Quanto ao método de aplicação para o tratamento desta doença, este é semelhante nos vários tipos de hiperidrose.

Outros tipos de Hiperidrose a destacar são:

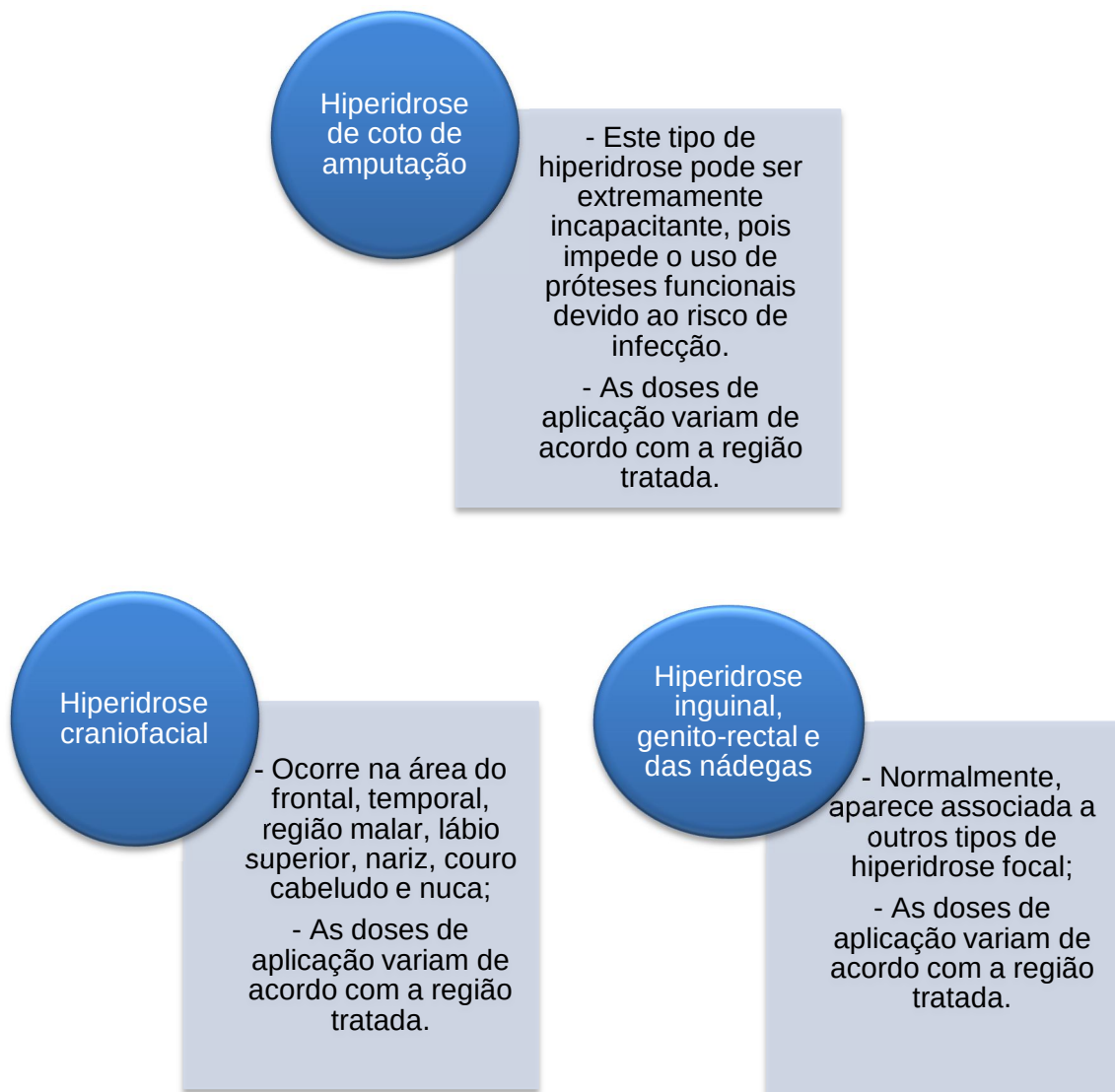


Ilustração 49 - Outros tipos de Hiperidrose.

2.2.1.2. Aplicação:

A técnica de aplicação de TBX-A para o tratamento da Hiperidrose, tem elementos importantes a ter em conta.

Técnica de aplicação no tratamento da Hiperidrose

- Os pontos de aplicação devem ter 1 a 2 cm de intervalo;
- O TBX-A deve ser aplicado na região subdermal;
- Na hiperidrose palmar, não esquecer de realizar aplicações nas junções interfalângicas dos dedos, incluindo as pontas dos dedos;
- As doses giram em torno de 50U, chegando até 200U por região e 400U por tratamento.

Ilustração 50 - Técnica de aplicação no tratamento da Hiperidrose (especificações importantes).^{131,132}

2.2.2. Estrabismo.

2.2.2.1. Definição:

O estrabismo é uma doença, cuja existência se apresenta como duradoura. Caracteriza-se pelo mau alinhamento do eixo óptico dos globos oculares, levando a distúrbios de visão.¹³³

A Toxina Botulínica caracteriza-se por ser um método eficaz de combate ao estrabismo precoce, sendo uma alternativa à cirurgia.¹³⁴ Esta doença pode estar associada a uma paralisia muscular, a mecanismos de restrição da rotação ocular, a falhas dos reflexos bioculares da visão ou a perda temporária ou permanente da visão monocular.¹³⁵

A aplicação muscular da Toxina Botulínica é um procedimento pouco invasivo, aparentemente seguro e eficaz para o tratamento sintomático do estrabismo quando existe boa indicação. Além disso, a Toxina Botulínica tem bons resultados nos estrabismos paralíticos, em especial na correcção de desvios pequenos e residuais decorrentes de cirurgias de estrabismo.¹³⁶

2.2.2.2. Aplicação:

O princípio do tratamento baseia-se na compensação da má posição do globo ocular através da paralisia induzida dos músculos externos do olho, levando ao encurtamento dos músculos antagonistas e assim a uma correcção definitiva, porém isso nem sempre acontece.¹³⁷

Técnica de aplicação no tratamento do Estrabismo

- Realiza-se nos adultos uma anestesia tópica, antes da realização do tratamento;
- Nas crianças deve ser utilizada uma sedação ou indução anestésica;
- É contra-indicada a anestesia geral, podendo esta bloquear os movimentos oculares espontâneos;
- A aplicação da TBX-A pode ser realizada usando-se uma agulha especial, cuja extremidade é revestida por teflon e que funciona como um eléctrodo. Ela é ligada a um eletromiógrafo que emite um sinal sonoro quando, durante a injeção da TBX-A, a agulha atinge o músculo, indicando o alvo correcto;
- As doses variam de acordo com as formulações de toxina utilizadas.

Ilustração 51 - Técnica de Aplicação no tratamento do Estrabismo (especificações importantes)^{138,139}

2.2.3. Blefaroespasma e Espasmo Hemifacial.

2.2.3.1. Definição:

As Distonias craniofaciais são um grupo de doenças caracterizadas por movimentos involuntários da face, língua, palato, faringe, cordas vocais e pescoço, classificando-se em: blefaroespasma essencial, síndrome de *Meige* (distonia orofacial idiopática), síndrome de *Brueghel* (distonia oromandibular) e espasmo hemifacial, entre outros.¹⁴⁰ O Blefaroespasma, na verdade é uma distonia focal, correspondendo a uma hiperactividade distônica do músculo orbicular do olho.

Por outro lado, o Espasmo Hemifacial caracteriza-se por hiperactividade involuntária dos músculos da mímica, representada por contracções musculares de curta duração. Neste caso, as contracções acontecem em sincronismo e normalmente estão limitadas a um lado da face.¹⁴¹ É de destacar alguns estudos realizados, no âmbito da aplicação da Toxina Botulínica nestas anomalias, como é o caso de um estudo realizado em 16 pacientes com distonias faciais no ambulatório de Oftalmologia, no Sector de Plástica Ocular do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Os pacientes com sintomas importantes de espasmo foram tratados com aplicação da Toxina Botulínica A (BOTOX®). A duração média do efeito da Toxina Botulínica A nos pacientes situou-se principalmente, na faixa dos 30 a 90 dias (53,8% dos pacientes). A média de aplicações nos pacientes que detectaram os efeitos durante 30 a 60 dias foi de 8 aplicações prévias, enquanto que a média dos pacientes que detectaram os efeitos durante 60 a 90 dias foi de 4,6 aplicações prévias (**Ilustração 52**) Assim, pode referir-se que existe uma certa relação inversamente proporcional entre o número de aplicações e o período livre de sintomas.¹⁴²

Tempo médio de ação (dias)	Número de pacientes	Número de aplicações anteriores
<10	1	4
10-30	3	1,2,10
30-60	4	5,8,8,11
60-90	3	4,5,5
>90	2	4,9

Ilustração 52 - Tempo médio de acção da Toxina¹⁴³

O índice de sucesso do BOTOX® foi de 87,5 %, com duração média do efeito de 30 a 90 dias, variando de acordo com o número de aplicações.¹⁴⁴

Outro estudo relevante baseia-se na análise de aspectos relacionados com o tratamento (nomeadamente início da acção benéfica, duração da acção, grau de melhoria, efeitos laterais) de 276 doentes com Distonias crânio cervicais e espasmo hemifacial tratados com Toxina Botulínica na Consulta de Distonias do Hospital de São João. Este estudo demonstrou que a eficácia do tratamento foi de 85,9% no blefaroespanto e de 95,6% no espasmo hemifacial, fundamentando a importância da Toxina Botulínica nestas anomalias.¹⁴⁵

2.2.3.1. Aplicação:

Técnica de aplicação no tratamento do Blefaroespanto	Técnica de aplicação no tratamento do Espasmo Hemifacial
• Cada tratamento realizado apresenta múltiplas injeções em diversos músculos que interferem no blefaroespanto, sendo o músculo orbicular do olho o mais importante; • Além do músculo orbicular do olho, o músculo prócero, nasal - porção transversa, corrugador do supercílio, risório, depressor do ângulo da boca, depressor do lábio inferior, mentoniano e levantador da pálpebra, também são músculos envolvidos no blefaroespanto; • As doses a aplicar dependem das formulações da toxina e do músculo a aplicar (o quadro abaixo demonstra a dose total de Dysport® a aplicar no blefaroespanto e as características do tratamento).	• Cada tratamento realizado apresenta múltiplas injeções em diversos músculos que interferem no espasmo hemifacial; • Os músculos intervenientes são os mesmos do blefaroespanto, podendo-se realizar aplicações no músculo orbicular dos lábios, caso seja necessário; • As doses a aplicar dependem das formulações da toxina e do músculo a aplicar (o quadro abaixo demonstra a dose total de Dysport a aplicar no espasmo hemifacial e as características do tratamento).

Ilustração 53 – Técnica de aplicação da Toxina Botulínica no blefaroespanto e no espasmo hemifacial.

Características do tratamento por distonia	Varição da dose (U)	Dose média	Número de tratamentos	Início do benefício (tempo médio)	Duração da acção (tempo médio)	Tipo de melhoria
Blefaroespasm	100-105	117	975	1ª semana	2,5 meses	Bom - 59 Moderado - 18 Pobre - 11
Espasmo hemifacial	50-120	70	1655	1ª semana	2,5 meses	Bom - 69 Moderado - 62 Pobre - 6

Ilustração 54 - Características do tratamento do blefaroespamo e espasmo hemifacial com Toxina Botulínica A (Dysport®).¹⁴⁶

2.2.4. Distonia Cervical ou Torcicolo Espasmódico.

2.2.4.1. Definição:

A Distonia Cervical é o tipo mais comum de distonia craniofacial. Caracteriza-se pela contracção involuntária de músculos da região cervical, de forma assimétrica, ocasionando alterações da postura cefálica, tais como desvio lateral, para frente, para trás, rotação ou ainda uma combinação destes movimentos. A dor é uma manifestação muito associada aos pacientes com este problema.¹⁴⁷

A Distonia Cervical classifica-se em vários tipos, como se visualiza abaixo.

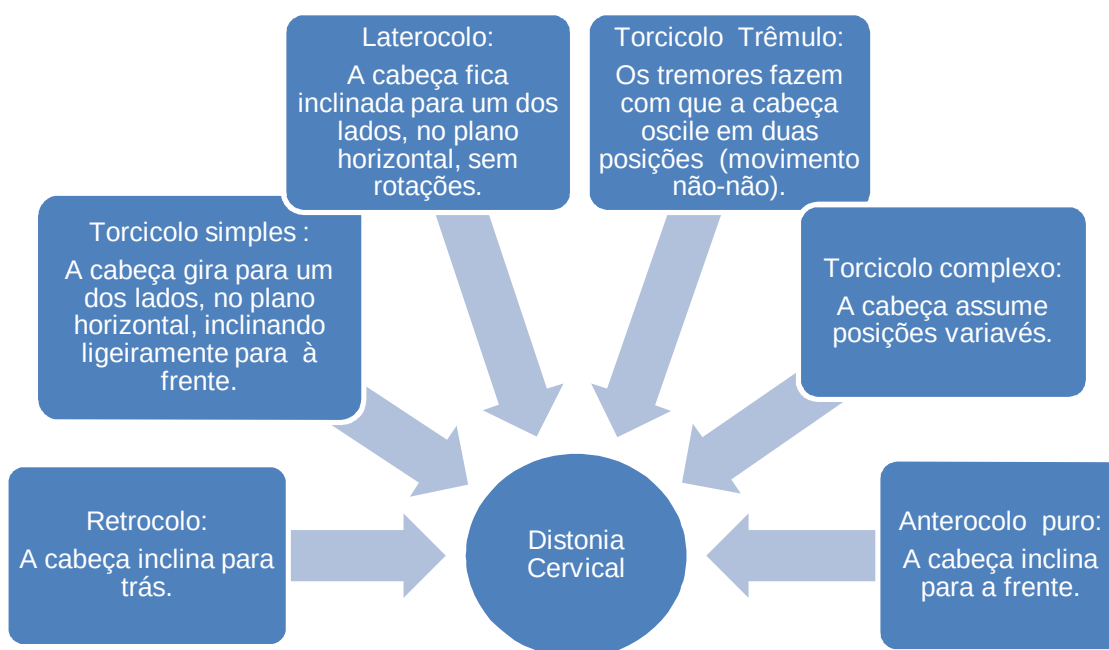


Ilustração 55 - Tipos de Distonia Cervical¹⁴⁸

2.2.4.2. Aplicação:

Técnica de aplicação no tratamento da Distonia cervical

- Antes de iniciar qualquer procedimento, é necessário um bom conhecimento anatômico do pescoço e de todos os músculos envolventes nos movimentos primários da cabeça;
- A observação e a palpação podem ser um método auxiliar dos médicos, visto que ajuda na determinação do músculo a tratar e da quantidade de Toxina Botulínica a usar;
- A utilização da EMG ainda é controversa.

Ilustração 56 - Técnica de aplicação no tratamento da Distonia cervical (especificações importantes)¹⁴⁹

2.2.5. Outras aplicações.

Actualmente, com a evolução da Medicina são diversas as aplicações à margem da estética e que têm um resultado crucial na Vida Humana. As aplicações relatadas anteriormente são algumas das aplicações a destacar no uso da Toxina Botulínica. No entanto, há muitas mais aplicações, havendo propensão para estas aumentarem ao longo dos anos. O quadro seguinte descreve algumas das restantes aplicações desta toxina na área não estética.

As indicações de tratamento não-estético da Toxina Botulínica dividem-se em três grandes grupos baseados nos órgãos alvo de acção

Tabela 20 - Aplicações em outras áreas da Medicina ^{150,151,152,153,}

Órgão	Áreas de intervenção	Doença
	<u>Oftalmologia</u>	Nistagmo adquirido
		Oscilopsia
		Fasciculação Ocular
	<u>Otorrinolaringologia</u>	Distonias focais: lingual, oromandibular, labial, laríngea e orofaríngea.
		Gagueira e tremor essencial da voz.
		Bruxismo e distúrbios temporomandibulares
	<u>Neurologia</u>	Discinesia tardia e mioclonia
		Tremores
		Cefaleia tensional
		Espasticidade da esclerose múltipla; paralisia progressiva supranuclear.
		Rigidez extrapiramidal e Doença de <i>Parkinson</i>
		Hipercinesia extrapiramidal: tiques; síndrome de <i>Tourette</i>

Tabela 21 - Aplicações em outras áreas da Medicina (continuação).

Órgão Alvo	Área de Intervenção	Doença
Músculo-esquelético (Terapêutica)	<u>Proctologia</u>	Fissura anal; Hemorróidas; Distúrbios do esfíncter externo; Anismo; Obstipação
	<u>Ginecologia</u>	Vaginismo e Vulvodínea
		Mamilo irritável
	<u>Cirurgia</u>	Diagnóstico e estabilização pré-cirúrgica
		Controle da dor por espasmos no pós-operatório
	<u>Fisiatria</u>	Espasmo lombar
		Sequela de Paralisia facial
	<u>Ortopedia</u>	Lesões de Desporto
		Imobilizações em pacientes com automatismos
Terapêutica Sensorial	<u>Dor</u>	Migrânia (Enxaqueca)
		Neuralgia do trigêmeo

Tabela 22 - Aplicações em outras áreas da Medicina. (continuação).¹⁵⁴

Órgão Alvo	Área de Intervenção	Doença
Músculo liso e glândulas (Sistema Nervoso Autônomo)	<u>Gastroenterologia</u>	Obesidade
		Acalásia; Sincinesias gástricas Obstrução alta do piloro
	<u>Dermatologia</u>	Hiperidroses craniofacial
		Síndrome de <i>Frey</i>
		Hiperidrose inguinal, génito-rectal e nádegas
	<u>Fisiatria</u>	Sialorréia
		Hiperidrose de coto de amputação
	<u>Urologia</u>	Bexiga neurogênica
		Prostatite e hipertrofia benigna da próstata

2.3. Botulismo.

2.3.1. Definição e Tipos de Botulismo.

Jamais, os médicos dispuseram de tantas opções farmacológicas no tratamento de seus pacientes. Todavia, vivemos numa perigosa encruzilhada. A sociedade ocidental é realmente insaciável na busca da felicidade.¹⁵⁵

Assim surge a Toxina Botulínica, numa busca constante de felicidade e de tentativa de rejuvenescimento, esquecendo-se, por vezes das implicações negativas que esta possa provocar. Desta forma, é importante destacar o Botulismo, doença impossível de esquecer quando se menciona o excesso de aplicação da Toxina Botulínica.

O Botulismo caracteriza-se por uma doença rara de paralisia, causada pelas toxinas produzidas pelo *Clostridium Botulinum*. Estas toxinas são letais, mas também destrutíveis em poucos minutos, à temperatura de 80°C.¹⁵⁶ No caso do Botulismo, não ser sujeito a tratamento, poderá resultar em falha respiratória, podendo mesmo tronar-se letal.¹⁵⁷ Será importante por isso destacar os tipos de Botulismo existentes.

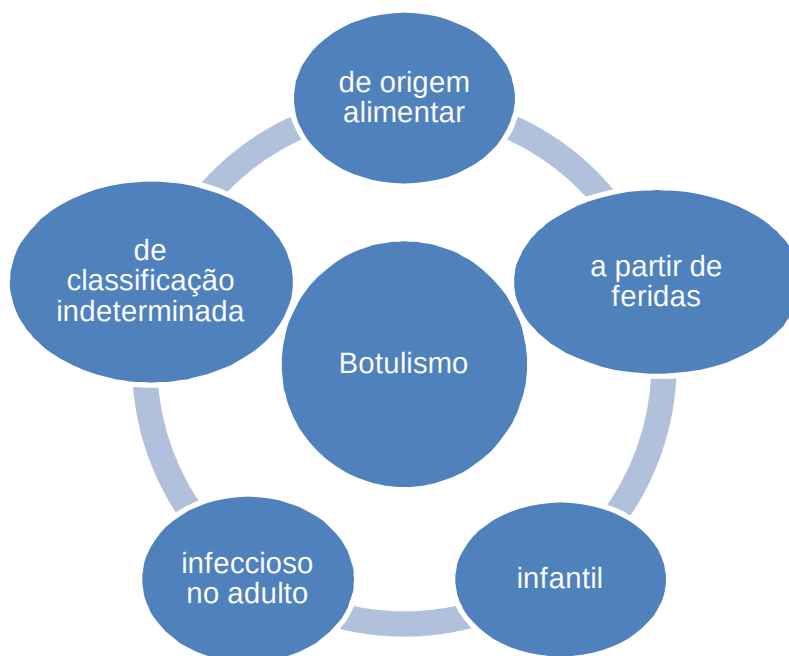


Ilustração 57 - Tipos de Botulismo¹⁵⁸

O Botulismo de Origem Alimentar é causado pela ingestão de alimentos contaminados com neurotoxina pré-formada da bactéria *C. botulinum*. Produtos alimentares conservados de forma caseira que contêm peixe, vegetais ou batatas, são os mais susceptíveis de estarem envolvidos em surtos de botulismo. Alimentos com pH ácido raramente são afectados. Apesar dos esporos de *C. botulinum* serem termo-resistentes, a toxina é lábil a altas temperaturas. Assim, durante a preparação de alimentos a toxina é eliminada, desde que sujeita a um aquecimento intenso que ultrapasse os 80°C. Os Casos mais frequentes de contaminação são: comida preparada de uma forma caseira (fresca ou conservada) – normalmente associada a uma pasteurização inadequada, vegetais, enlatados (leguminosas e vegetais), peixe ou ovas, provenientes do mar; peixe tradicionalmente curado ou fermentado, presunto e molhos caseiros.^{159,160}

Outro tipo de Botulismo é o originado a partir de feridas, sendo que a causa deste tipo de botulismo envolve perfusão da pele, por várias formas: feridas provenientes de punções, fracturas expostas, lacerações em abscessos causados por abuso de drogas e incisões cirúrgicas.

Segue-se o Botulismo infantil, resultado da colonização do tracto intestinal após ingestão de alimentos contaminados com esporos de *C. botulinum*. Isto acontece com mais frequência nas crianças, devido ao facto do tracto intestinal de uma criança com menos de 1 ano não apresentar ainda uma flora microbiana normalizada, assim como ácidos biliares inibidores do crescimento de *C. botulinum*.¹⁶¹

Restam dois tipos de Botulismo a realçar: o infeccioso e o de classificação indeterminada.

O Botulismo infeccioso está associado a complicações provocadas por cirurgia ao intestino, doença de *Crohn* ou exposição a alimentos contaminados, sem manifestação de doença (geralmente não é possível identificar o alimento contaminante responsável, visto que o indivíduo só desenvolve a doença, em média, 47 dias depois).

O Botulismo de causa indeterminada é porventura, o que merece maior realce nesta revisão. Esta forma de botulismo é mais recente e está associada às consequências do uso directo da Toxina Botulínica, no tratamento de várias paralisias ou desordens da contractura muscular por flacidez. Por exemplo, o uso de Toxina Botulínica A para o tratamento de torcicolo, pode causar disfagia devido à penetração da toxina em músculos da faringe, localizados muito próximo do local de aplicação da injeção.¹⁶²

2.3.2. Epidemiologia.

O Botulismo é mais frequente nos países onde se preparam alimentos caseiros e que não são cozinhados devidamente. Quando a cozedura é realizada de forma adequada, atingindo a temperatura de ebulição (acima de 80°), a probabilidade de intoxicação é bastante reduzida.

Um caso de relevo associado ao Botulismo ocorreu em 1964 nos Estados Unidos da América, quando duas irmãs de idade avançada morreram depois de terem ingerido atum da empresa A & P ("Atlantic-Pacific"). Este episódio levou à eliminação de todo o lote desta produção em todo o País.¹⁶³

2.4. Complicações.

2.4.1. Complicações na aplicação de toxina botulínica na face.

A aplicação da Toxina Botulínica traz consigo, por vezes, efeitos adversos que podem provocar alguns problemas. Os efeitos adversos são vários, sendo esta toxina, apesar de tudo pouco sujeita a adversidades e complicações.

Quanto à aplicação na face, local muito utilizado para aplicações a nível estético, os efeitos adversos/complicações são designados na seguinte tabela.

Tabela 23 - Reacções Adversas/Complicações mais frequentes associadas à aplicação da Toxina Botulínica na face.¹⁶⁴

Reacções adversas/Complicações	Descrição
Ptose palpebral	Queda da pálpebra superior que pode ser congénita ou adquirida. Neste caso, assume-se como adquirida.
Olho seco	Condição anormal da superfície do olho, que se manifesta quando se produz pouca lágrima ou a mesma é deficiente em alguns de seus componentes.
Edema local	É o acúmulo anormal de líquido no espaço intersticial. Ele é constituído por uma solução aquosa de sais e proteínas do plasma, cuja exacta composição varia com a causa do edema. Quando o edema não ocorre na totalidade corporal, mas num local específico designa-se por edema local.
Boca seca	Caracteriza-se por uma produção insuficiente de saliva que deixa a boca desagradavelmente desidratada.

Tabela 24 - Reacções Adversas/Complicações mais frequentes associadas à aplicação da Toxina Botulínica na face. (continuação)

Reacções adversas/Complicações	Descrição
Paresia local	Perda completa de força num membro afectado ou grupo muscular.
Equimose local	Caracteriza-se por uma infiltração de sangue na malha dos tecidos com 2 a 3 cm de diâmetro.
Eritema local	Mancha de coloração vermelha por vasodilatação, que desaparece com a dígito ou vitropressão.
Ptose de supercílio	Queda do supercílio, que pode ser congénita ou adquirida. Neste caso, assume-se como adquirida.
Diplopia	Sintoma visual no qual um único objecto é percebido pelo córtex visual como dois objectos ao invés de um - Visão dupla.
Sensação de peso local	_____

Tabela 25 - Reacções Adversas/Complicações mais frequentes associadas à aplicação da Toxina Botulínica na face. (continuação)

Reacções adversas/Complicações	Descrição
Desvio de rima bucal (linha que caracteriza o encontro do lábio superior e inferior)	_____
Alteração facial	_____
Prurido local	Sensação desagradável que provoca o desejo de coçar. Sensação de comichão num determinado local.
Náusea	Sensação desagradável de vontade de vomitar.
Estado gripal	_____
Perda visual	_____

São diversas as complicações/reacções adversas associadas à aplicação da Toxina Botulínica nesta área, sendo grande parte destas reversíveis.

Num estudo de revisão sistemática de relatos de casos, foi possível verificar que 182 (18,14%) dos 1003 pacientes estudados (pacientes sujeitos a aplicações de Toxina Botulínica) apresentaram reacções/efeitos adversos. Assim, segundo este estudo de metanálise, foi possível verificar a reacção adversa com maior incidência no tratamento facial, destacando-se a ptose palpebral como a mais incidente.

Efeitos adversos	N	%
Ptose palpebral	34	3,39
Olho seco	23	2,29
Edema local	20	1,99
Boca seca	20	1,99
Cefaléia	16	1,59
Paresia local	11	1,09
Equimose local	8	0,79
Eritema local	7	0,69
Ptose de supercílio	6	0,59
Diplopia	6	0,59
Sensação de peso local	5	0,49
Sangramento local	5	0,49
Melhora da cefaléia	3	0,29
Desvio de rima bucal	3	0,29
Alteração facial	3	0,29
Prurido local	3	0,29
Náusea	2	0,19
Estado gripal	2	0,19
Perda visual	1	0,09

Ilustração 58 - Reações adversas/complicações mais frequentes, num estudo de 1003 pacientes sujeitos à aplicação da Toxina Botulínica.¹⁶⁵



Ilustração 59 – Ptose Palpebral.¹⁶⁶

É importante destacar que as reacções adversas/complicações podem ser classificadas em dois grupos: as que provêm da injeção e as decorrentes do próprio produto. As reacções adversas decorrentes da injeção são descritas abaixo.¹⁶⁷

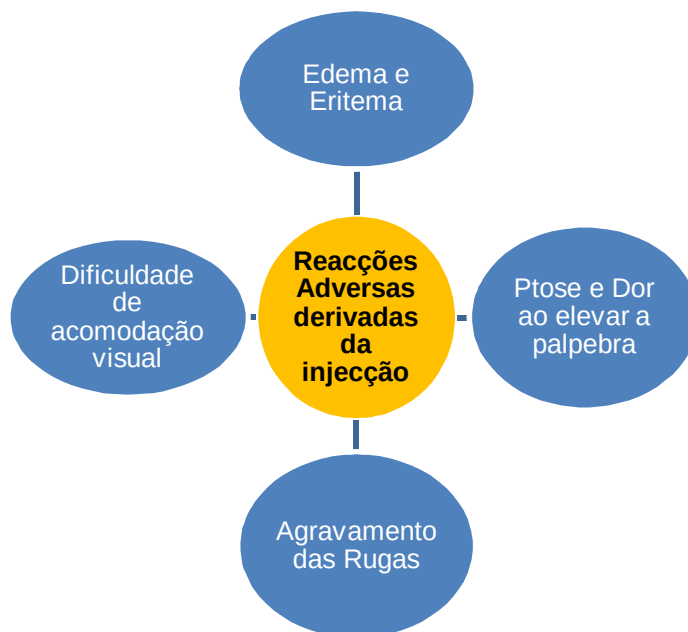


Ilustração 60 - Reacções adversas derivadas da injeção.

O edema pode, eventualmente ser decorrente do volume de líquido injectado. Estes efeitos costumam regredir rápida e espontaneamente. Para ocultar o eritema pode-se recorrer ao uso de alguns cosméticos.

A ptose pode ser evitada com uma técnica correcta e diluições adequadas do produto, diminuindo assim, os riscos desta ocorrência. Esta normalmente é leve, resolve-se em poucos dias, ocorrendo maioritariamente por erro de técnica e não de difusão do produto.

O agravamento das rugas nasais vai surgir quando estas linhas não são tratadas e os músculos correspondentes tentam compensar a debilidade dos músculos da glabella.

A dificuldade de acomodação visual destaca-se em pacientes que utilizam a musculatura extrínseca dos olhos para a acomodação visual, especialmente indivíduos mais velhos e que não utilizam óculos de leitura, podendo ter dificuldades de acomodação e passando a necessitar do uso de lentes após a aplicação da toxina.¹⁶⁸

É de destacar que as complicações podem variar em função da indicação terapêutica a realizar.

2.4.1.1. Estrabismo:

No Estrabismo, o principal problema que se levanta, é o facto da paralisia parcial do músculo reto poder resultar em ptose transitória, hipertrofia, bloqueio das glândulas ciliares, perfuração do globo ocular e hemorragia retrobulbar. A ptose é a complicação mais frequente com uma incidência de 5% em adultos e 25% em crianças. A hipertrofia, por outro lado é rara. O bloqueio das glândulas ciliares é frequente, podendo levar a uma dilatação pupilar e borramento da visão. Perfurações oculares ocorreram em pouco número de casos e a hemorragia retrobulbar é muito rara e tem resolução espontânea em 2 semanas.¹⁶⁹

2.4.1.2. Blefaroespasma:

A principal reacção adversa ligada ao bloqueio químico muscular com Toxina Botulínica no Blefaroespasma é a ptose palpebral, por paralisia do músculo levantador da pálpebra, acontecendo em menos que 5% dos casos e com uma duração limitada de aproximadamente duas semanas. A visão dupla por paralisia dos músculos externos dos olhos (reto lateral), também pode ocorrer. Estas reacções adversas acontecem por difusão do produto ou má técnica de injeção.

Os pacientes mais idosos caracterizam-se por uma perda da consistência tarsal e orbital, facilitando a difusão do medicamento e favorecendo o aparecimento de hematomas.¹⁷⁰

2.4.1.3. Espasmo Hemifacial:

As reacções adversas possíveis nestes casos são basicamente aquelas já descritas para o Blefaroespasma. No entanto, pode encontrar-se alterações na posição do ângulo da boca e instabilidade dos lábios. Para evitar este efeito, as doses devem ser individualizadas de modo a bloquear as contracções musculares, sem levar a uma paralisia muscular completa, que aplicada sobre os músculos ao redor da boca pode comprometer a sua função. Deve evitar-se o tratamento do músculo levantador do ângulo da boca, levantador do lábio superior e complexo zigomático.¹⁷¹

2.4.1.4. Aplicações Estéticas na face:

Tal como nas outras intervenções, a ocorrência de reacções adversas podem ser reduzidas usando técnicas de aplicação e doses adequadas. Assim, pacientes mais velhos, com rugas mais proeminentes, com a anatomia facial alterada e com doenças neuromusculares, têm maior propensão a desenvolver complicações na aplicação da Toxina Botulínica.¹⁷²

Nas aplicações com objectivo meramente estético, as reacções adversas mais frequentes são a ptose palpebral, edema local e dores de cabeça, sendo que das reacções mais alarmantes se destacam a disfagia e a hipersensibilidade.

Nas aplicações estéticas deve-se ter especial cuidado relativamente a possíveis reacções adversas, visto que o paciente em questão procura uma melhoria da aparência.

De forma a facilitar a compreensão das complicações estéticas da face é necessário proceder a uma análise mais detalhada.

Região Periorbitária



Ilustração 61 - Reações adversas da Região Periorbitária¹⁷³

Dificuldade de oclusão das pálpebras:

Ocorre quando se aplicam doses muito altas sobre o músculo orbicular do olho. Deve-se respeitar a distância de segurança de 1 cm da borda da pálpebra durante a aplicação.

Diplopia:

A visão dupla ocorre como causa da difusão da Toxina Botulínica para dentro da órbita, afectando os músculos reto laterais.

Maior evidência da flacidez e do excesso de pele das pálpebras:

Acontece quando existe envelhecimento intrínseco e uma musculatura flácida (efeito do envelhecimento) ou foto envelhecimento associado. Neste caso, é essencial um bom diagnóstico antes de proceder a qualquer aplicação.

Agravamento das linhas zigomáticas:

Acontece quando a aplicação periorbitária ultrapassa os seus limites e atinge a musculatura zigomática, daí a importância da aplicação pelo periósteo.

Agravamento da herniação de gordura da região da pálpebra inferior, queda da pálpebra inferior e ectrópio:

Esta complicação pode ter duas causas: a difusão do produto ou o excesso da paralisia da pálpebra inferior. Muitos desses pacientes têm indicação cirúrgica para remoção do excesso de gordura na região da pálpebra inferior, não sendo indicado o uso da Toxina Botulínica. Assim, dá-se o agravamento da herniação de gordura da pálpebra inferior, devendo ser avaliado o caso antes de se proceder a qualquer aplicação.¹⁷⁴

Zona do Frontal

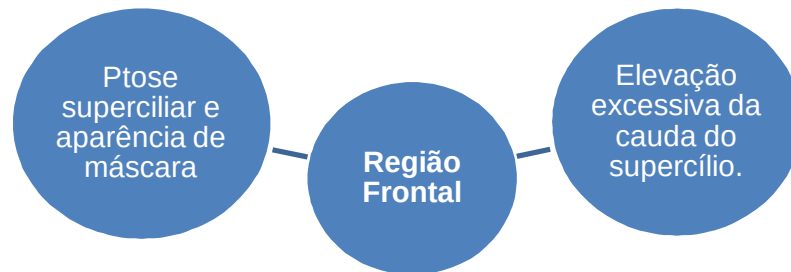


Ilustração 62 - Reacções adversas/Complicações na região do Músculo Frontal.¹⁷⁵

Ptose superciliar e aparência de máscara:

Ocorre devido a um excesso de paralisia do músculo, tornando o indivíduo inexpressivo. A ptose superciliar pode-se manifestar como unilateral, levando a uma assimetria facial. Esta reacção pode ser evitada através da utilização da técnica de aplicação e dosagem correcta.

Elevação excessiva da cauda do supercílio:

Este efeito está associado principalmente aos homens, pois atribuí uma expressão afeminada. Esta reacção deve-se a uma acção compensatória da porção lateral do músculo frontal, quando existe uma paralisia completa da glabella e da região central da testa, sendo fundamental o tratamento completo do músculo frontal evitando, o já referido “Jack Nicholson’s look”

Deve ter-se em conta, a utilização de uma técnica de aplicação adequada, de forma a evitar esta reacção adversa.¹⁷⁶

Terço Central e Inferior da Face



Ilustração 63 - Reacções adversas/Complicações da aplicação da Toxina Botulínica no Terço Médio e inferior da face.

Ptose do lábio superior:

Ocorre por erro de técnica ou de dose, sendo que o músculo levantador do lábio superior é afectado, conduzindo a uma assimetria do sorriso.

Dificuldade para a movimentação dos lábios:

Ocorre devido a doses elevadas sobre o músculo orbicular dos lábios para o tratamento das rugas peribucais, conduzindo à dificuldade de fumar, em tocar instrumentos de sopro e condicionando, por vezes, a fala.

Disfagia e dificuldade para a movimentação do pescoço:

Acontece quando altas doses são colocadas no músculo do platisma, ocorrendo a difusão do produto.

Boca seca:

Esta reacção adversa é mais frequente quando se utiliza a Toxina Botulínica tipo B (TBX-B).¹⁷⁷

É importante também destacar outros aspectos de relevo, como o caso dos pacientes com assimetrias faciais. Os pacientes que possuem assimetria facial, antes da realização do tratamento, devem ter muito cuidado, visto que a tentativa de eliminar este problema pode trazer outro, levando a uma perda de esquema facial.¹⁷⁸

Outros sintomas relacionados com aplicação intramuscular da Toxina Botulínica são a dor de cabeça (cefaleia), infecção respiratória e náuseas, nomeadamente quando se procede ao tratamento do complexo glabellar. É de referir o relato de um estudo, que define que 1% dos pacientes (4/320) sujeitos à aplicação da Toxina Botulínica A, na zona do complexo glabellar e testa desenvolvem intensas dores de cabeça, que se mantiveram presentes entre 2-4 semanas. Focalizando-se numa visão mais local das reacções adversas, verifica-se que os locais de aplicação da injeção podem apresentar dor, eritema, edema e equimose.

No entanto, é importante destacar a maior frequência de complicações na zona inferior da face, provocando reacções de maior relevo. A aplicação no platisma resulta, por vezes, em disfagia, como já foi referido e em mudanças na zona das cordas vocais.¹⁷⁹

2.4.2. Outras aplicações e Reacções adversas correspondente.

2.4.2.1. Distonia Cervical:

O bloqueio parcial dos músculos diatónicos, através da aplicação de Toxina Botulínica, pode levar a uma diminuição da sua actividade funcional, com alteração do controle da cabeça.¹⁸⁰

Quando a injeção é aplicada na porção superior do músculo esternocleidomastoideu pode, por vezes levar a uma disfagia por difusão do produto. Quando este músculo precisa de ser tratado deve privilegiar-se o tratamento das suas porções mais distais. A disfagia pode manifestar-se pela dificuldade na deglutição da saliva ($\pm 1/3$ dos casos tratados) ou em casos mais graves pela dificuldade na deglutição do bolo alimentar (5% dos casos tratados).¹⁸¹

2.4.2.2. Hiperidrose:

Decorrente do trauma da injeção, pode ser observado como reacção adversa: dor, eritema, edema, hematomas e equimoses. A infecção local é rara. Pode ocorrer fraqueza regional dos músculos adjacentes à área tratada decorrente da aplicação de Toxina Botulínica. Esta reacção adversa é mais importante nos casos de tratamento da hiperidrose palmar, onde a função manual pode ser comprometida. A debilidade muscular quando ocorre, desaparece espontaneamente ao longo de algumas semanas. Também pode ser observada por vezes uma hiperidrose residual e assimetrias.¹⁸² As reacções adversas decorrentes da Toxina Botulínica podem ser minimizadas através da correcta técnica de aplicação e de diluição do produto, adequada às necessidades individuais de cada paciente. A tentativa de conseguir uma difusão controlada também é importante.

2.4.3. Complicações por sobredosagem.

Deve considerar-se o internamento hospitalar dos doentes que apresentam sintomas de intoxicação pela Toxina Botulínica (fraqueza generalizada, ptose, diplopia, alterações da deglutição e da fala, ou paralisia dos músculos respiratórios).

Com doses elevadas verifica-se paralisia muscular generalizada e profunda. Quando os músculos da orofaringe e do esófago são afectados pode ocorrer pneumonia por aspiração. Se os músculos respiratórios ficarem paralisados será necessário recorrer à intubação e à respiração assistida até à recuperação do doente.¹⁸³

2.4.4. Registos de Complicações.

São diversos os registos de complicações, nomeadamente referidos no FDA ("Food and Drug Administration"), organização com vista a aprovar e a relatar vários elementos importantes de drogas, medicamentos, cosméticos, etc. Esta associação americana vem também proteger os interesses dos cidadãos, relatando casos em que existe suspeita do não cumprimento da lei. Assim, em relação à Toxina Botulínica, existem alguns relatos importantes a destacar, que envolvem o Gabinete de Investigação Criminal do FDA (OCI ("Office of Criminal Investigation")).

Relatando agora um caso, é importante destacar que nenhuma forma de Toxina Botulínica pode ser comercializada nos EUA sem ser aprovada pelo FDA. No decorrer deste caso, a única forma de Toxina Botulínica aprovada nessa altura pelo FDA, era o BOTOX® da empresa *Allergan Inc*, sendo utilizada para tratamento das linhas do complexo glabellar.

Este caso destaca-se pelo levantamento de suspeitas em relação a uma Clínica na Florida, sobre a forma de Toxina Botulínica A que estaria a ser utilizada. Com as investigações realizadas pelo OCI e a análise desta preparação de Toxina Botulínica num Laboratório da Califórnia, encontrou-se um novo caminho capaz de conduzir a uma resposta mais clara. Desta forma, verificou-se que o TIR (“Toxin Research International Inc.”) em Tucson era responsável pela venda de um falso Botox a várias clínicas, cobrando um preço mais baixo e servindo de alternativa ao BOTOX®. Assim, era uma oportunidade clara de clínicas obterem mais lucros, praticando aos clientes o mesmo preço cobrado pela aplicação do verdadeiro BOTOX®.

Além deste falso Botox, foram vendidas amostras com fins investigacionais, não podendo ser utilizadas nos humanos (como se visualiza na **Ilustração 64**: “For Research Purposes Only, Not For Human Use.”).

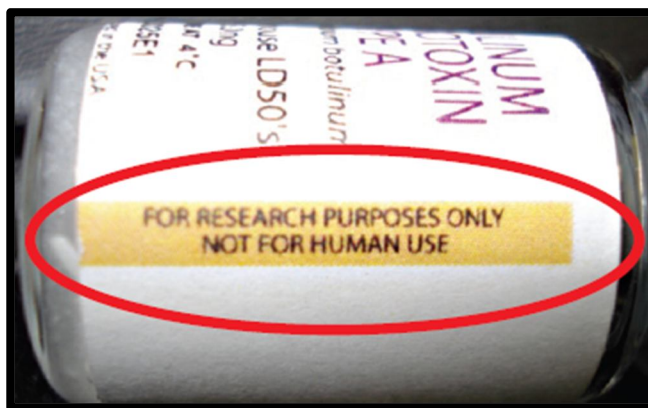


Ilustração 64 - Amostra de preparação de Toxina Botulínica usada apenas com fim investigacional: “For research purposes only not for human use”.¹⁸⁴

Este crime teve como resultado a hospitalização de 4 pessoas por botulismo grave. Deste caso, resultou a detenção do Presidente do TIR, acusado de fraude e adulteração do produto, sendo condenado a 9 anos de prisão. Foram detidos também a mulher do Presidente e o seu sócio, com uma condenação de 6 anos de prisão. Às vítimas foi-lhes dado o direito de indemnização.

Seguem-se outros casos de investigação do OCI.

Tabela 26 – Casos de amostras de Toxina Botulínica investigados pelo Gabinete de Investigação Criminal do FDA¹⁸⁵

Arguido	Delito	Resultados
<u>Gayle Rothenberg, M.D.</u> , trabalhador do “Center for Image Enhancement” localizado em Houston	Aplicação de uma droga não aprovada pelo FDA a 170 pacientes, apresentando-a como BOTOX®.	Acusado de fraude, adulteração do produto, falsas declarações a um agente federal; condenado a 27 meses de prisão (27 de Junho de 2008), com indemnização às vítimas
<u>Mark E. Van Wormer, M.D.</u> , trabalhador da Clínica “GreatSkin” localizada em Albuquerque, N.J.	Aplicação de uma droga, não aprovada pelo FDA apresentando-a como BOTOX®.	Acusado de Fraude, adulteração do produto, adulteração de documentos; condenado a 1 ano e 1 dia de prisão (14, Dezembro de 2007) com indemnização às vítimas
<u>Albert Poet, M.D.</u> , trabalhador no “Stafford Township and Montclair”, localizado em N.J.	Aplicação de uma droga não aprovada pelo FDA, sem consentimento informado dos pacientes.	Acusado de fraude, adulteração do produto; condenado a 14 meses de prisão (28, Setembro de 2007)
<u>Ivyl Wells, M.D.</u> , trabalhador da “Skinovative Laser Center, Boise” localizada em Idaho.	Aplicação de uma droga não aprovada pelo FDA a 200 pacientes, apresentando-a como BOTOX®	Acusado de fraude, adulteração do produto; condenado a 6 meses de prisão, 6 meses de prisão domiciliária e 300 horas de serviço comunitário (11, Dezembro de 2006)
<u>Jerome Lentini, M.D.</u> , trabalhador nas clínicas “A Younger You clinics, Salem and Tigard”; e o seu assistente, Cathryn Garcia,	Aplicação de uma droga não aprovada pelo FDA a 800 pacientes, apresentando-a como BOTOX®	Acusados de adulteração do produto ;Garcia foi condenado a 1 ano de prisão e Lentini a 18 meses de prisão. (11,Dezembro de 2006)

Estes são alguns dos casos criminais referentes à aplicação de substâncias que não são aprovadas, sendo muitos destes os casos capazes de levar à hospitalização de várias vítimas. Alguns destes produtos ainda se encontram em fase de estudo, não devendo ser alvo de utilização humana, pois podem levar a reacções adversas mais problemáticas, podendo mesmo conduzir à morte. Seguem-se outros casos referidos como suspeita da acção da Toxina Botulínica, não podendo ser levados como evidência clínica certa, pelo facto de não passarem de uma suspeita.

Tabela 27 - Casos de suspeita da acção da Toxina Botulínica.¹⁸⁶

Caso	Paciente	Reacções adversas/ Complicações	Resultado das complicações	Droga suspeita
<u>1</u> (05/10/2007)	48 anos, sexo masculino	Pneumonia aspirativa, urticária, derrame pleural, doença de Parkinson, doença arterial oclusiva, arreflexia, perturbação pleural.	Hospitalização	BOTOX® <u>Dosagem:</u> única <u>Indicação:</u> Distonia Cervical/Torcicolo Espasmódico
<u>2</u> (03/04/2009)	40 anos, sexo feminino, 65,8 kg.	Insónia, estado gripal, humor deprimido, choro, ideação suicida.	Não foi hospitalizada	BOTOX® <u>Dosagem:</u> única (22U) <u>Indicação:</u> Rugas faciais
<u>3</u> (01/05/2009)	4 anos, sexo masculino , 18,1 kg.	Não responde a estímulos; encefalite; sonolência; lesão cerebral; morte aparente; decréscimo na taxa respiratória; diminuição do ritmo cardíaco; cegueira cortical; hipotonia; distúrbio do Sistema Nervoso; doença do Sistema Imunitário	Ameaça à vida	BOTOX® Não há mais elementos a relevar.

São alguns os casos divulgados como suspeita nos EUA, tendo o FDA a função de alertar também os indivíduos para possíveis clínicas e espaços de desaconselhável aplicação da Toxina Botulínica, devido à ausência de profissionais qualificados ou ao uso de produtos não aprovados, evitando reacções adversas e complicações graves. Como é visível na tabela acima, estes são alguns casos de pacientes sujeitos à aplicação da Toxina Botulínica, que revelaram mais tarde um quadro clínico que torna a Toxina Botulínica, neste caso a Toxina Botulínica A, a principal suspeita destas reacções adversas. Nesta tabela de casos suspeitos, são várias as reacções adversas coincidentes com as complicações resultantes da acção da Toxina Botulínica, intensificando ainda mais a ligação entre o BOTOX® e o quadro clínico relatado.

Em Portugal, as reacções adversas devem ser comunicadas ao Titular da autorização de introdução do produto no mercado ou/e a qualquer entidade pertencente ao Sistema Nacional de Farmacovigilância, como a Direcção de Gestão do Risco de Medicamento do Infarmed (Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde).

Assim, de forma a avaliar alguns casos notificados em Portugal, o Infarmed e a Direcção de Gestão do Risco do Medicamento forneceu dados de ocorrências que foram relatadas até 16 de Fevereiro de 2011 (Ver anexo).

Tabela 28 – Caso 1 do registo fornecido pelo Infarmed.¹⁸⁷

Caso 1	
<u>Origem da Notificação</u>	Outro Profissional de Saúde
<u>Data da notificação</u>	22/09/1994
<u>Tipo de Notificação</u>	Espontânea
<u>Sexo da Vítima</u>	Feminino
<u>Medicamento suspeito</u>	Dysport®
<u>Substância activa alvo de pesquisa</u>	Toxina Botulínica A
<u>Indicação Terapêutica</u>	Distonia Cervical
<u>Dosagem Alvo</u>	500 U
<u>Gravidade</u>	Gravidade - Incapacitante (temporária ou definitiva)
<u>Reacções Adversas</u>	Distúrbio do Sistema Nervoso, dor no quadrante superior direito, distúrbio muscular
<u>Evolução da Reacção</u>	Cura

Este é um dos casos notificados ao Infarmed, destacando-se como um dos 3 casos notificados até 16 de Fevereiro de 2011. A notificação de todos os casos deu-se de forma espontânea, por parte dos intervenientes.

Neste caso, verifica-se o tratamento de um doente, tendo como indicação terapêutica a Distonia Cervical. A este doente foi inicialmente administrado 500 U de Dysport®, seguindo-se uma 2ª administração com um intervalo de 15 dias (Dezembro de 1992). Posteriormente, em Janeiro de 1993, o doente desenvolveu fraqueza na parte superior direita do membro inferior, dor no pescoço, no braço esquerdo, diminuição da força muscular dos bíceps e deltóide supraespinal e ausência de reflexos nos bíceps direitos, sendo a debilidade muscular e a arreflexia, reacções adversas conhecidas da substância activa Toxina Botulínica. Estas reacções levaram a uma gravidade incapacitante temporária que foi ultrapassada, visto que os dados fornecidos indicam uma total recuperação (cura).

Tabela 29 – Caso 2 do registo fornecido pelo Infarmed.¹⁸⁸

Caso 2	
<u>Origem da Notificação</u>	Outro Profissional de Saúde
<u>Data da notificação</u>	13/11/2003
<u>Tipo de Notificação</u>	Espontânea
<u>Sexo da Vítima</u>	Masculino
<u>Medicamento suspeito</u>	Dysport®
<u>Substância activa alvo de pesquisa</u>	Toxina Botulínica A
<u>Indicação Terapêutica</u>	Espasmo hemifacial
<u>Dosagem Alvo</u>	500 U
<u>Gravidade</u>	Gravidade - Incapacitante (temporária ou definitiva)
<u>Reacções Adversas</u>	Dor abdominal, febre, diarreia, vómitos, distúrbios gastrointestinais.
<u>Evolução da Reacção</u>	Desconhecida

Este 2º caso, apresenta o uso do Dysport® como tratamento para o espasmo hemifacial. Neste caso, o doente apresenta reacções adversas como dor abdominal, febre, diarreia, vômitos, distúrbios gastrointestinais, não sendo fornecidos dados sobre a altura em que começaram a surgir estas reacções. No entanto, estas reacções revelaram-se como incapacitantes, não se sabendo o desfecho das mesmas, tal como indica o parâmetro “Evolução da Reacção”.

Tabela 30 – Caso 3 do registo fornecido pelo Infarmed¹⁸⁹

Caso 3	
<u>Origem da Notificação</u>	Médico
<u>Data da notificação</u>	01/12/2011
<u>Tipo de Notificação</u>	Espontânea
<u>Sexo da Vítima</u>	Feminino
<u>Medicamento suspeito</u>	Dysport®
<u>Substância activa alvo de pesquisa</u>	Toxina Botulínica A
<u>Indicação Terapêutica</u>	Espasticidade (O Dysport® foi usado numa indicação não aprovada)
<u>Dosagem Alvo</u>	2000 U
<u>Gravidade</u>	Gravidade – Outra
<u>Reacções Adversas</u>	Overdose, síndrome miastênico de <i>Lambert-Eaton</i>
<u>Evolução da Reacção</u>	Desconhecida; Em recuperação

Neste 3º caso foi aplicado Dysport® em quantidade excessiva (*overdose*), provocando reacções adversas no doente. O doente foi tratado para uma espasticidade secundária dos membros inferiores derivada de uma esclerose múltipla, vindo mais tarde, a manifestar o síndrome miastênico de *Lambert- Eaton*, doença auto-imune, caracterizada pela fraqueza, debilidade e fadiga dos músculos proximais da zona pélvica, extremidades inferiores, tronco e cintura escapular.

A história deste doente, fornecida pelos registos do Infarmed (ver anexo 1) indica vários tratamentos com Dysport®, sendo que no 3º tratamento ocorreu uma sobredosagem, traduzindo-se na manifestação das reacções adversas relatadas. No 1º e 2º tratamento a dose utilizada foi inferior à registada no 3º tratamento. Apesar disso, o paciente desenvolveu alguma fraqueza muscular que foi alvo de tratamento, sendo eliminada.

Dez dias depois do 3º tratamento, em Setembro de 2010, o doente manifestou o síndrome miastênico, apresentando uma debilidade muscular muito superior à observada depois do 1º e 2º tratamento. Esta reacção adversa apresenta gravidade, apesar de não ser incapacitante, segundo os registos fornecidos. O paciente foi hospitalizado e sujeito a um tratamento com *Mestinon* (Brometo de piridostigmina) e *Lepicortinolo* (Prednisolona), de forma a eliminar a miastenia grave (fraqueza e fadiga muscular). No entanto, não se encontrava recuperado na altura da notificação, sendo que a recuperação seria facilmente alcançada e a hospitalização não seria prolongada por muito mais tempo. Além disso, nos dados fornecidos pelo Infarmed referentes à “Narrativa do caso” (ver anexo 1), indica-se que o Dysport® foi aplicado em excesso neste 3º tratamento (2000 U), sendo que a dose indicada se situa nas 1500 U para o tratamento da espasticidade dos membros inferiores, tal como indica a informação dos registos recebidos.¹⁹⁰

Assim, depois desta reunião de casos, pode-se verificar que as reacções adversas pelo uso de preparações de Toxina Botulínica, podem ser bastante incapacitantes para um ser humano, limitando a sua vida e o seu bem-estar. É a procura de um “Bem”, que pode, em situações extremas, derrubar outro “Bem”, a nossa “Vida”.

Apesar dos casos reportados no nosso país serem poucos, de certeza que haverá alguns que permanecem impunes e apagados pelo tempo.

3. Discussão/Conclusão

Depois deste extenso caminho traçado até aqui, há algo de referência a destacar. Através da reunião de todos os dados deste trabalho, a opinião final é duvidosa e relutante. “Será a Toxina Botulínica algo que valha a pena?”, “Será que a procura do belo, do perfeito, justifica as “pedras” que podem cruzar o nosso caminho?”. Partindo, para um caminho diferente do traçado até aqui, proponho uma visão ética e consciente desta “pérola” da estética.

É impossível não olhar para a Toxina Botulínica como uma mais-valia na nossa sociedade de futilidade e consumismo, visto que é uma das contribuidoras do rejuvenescimento e aperfeiçoamento do mundo. A eliminação de rugas e linhas hipercinéticas da face é realmente a principal aplicação desta toxina, sendo também a aplicação para a qual é mais procurada. A evolução das técnicas e o fácil manuseamento desta Toxina levam a um resultado praticamente seguro, com possíveis resultados positivos. No entanto, não é possível esquecer o facto de esta ser uma toxina extremamente potente e capaz de levar à morte. Certamente motivada por esta razão, o FDA (“Food and Drug Administration”) exige agora uma caixa preta de rotulagem no BOTOX® e em todos os seus similares, de forma a avisar de uma rara, mas potencial complicação com risco de vida, caso a toxina se espalhe além do local da injeção, ou seja caso ocorra difusão do produto. O aviso da caixa negra é o mais forte emitido pela FDA. Esta medida foi tomada devido ao estudo do “Consumer Watchdog” grupo “Public Citizen” que revisou os dados do FDA e descobriu que a agência recebeu relatórios de 180 casos nos EUA de pessoas que desenvolvem várias condições (por vezes com risco de vida), incluindo insuficiência respiratória, após ter recebido injeções de Toxina Botulínica (toxina tipo A e B), sendo que a maioria das hospitalizações e mortes ocorre em crianças que realizam tratamento para a paralisia cerebral, tendo como principal causa a sobredosagem. São assim várias as reacções adversas em questão, que podem conduzir a caminhos fatais.

A Toxina Botulínica tem sempre riscos no seu uso, mas estes podem ser quase eliminados com a realização de aplicações por pessoal especializado, seguindo as normas dos produtos comercializados, cingindo-se às indicações terapêuticas e doses recomendadas, aplicando de forma cuidada, informada, consentida, descrevendo a cada doente as complicações que esta aplicação pode trazer.

A responsabilidade é um conceito muito importante a destacar nestes casos, visto que se existir um dano, a responsabilidade civil terá de ser atribuída. É importante referir que a Medicina Estética exige obrigação de resultados e não de meios, visto que neste caso o cliente não está doente, procurando apenas a correcção de uma imperfeição ou a melhoria da sua aparência.

Por outro lado, quando a Toxina Botulínica é aplicada à terapêutica representa uma obrigação de meio na relação contratual médico-paciente, ligado a um estado de necessidade ou a uma condição terapêutica. No entanto, se em qualquer circunstância o Médico assegurar ao paciente que lhe devolverá integralmente as funções, aí compromete-se com uma “obrigação de resultado”, tendo isto relevância a nível jurídico e importância na atribuição de responsabilidade. Pode haver responsabilidade civil sem culpa, mas não pode haver responsabilidade civil sem dano, sendo o dano o “elemento constitutivo da responsabilidade civil que não pode existir sem ele, caso contrário, nada haveria a reparar”¹⁹¹

O dano estético pode ser aplicado na lesão da beleza, tendo maior destaque na Medicina Estética, avaliando uma modificação sofrida em relação ao que a pessoa apresentava anteriormente. No entanto, o dano estético exige que a lesão que modificou a pessoa seja duradoura, não se podendo noutro caso falar de dano estético propriamente dito (dano moral), mas em atentado reparável à integridade física ou lesão estética passageira, que se resolve em perdas e danos habituais.¹⁹² No caso de lesões simples, o médico deve indemnizar o seu cliente nas despesas de tratamento e nos lucros cessantes até ao fim da convalescença. Por outro lado, ocorrendo uma deformidade, esta responsabilidade será acrescida. Assim, neste caso, passando a ofensa a ser também de ordem moral, além das verbas relativas às despesas hospitalares anteriores e posteriores (caso seja necessário tratamento), a vítima terá de ter uma indemnização a título de dano estético, em virtude da ofensa a um dos direitos da personalidade, o direito à integridade física. Isto poderá acontecer na aplicação da Toxina Botulínica quando as reacções adversas/complicações registadas atingem um nível elevado de gravidade, podendo esta resultar numa incapacidade temporária ou mais duradoura, tal como foi referido nos casos demonstrativos e cedidos pelo Infarmed.

Além do risco que esta toxina acarreta, também apresenta a necessidade do pagamento de uma quantia significativa, que não está ao alcance de todos, sendo necessárias novas aplicações depois de cerca de 6 meses, altura em que o efeito desta toxina já quase desapareceu. No entanto, apesar das precauções a ter com esta toxina é principalmente com o seu uso adequado, que esta traz benefícios relevantes a nível terapêutico e estético, que reduzem a morbilidade em comparação com uma cirurgia.

Reunindo, todas as informações presentes neste trabalho, descritas com a intenção de uma melhor compreensão de toda a dinâmica e toda envolvimento da Toxina Botulínica, pode concluir-se que as preparações comercializadas de Toxina Botulínica utilizadas com fim estético ou terapêutico, apresentam um avanço considerável na Medicina estética e terapêutica, podendo contribuir para a melhoria da qualidade de vida de muitos indivíduos. Tudo isto está ligado a precauções que devem ser tomadas, a protocolos que devem ser seguidos, a normas e indicações que devem ser respeitadas, a doses que devem ser cumpridas com rigor, com a experiência e conhecimento de um profissional qualificado. Cumprindo todos estes pontos cruciais, a aplicação da Toxina Botulínica só poderá ser vantajosa.

Talvez, uma boa forma de combater as aplicações incorrectas deste produto por profissional não qualificado, fosse a denúncia de Centros de Estética não qualificados que prometem por preços aliantes o rejuvenescimento de uma face que pode ficar danificada.

4. Anexos:

Tabela 31 – Informação das reacções adversas recebidas no Sistema Nacional de Farmacovigilância aos medicamentos com a substância activa toxina botulínica.¹⁹³

CASOS	Caso 1	Caso 2	Caso 3
ORIGEM_NOTIFICACAO	Outro Profissional de Saúde	Outro Profissional de Saúde	Médico
DATA_RECEPCAO_INICIAL	1994/09/22	2003/11/13	2011/01/12
MED_SUSP_INTERACTING ALVO_PESQ	Dysport - Suspeito	Dysport - Suspeito	DYSPOORT - Suspeito
DCI_MEDS_ALVO_PESQUISA	Botulinum toxin A (Dysport);	Botulinum toxin A (Dysport);	(DYSPOORT);
SUBST_ACTIVIA_ALVOPESQ	Toxina botulínica A (Dysport)	Toxina botulínica A (Dysport)	BOTULINUM TOXIN TYPE A (DYSPOORT)
INDIC_TERAP_MED_ALVO_PESQ	Idiopathic torsion dystonia	Hemifacial spasm	
ESTADO_APROV_MEDS_ALVO_PESQ	(DYSPOORT: Autorizado);	(DYSPOORT: Autorizado);	(DYSPOORT);
FORMA_FARMACEUTICA_ALVO_PESQ	Powder for solution for injection	Powder for solution for injection	
DOSAGEM_ALVO_PESQ	500 U	500 U	2000 U
DOSE_DIARIA	U.I. Unidade Internacional		
Dose (Numero)	400 U.I. Unidade Internacional		
TODOS_MED_SUSP_INTERACTING	Dysport - Suspeito	Dysport - Suspeito	DYSPOORT - Suspeito
INDIC_TERAP_MED_TODOS	Idiopathic torsion dystonia	Hemifacial spasm	Muscle spasticity; Drug use for unapproved indication
MED_CONCOMITANTE			
GRAVIDADE_REAC	S	S	S
CRITERIO_GRAVIDADE_REACCAO	Gravidade - Incapacitante (temporária ou definitiva)	Gravidade - Incapacitante (temporária ou definitiva)	Gravidade - Outra

Tabela 32 - Informação das reacções adversas recebidas no Sistema Nacional de Farmacovigilância aos medicamentos com a substância activa toxina Botulínica. ¹⁹⁴

CASOS	Caso 1	Caso 2	Caso 3
MEDRALLT_REACÇÃO	Neurologic disorder NOS; Pain right upper quadrant; Muscle disorder	Abdominal pain; Fever; Diarrhoea; Vomiting; Gastrointestinal disorder NOS; Gastrointestinal disturbance	Overdose; Myasthenic syndrome
MEDRAPT_REACÇÃO	Nervous system disorder; Muscle disorder; Abdominal pain upper	Abdominal pain; Gastrointestinal disorder; Vomiting; Pyrexia; Diarrhoea; Gastrointestinal disorder	Overdose; Myasthenic syndrome
INICIO_REACÇÃO	1993/01; 1993/01; 1993/01		2010/09
FIM_REACÇÃO			
EVOLUCAO_REACÇÃO	Cura	Desconhecida	Desconhecida; Em recuperação
EVOLUÇÃO_CASO	Cura	Desconhecida	
IDADE			
SEXO	F	M	F
HISTÓRIA_CLINICA			10028245
HISTÓRIA_FARMACOLOGICA			
TIPO_NOTIFICAÇÃO	Espontâneo	Espontâneo	Espontâneo
COMENTÁRIOS DO REMETENTE			The patient received 2000 units of Dysport, in excess of the maximum recommended dose (1500 units) per CCSI for spasticity of the lower limb. The event "myasthenic syndrome" is compatible with the mechanism of action of the toxin, and the latency period (10 days) suggests a possible causal relationship to treatment. Generalised weakness is listed for Dysport. Multiple sclerosis is a confounding factor.

Tabela 33 – Narrativa completa dos casos associados às reacções adversas recebidas no Sistema Nacional de Farmacovigilância aos medicamentos com a substância activa toxina Botulínica.¹⁹⁵

CASOS	NARRATIVA COMPLETA DO CASO
Caso 1	Doente tratado com Dysport (1ª administração 500U e 400U na 2ª com intervalo de 15 dias) para distonia cervical em 12/92. Em 01/93 desenvolve fraqueza na parte superior direito do membro inferior, dor no pescoço e braço esquerdo, diminuição da força muscular dos bíceps e deltóide supraespinal, ausência de reflexos nos bíceps direitos (Caso descrito na literatura) <u>Outcome</u> : cura.
Caso 2	Severe gi disturbances; Abdominal pain; Vomiting; Diarrhoea; Fever; <u>Event</u> : severe gi disturbances; <u>Outcome</u> : unknown; <u>Seriousness</u> : daily activity impaired/disability; unexpected event; <u>Causality</u> : possible; <u>Source</u> : spontaneous notification; <u>Country</u> : Portugal; Onset of severe gastrointestinal disturbances associated with nausea, vomiting, fever and abdominal pain in a male patient treated with Dysport for hemifacial dystonia. Possibly related to Dysport however case poorly documented. Fu expected.
Caso 3	<u>Events</u> : Overdose; Myasthenic syndrome <u>Outcome</u> : Recovering/resolving <u>Seriousness as per reporter</u> : Serious (medically important) <u>Seriousness as per company</u> : Serious (medically important) <u>Causality as per reporter</u> : Not reported (both) <u>Causality as per company</u> : Related (both) <u>Expectedness</u> : Listed (myasthenic syndrome); Unlisted (Overdose) <u>Source</u> : Spontaneous (Physician) <u>Country</u> : Portugal This spontaneous report was received from a physician and it concerned a female patient of unspecified age. Apart from multiple sclerosis, no other medical history or details of any concomitant medications were provided. On an unspecified date, the patient received her third cycle of Dysport (botulinum toxin type A) with a total of 2000 units administered into the adductor muscles for the treatment of spasticity secondary to multiple sclerosis. It should be noted that the maximum recommended dose of Dysport for lower limb spasticity is 1500 units. It was further reported that the patient had previously received two cycles of Dysport, albeit at lower doses (not specified), without any improvement, and also experienced excessive fatigue, for which she was treated with an unspecified corticoid. At the beginning of September 2010 (exact date not provided but it was about 10 days after receiving the third cycle of Dysport), the patient developed myasthenic syndrome, which was described as being more severe and complex than with the previous two treatments. The patient was treated with Mestinon (pyridostigmine bromide) and later Lepicortinolo (prednisolone). At the time of reporting, the patient had almost, but not completely, recovered from the event (myasthenic syndrome). The reporter considered the event of myasthenic syndrome to be medically important. It was further reported that at the time of onset of the event the patient was in hospital but the reporter did not consider the event to have prolonged the hospitalization. The reporter did not provide any formal assessment of assessment of causality between the event of myasthenic syndrome and treatment with Dysport. Limited information was provided. Further information has been requested and if received the case will be updated as appropriate.

5. Bibliografia

-
- ¹ Ting P.; Freiman A.; "The story of Clostridium botulinum: from food poisoning to Botox"-review, Clin Med, vol 4, 2004, pg 258–261: pg 258.
- ² Panicker J. N.; Muthane U. B.; Botulinum toxin: Pharmacology and its current therapeutic evidences for use, Department of Neurology, India, vol 51 (4), 2003, pg 455-46: pg 455.
- ³ Justinius Kerner und das Kernerhaus zu Weinsberg, Gedenkblätter aus des Dichters Leben. Mit drei artistischen Beilagen.
- ⁴ Ting P.; Freiman A.; "The story of Clostridium botulinum: from food poisoning to Botox"-review, Clin Med, vol 4, 2004, pg 258–261: pg 259.
- ⁵ Clostridium Botulinum, http://pt.wikipedia.org/wiki/Clostridium_botulinum, Wikipédia, visualizado em 3 de Junho de 2011.
- ⁶ Cooper G.; Therapeutic uses of Botulinum Toxin, Humana Press Inc., NJ, EUA, cap 1, 2007, pg 1.
- ⁷ Abnormal Cancer Rates at Fort Detrick Tied to Monsanto's Agent Orange, <http://www.salem-news.com/articles/january062011/fort-detrick-tk.php>, aceso em 6 de Janeiro de 2011.
- ⁸ Ting P.; Freiman A.; "The story of Clostridium botulinum: from food poisoning to Botox"-review, Clin Med, vol4, 2004, pg 258–261.
- ⁹ Benedetto V. A.; Botulinum Toxin in Clinical Dermatology, Filadélfia – EUA, Taylor & Francis, cap 1: Pharmacology, immunology and current developments, 2006, pg 17.
- ¹⁰ Moguel-Ancheita S.; Tratamiento del estrabismo con toxina Botulínica, Centro Médico Nacional ISSSTE, Revista mexicana de pediatria, vol. 67(4), Jul.-Ago. 2000, pg 166-171.
- ¹¹ Ting P.; Freiman A.; "The story of Clostridium botulinum: from food poisoning to Botox"-review, Clin Med, vol 4, 2004,pg 258–261 ,pg 260.
- ¹² Ting P.; Freiman A.; "The story of Clostridium botulinum: from food poisoning to Botox"-review, Clin Med, vol 4, 2004, pg 258–261, pg 258.
- ¹³ Romero Cabello R.; Microbiologia e Parasitologia Humana, Editorial Médica Panamericana, México, 3ª edição, 2007, pg 952.
- ¹⁴ Farmaceutico On-Line, Uma revisão sobre a toxina Botulínica, <http://farmaceuticoonline.blogspot.com/2008/01/uma-revisao-sobre-toxina-botulnica.html>, 20 de janeiro de 2008, visualizado em 20 de Agosto de 2011.
- ¹⁵ Ting P.; Freiman A.; "The story of Clostridium botulinum: from food poisoning to Botox"-review, Clin Med, vol4, 2004, pag 258–261:pag 258.
- ¹⁶ Aoki K. R.; "Pharmacology and immunology of botulinum toxin serotypes", J Neurol. 2001; 248(Supp 1):pg 3-10.
- ¹⁷ Montecucco C.; Tonello F.; Bontoxilysin. In: Handbook of Proteolytic Enzymes. Academy Press, NY-NY, cap. 510, 1998, pg1-5.
- ¹⁸ Borodic G.; Johnson E.; Goodnough M.; Schantz E.; Botulinum toxin therapy, immunologic resistance, and problems with available materials, Neurology, vol 46(1), 1996, pag 26-29.

-
- ¹⁹ . Mello Sposito M.; Toxina botulínica tipo A - propriedades farmacológicas e uso clínico, ACTA FISIÁTR., Spp 01, 2004, pg S9.
- ²⁰ <http://www.unirio.br/farmacologia/miniteste%20farmaco/texto%20para%20o%20ED%20-%20TOXINA%20BOTUL%C3%8DNICA.pdf> com recurso aos links: www.cdc.org - Center disease control; <http://www.botox.com>; <http://www.myobloc.com/index.html>; <http://www.hosprract.com>; <http://www.emea.org>.
- ²¹ Mello Sposito M.; Toxina botulínica tipo A - propriedades farmacológicas e uso clínico, ACTA FISIÁTR., Sppl 1, 2004, pg S10.
- ²² . Boldt G. E.; KennedyJ. P.; Janda K. D.; Identification of a potent botulinum neurotoxin A protease inhibitor using in situ lead identification chemistry, Departments of Chemistry and Immunology, The Skaggs Institute for Chemical Biology, and Worm, EUA,; vol 8(8), 2006 April 13, pg 1729–1732: pg 1.
- ²³ Mello Sposito M.; Toxina botulínica tipo A - propriedades farmacológicas e uso clínico, ACTA FISIÁTR., Sppl 1, 2004, pg S10.
- ²⁴ Aoki K. R.; Pharmacology and immunology of botulinium toxin serotypes, J Neurol.; vol 248(Suppl 1), 2001, pag 3 -10.
- ²⁵ Boldt G. E.; KennedyJ. P.; Janda K. D.; Identification of a potent botulinum neurotoxin A protease inhibitor using in situ lead identification chemistry, Departments of Chemistry and Immunology, The Skaggs Institute for Chemical Biology, and Worm, EUA, vol 8(8), 2006, pg 1729–1732: pg 2.
- ²⁶ Göschel H.; Wohlfarth K.; Frevert J.; Dengler R.; Bigalke H.;. Botulinum A toxin therapy: neutralizing and nonneutralizing antibodies- Therapeutic consequences. Exp Neurol, vol147(1), 1997, pg 96-102.
- ²⁷ Hambleton P.; Clostridium Botulinum toxins: a general review of involvement in disease, structure, mode of action and preparation for clinical use, J Neurol., vol 239, 1992, pg 16 - 20.
- ²⁸ Mello Sposito M.; Toxina botulínica tipo A - propriedades farmacológicas e uso clínico, ACTA FISIÁTR., Spp 01, 2004, pg S10.
- ²⁹ Seeley Stephens Tate, Anatomia e Fisiologia, Lisboa, Lusodidacta, 3ª edição, cap 12, 1997, pg 384.
- ³⁰ Seeley Stephens Tate, Anatomia e Fisiologia, Lisboa, Lusodidacta, 3ª edição, cap 12, 1997, pg 384.
- ³¹ Seeley Stephens Tate, Anatomia e Fisiologia, Lisboa, Lusodidacta, 3ª edição, cap 15,Quadro 16-2, 1997, pg 542.
- ³² Seeley Stephens Tate, Anatomia e Fisiologia, Lisboa, Lusodidacta, 3ª edição, cap 15, 1997,pg 548.
- ³³ Seeley Stephens Tate, Anatomia e Fisiologia, Lisboa, Lusodidacta, 3ª edição, cap 12, 1997, pg 394.
- ³⁴ Seeley Stephens Tate, Anatomia e Fisiologia, Lisboa, Lusodidacta, 3ªedição, cap 15, 1997, pg 549.

-
- ³⁵ Seeley Stephens Tate, Anatomia e Fisiologia, Lisboa, Lusodidacta, 3ª edição, cap 12, 1997, pg 397.
- ³⁶ Seeley Stephens Tate, Anatomia e Fisiologia, Lisboa, Lusodidacta, 3ª edição, cap 12, 1997, pg 398.
- ³⁷ . Mello Sposito M.; Toxina botulínica tipo A - propriedades farmacológicas e uso clínico, ACTA FISIÁTR., Sppl 01, 2004, pg S12.
- ³⁸ Mello Sposito M, Toxina botulínica tipo A - propriedades farmacológicas e uso clínico, ACTA FISIÁTR., Sppl 01, 2004, pg S12.
- ³⁹ Livro prof –pg 291 XXXXXX
- ⁴⁰ Mello Sposito M.; Toxina botulínica tipo A - propriedades farmacológicas e uso clínico, ACTA FISIÁTR.; Sppl 01, 2004, pg S11-12
- ⁴¹ Dover J. S.; Kaminer M. S.;Kenneth A. A.; Atlas of Cosmetic Surgery, W.B. Sanders Company, EUA, cap17 (1), pg 291.
- ⁴² Cooper G.; Therapeutic uses of Botulinum Toxin, Humana Press Inc, NJ, EUA, cap 1, 2007, pg 5.
- ⁴³ Mello Sposito M.; Toxina botulínica tipo A - propriedades farmacológicas e uso clínico, ACTA FISIÁTR., Spp 01, 2004, pg S11-12.
- ⁴⁴ Benedetto V. A.; "Botulinum Toxin in Clinical Dermatology", Filadélfia – EUA, Taylor & Francis, cap 1: Pharmacology, immunology and current developments, 2006, pg 24.
- ⁴⁵ Quagliato E, Bang G, Botelho L A, Gianini M A C, Spósito M M, Lianza S - Associação Brasileira de Medicina Física e Reabilitação, Espasticidade: Tratamento Medicamentoso, Projecto de Diretrizes, Novembro de 2009, pg 1-17.
- ⁴⁶ Dover J. S.; Kaminer M. S.;Kenneth A. A.; Atlas of Cosmetic Surgery, W.B. Sanders Company, EUA, cap17 (1), pg 292.
- ⁴⁷ <http://www.unirio.br/farmacologia/miniteste%20farmaco/texto%20para%20o%20ED%20-%20TOXINA%20BOTUL%C3%8DNICA.pdf> com recurso aos links: www.cdc.org - Center disease control; <http://www.botox.com>; <http://www.myobloc.com/index.html>; <http://www.hosppract.com>; <http://www.emea.org>.
- ⁴⁸ Panicker J. N.; Muthane U.B.; Botulinum toxins: Pharmacology and its current therapeutic evidence for use, Department of Neurology, India, vol 53,2003, pg 455-460: pg 458.
- ⁴⁹ . Mello Sposito M.; Toxina botulínica tipo A - propriedades farmacológicas e uso clínico, ACTA FISIÁTR., Spp 01, 2004, pg S11-12.
- ⁵⁰ Mello Sposito M.; Toxina botulínica tipo A - propriedades farmacológicas e uso clínico, ACTA FISIÁTR., Spp 01, 2004, pg S12.
- ⁵¹ Wiegand H.; Erdmann G.; Wellhoner H. H.;I-labelled botulinum A neurotoxin: pharmacokinetics in cats after intramuscular injection. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol., vol 292(2), 1976, pg 161-165.
- ⁵² Mello Sposito M.; Toxina botulínica tipo A - propriedades farmacológicas e uso clínico, ACTA FISIÁTR., Spp 01, 2004, pg S13.

-
- ⁵³ Aoki K. R.; et al.; Pharmacology of BOTOX (botulinum toxin type A) purified neurotoxin complex: Local versus systemic muscle activity measurements in mice. *Eur J Neurol*, 2, 1995, pg 3-9.
- ⁵⁴ Matarasso S. L.; The role of clostridium botulinum: a neurotoxin in clinical dermatology, *West J Med*, vol 169 (4), 1998, pg 226.
- ⁵⁵ Jeffrey Hsu T. S.; Effect of Volume and Concentration on the Diffusion of Botulinum Exotoxin A, *Arch Dermatol*, vol 140, 2004, pg 1351-1354: pg 1353.
- ⁵⁶ Lipham W. L.; *Cosmetic and Clinical Applications of Botox and Dermal Fillers*, SLACK Incorporated, EUA, 2ª edição, cap 4, pg 23.
- ⁵⁷ Lipham W. L.; *Cosmetic and Clinical Applications of Botox and Dermal Fillers*, SLACK Incorporated, EUA, 2ª edição, cap 4, pg 23.
- ⁵⁸ Lipham W. L.; *Cosmetic and Clinical Applications of Botox and Dermal Fillers*, SLACK Incorporated, EUA, 2ª edição, cap 4, pg 24.
- ⁵⁹ Dover J. S.; Kaminer M. S.; Kenneth A. A.; *Atlas of Cosmetic Surgery*, W.B. Sanders Company, EUA, cap17 (2), pg 294.
- ⁶⁰ Dover J. S.; Kaminer M. S.; Kenneth A. A.; *Atlas of Cosmetic Surgery*, W.B. Sanders Company, EUA, cap17 (1), pg 292.
- ⁶¹ Lipham W. L.; *Cosmetic and Clinical Applications of Botox and Dermal Fillers*, SLACK Incorporated, EUA, 2ª edição, cap 4, pg 24.
- ⁶² Dover J. S.; Kaminer M. S.; Kenneth A. A.; *Atlas of Cosmetic Surgery*, W.B. Sanders Company, EUA, cap 17 (2), pg 294-295.
- ⁶³ Lipham W. L.; *Cosmetic and Clinical Applications of Botox and Dermal Fillers*, SLACK Incorporated, EUA, 2ª edição, cap 4, pg 24.
- ⁶⁴ Lipham W. L.; *Cosmetic and Clinical Applications of Botox and Dermal Fillers*, SLACK Incorporated, EUA, 2ª edição, cap 4, pg 24.
- ⁶⁵ Lipham W. L.; *Cosmetic and Clinical Applications of Botox and Dermal Fillers*, SLACK Incorporated, EUA, 2ª edição, cap 4, pg 24.
- ⁶⁶ Brenner R.; Madhusoodanan S.; Korn Z.; Spitzer M.; Acute anxiety and depression induced by loss of sensation and muscle control after botulinum toxin A injection (letter). *South Med J*, vol 92 (7), 1999, pg 738.
- ⁶⁷ Madeira M. C.; *Anatomia Facial com Fundamentos de Anatomia Sistemica Geral*, Sarvier, 2ª edição, cap 6, pg 84.
- ⁶⁸ Huang W.; Rogachefsky A. S.; Fostr J A. Browlift with botulinum toxin. *Dermatol Surg.*, vol 26(1), 2000, pg 56-60.
- ⁶⁹ Huang W.; Rogachefsky A. S.; Fostr J A. Browlift with botulinum toxin. *Dermatol Surg.*, vol 26(1), 2000, pg 56-60.
- ⁷⁰ Huang W.; Rogachefsky A. S.; Fostr J A. Browlift with botulinum toxin. *Dermatol Surg.*, vol 26(1), 2000, pg 56-60.
- ⁷¹ Madeira M. C.; *Anatomia Facial com Fundamentos de Anatomia Sistemica Geral*, Sarvier, 2ª edição, cap 6, pg 85.

-
- ⁷² Huang W.; Rogachefsky A. S.; Fostr J. A.; Browlift with botulinum toxin, *Dermatol Surg.*, vol 26(1), 2000, pg 56-60.
- ⁷³ Huang W.; Rogachefsky A. S.; Fostr J. A.; Browlift with botulinum toxin, *Dermatol Surg.*, vol 26(1), 2000, pg 56-60.
- ⁷⁴ Mello Sposito M.; Toxina botulínica tipo A - propriedades farmacológicas e uso clínico, *ACTA FISIÁTR.*, Spp 01, 2004, pg S15.
- ⁷⁵ Mello Sposito M.; Toxina botulínica tipo A - propriedades farmacológicas e uso clínico, *ACTA FISIÁTR.*, Spp 01, 2004, pg S13.
- ⁷⁶ Eser O.; Yaman M.; Cosar E.; Konak A.; Cosar M.; Sahin O.; Does Botox effect neural tube development in early chick embryos?, *Turquia, Eur Spine J*, vol 16, 2007, pg 235-238:pg 237.
- ⁷⁷ Morgan J. C.; Iyer S. S.; Moser E. T.; Singer C.; Sethi K. D.; Botulinum toxin A during pregnancy: a survey of treating physicians, *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, vol 77, 2006, pg 117-119.
- ⁷⁸ Morgan J. C.; Iyer S. S.; Moser E. T.; Singer C.; Sethi K. D.; Botulinum toxin A during pregnancy: a survey of treating physicians, *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, vol 77, 2006, pg 117-119.
- ⁷⁹ Morgan J. C.; Iyer S. S.; Moser E. T.; Singer C.; Sethi K. D.; Botulinum toxin A during pregnancy: a survey of treating physicians, *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, vol 77, 2006, pg 117-119.
- ⁸⁰ Morgan J. C.; Iyer S. S.; Moser E. T.; Singer C.; Sethi K. D.; Botulinum toxin A during pregnancy: a survey of treating physicians, *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, vol 77, 2006, pg 117-119.
- ⁸¹ Shetty M. K.; Guidelines on the use of botulinum toxin type A, *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, Supp 2008, pg S13-S22:pg S14.
- ⁸² Shetty M. K.; Guidelines on the use of botulinum toxin type A, *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, Supp 2008, pg S13-S22:pg S14.
- ⁸³ Shetty M. K.; Guidelines on the use of botulinum toxin type A, *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, Supp 2008, pg S13-S22:pg S14.
- ⁸⁴ Dover J. S.; Kaminer M. S.; Kenneth A. A.; *Atlas of Cosmetic Surgery*, W.B. Sanders Company, EUA, cap17 (2), pg 295.
- ⁸⁵ Shetty M. K.; Guidelines on the use of botulinum toxin type A, *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, Supp2008, pg S13-S22:pag S15.
- ⁸⁶ Rapp D. E.; Lucioni A.; Bales G. T.; Botulinum Toxin Injection: A Review of Injection Principles and Protocols, *Section of Urology, Department of Surgery, University of Chicago Hospitals, Chicago, Illinois, USA*, Vol. 33 (2), March - April, 2007, pg 132-141: pg 134-135.
- ⁸⁷ Shetty M. K.; Guidelines on the use of botulinum toxin type A, *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, Supp2008, pg S13-S22:pg S15.
- ⁸⁸ Lipham W. L.; *Cosmetic and Clinical Applications of Botox and Dermal Fillers*, SLACK Incorporated, EUA, 2ª edição, cap 4, pg 26.

-
- ⁸⁹ Lipham W. L.; *Cosmetic and Clinical Applications of Botox and Dermal Fillers*, SLACK Incorporated, EUA, 2ª edição, cap 4, pg 26.
- ⁹⁰ Shetty M. K.; *Guidelines on the use of botulinum toxin type A*, Indian J Dermatol Venereol Leprol, Supp2008, pg S13-S22:pg S15.
- ⁹¹ Dover J. S.; Kaminer M. S.; Kenneth A. A.; *Atlas of Cosmetic Surgery*, W.B. Sanders Company, EUA, cap17 (2), pg 296.
- ⁹² Dover J. S.; Kaminer M. S.; Kenneth A. A.; *Atlas of Cosmetic Surgery*, W.B. Sanders Company, EUA, cap17 (2), pg 297.
- ⁹³ Dover J. S.; Kaminer M. S.; Kenneth A. A.; *Atlas of Cosmetic Surgery*, W.B. Sanders Company, EUA, cap17 (2), pg 297.
- ⁹⁴ Shetty M. K.; *Guidelines on the use of botulinum toxin type A*, Indian J Dermatol Venereol Leprol, Supp2008, S13-S22:pg S15-18.
- ⁹⁵ Shetty M. K.; *Guidelines on the use of botulinum toxin type A*, Indian J Dermatol Venereol Leprol, Supp2008, S13-S22:pg S15-18.
- ⁹⁶ Bassichis B. A.; Regan Thomas J.; *The use of Botox to treat glabellar rhytids*, Department of Otolaryngology - Head and Neck Surgery, University of Illinois, Chicago, EUA, 2003, pg 453– 456: pg454.
- ⁹⁷ Dover J. S.; Kaminer M. S.; Kenneth A. A.; *Atlas of Cosmetic Surgery*, W.B. Sanders Company, EUA, cap17 (2), pg 299.
- ⁹⁸ Dover J. S.; Kaminer M. S.; Kenneth A. A.; *Atlas of Cosmetic Surgery*, W.B. Sanders Company, EUA, cap17 (2), pg 298.
- ⁹⁹ Dover J. S.; Kaminer M. S.; Kenneth A. A.; *Atlas of Cosmetic Surgery*, W.B. Sanders Company, EUA, cap17 (2), pg 300.
- ¹⁰⁰ Dover J. S.; Kaminer M. S.; Kenneth A. A.; *Atlas of Cosmetic Surgery*, W.B. Sanders Company, EUA, cap17 (2), pg 300.
- ¹⁰¹ Lipham W. L.; *Cosmetic and Clinical Applications of Botox and Dermal Fillers*, SLACK Incorporated, EUA, 2ª edição, cap 3, pg 15.
- ¹⁰² Lipham W. L.; *Cosmetic and Clinical Applications of Botox and Dermal Fillers*, SLACK Incorporated, EUA, 2ª edição, cap 3, pg 13.
- ¹⁰³ Bosniak S L, *Minimally invasive techniques of oculofacial rejuvenation*, Thieme, capítulo 24, 2004.
- ¹⁰⁴ Dover J. S.; Kaminer M. S.; Kenneth A. A.; *Atlas of Cosmetic Surgery*, W.B. Sanders Company, EUA, cap17 (2), pg 300.
- ¹⁰⁵ Lipham W. L.; *Cosmetic and Clinical Applications of Botox and Dermal Fillers*, SLACK Incorporated, EUA, 2ª edição, cap 3, pg 12.
- ¹⁰⁶ Lipham W. L.; *Cosmetic and Clinical Applications of Botox and Dermal Fillers*, SLACK Incorporated, EUA, 2ª edição, cap 3, pg 13.
- ¹⁰⁷ Lipham W. L.; *Cosmetic and Clinical Applications of Botox and Dermal Fillers*, SLACK Incorporated, EUA, 2ª edição, cap 3, pg 13.

-
- ¹⁰⁸ Dover J. S.; Kaminer M. S.; Kenneth A. A.; Atlas of Cosmetic Surgery, W.B. Sanders Company, EUA, cap17 (2), pg 302.
- ¹⁰⁹ Dover J. S.; Kaminer M. S.; Kenneth A. A.; Atlas of Cosmetic Surgery, W.B. Sanders Company, EUA, cap17 (2), pg 303.
- ¹¹⁰ Dover J. S.; Kaminer M. S.; Kenneth A. A.; Atlas of Cosmetic Surgery, W.B. Sanders Company, EUA, cap17 (2), pg 303.
- ¹¹¹ Dover J. S.; Kaminer M. S.; Kenneth A. A.; Atlas of Cosmetic Surgery, W.B. Sanders Company, EUA, cap17 (2), pg 303.
- ¹¹² Lipham W. L.; Cosmetic and Clinical Applications of Botox and Dermal Fillers, SLACK Incorporated, EUA, 2ª edição, cap 3, pg 18.
- ¹¹³ Lipham W. L.; Cosmetic and Clinical Applications of Botox and Dermal Fillers, SLACK Incorporated, EUA, 2ª edição, cap 3, pg 18.
- ¹¹⁴ Benedetto V. A. ;"Botulinum Toxin in Clinical Dermatology", Filadélfia – EUA, Taylor & Francis, Capítulo 5: Cosmetic uses of botulinum toxin a in the lower face, neck and upper chest, 2006, pg 219.
- ¹¹⁵ Bosniak S L, Minimally invasive techniques of oculofacial rejuvenation ,Thieme, capítulo 24, 2004.
- ¹¹⁶ Benedetto V. A. ;"Botulinum Toxin in Clinical Dermatology", Filadélfia – EUA, Taylor & Francis, Cap 5: Cosmetic uses of botulinum toxin a in the lower face, neck and upper chest, 2006, pag 233.
- ¹¹⁷ Benedetto V. A. ; "Botulinum Toxin in Clinical Dermatology", Filadélfia – EUA, Taylor & Francis, Cap 5: Cosmetic uses of botulinum toxin a in the lower face, neck and upper chest, 2006, pag 234.
- ¹¹⁸ Benedetto V. A. ; "Botulinum Toxin in Clinical Dermatology", Filadélfia – EUA, Taylor & Francis, Cap 5: Cosmetic uses of botulinum toxin a in the lower face, neck and upper chest, 2006, pag 232.
- ¹¹⁹ Benedetto V. A. ;"Botulinum Toxin in Clinical Dermatology", Filadélfia – EUA, Taylor & Francis, Cap 5: Cosmetic uses of botulinum toxin a in the lower face, neck and upper chest, 2006, pag 234.
- ¹²⁰ Benedetto V. A.;,"Botulinum Toxin in Clinical Dermatology", Filadélfia – EUA, Taylor & Francis, Cap 5: Cosmetic uses of botulinum toxin a in the lower face, neck and upper chest, 2006, pag 240.
- ¹²¹ Dover J. S.; Kaminer M. S.; Kenneth A. A.; Atlas of Cosmetic Surgery, W.B. Sanders Company, EUA, cap17 (2), pg 305.
- ¹²² Dover J. S.; Kaminer M. S.; Kenneth A. A.; Atlas of Cosmetic Surgery, W.B. Sanders Company, EUA, cap17 (2), pg 305.
- ¹²³ Papel I D; Facial Plastic and Reconstructive Surgery, Thieme, 3ª edição, 2009, pg 342.
- ¹²⁴ Laskawi R.; Review Open Access -The use of botulinum toxin in head and face medicine: an interdisciplinary field, Alemanha, Head & Face Medicine 2008, vol 4, (5),pg 1-8: pg 3.

-
- ¹²⁵ Benedetto V. A. ; "Botulinum Toxin in Clinical Dermatology", Filadélfia – EUA, Taylor & Francis, Cap 4: Cosmetic uses of botulinum toxin a in the mid face, 2006, pg 172.
- ¹²⁶ Londono E. R.; Azevedo Barbosa M. A.; Stillitano de Orgaes F. A.; Oliveira Ruiz R.; Aleardo Gonella H.; Metodologia do ensino para o treinamento do tratamento não-cirúrgico da área de sulco nasogeniano e região peribucal para residentes em cirurgia plástica, Rev.Fac.Ciênc.Méd.Sorocaba, São Paulo, v. 9,n.1,2009, pg 7-11: pag 9.
- ¹²⁷ <http://lastheplace.com/2008/12/03/dr-john-vartanian-helps-you-get-ready-for-the-holidays/>, visualizado em 20 de Agosto de 2011.
- ¹²⁸ Dover J S, Kaminer M S,Kenneth A A, Atlas of Cosmetic Surgery, W.B. Sanders Company, EUA, cap17 (2), pg 306.
- ¹²⁹ Naumann M.; Lowe N. J.; Kumar C. R.; Hamm H. ;(on behalf of the BOTOX Hyperhidrosis Clinical Study Group). Botulinum toxin type A is a safe and effective treatment for axillary hyperhidrosis over 16 months: a prospective study. Arch Dermatol vol 139, 2003, pag 731–736.
- ¹³⁰ Dias L.; Marçal L.; Rodrigues M.; Alves T. C. A.; Pondé M. P.; Eficácia da Toxina Botulinica na Hiperidrose, Rev. Neurociências, vol 9 (3), 2001,pg 93-96: pg 94.
- ¹³¹ Dover J S, Kaminer M S,Kenneth A A, Atlas of Cosmetic Surgery, W.B. Sanders Company, EUA, cap 17 (2), pg 307.
- ¹³² Naumann M.; Lowe N. J.; Kumar C. R.; Hamm H.; (on behalf of the BOTOX HyperhidrosisClinical Study Group). Botulinum toxin type A is a safe and effective treatment for axillary hyperhidrosis over 16 months: a prospective study, Arch Dermatol vol 139, 2003, pg 731–736.
- ¹³³ Moguel-Anchieta S.; Dixon-Olivera S.; Martinez-Oropeza S.; Orozco-Gomez L. P.; Botulinum toxin as a treatment for strabismus in systemic diseases. Arch Soc Esp Oftalmol 2003; 78(1):pg 9-14.
- ¹³⁴ Thouvenin D.; Lesage-Beaudon C.; Arné J. L.; Injection de toxine botulique dans les strabismes précoces - Efficacité et incidence sur les indications chirurgicales ultérieures À propos de 74 cas traités avant l'âge de 36 mois, J Fr. Ophtalmol., 2008; vol 31,nº 1,2008, pg 42-50.
- ¹³⁵ Oliveira M. V.; Oliveira A. P.; Toxina botulínica no tratamento de rugas faciais, Disponível em:<URL: <http://www.cosmedical.com.br/botox.htm>
- ¹³⁶ Nakannami C., Chefe do Setor de Motilidade Extrínseca Ocular- Oftalmopediatria; , Uso da Toxina Botulínica nos Estrabismos, Depto de Oftalmologia da UNIFESP, Brasil, pg 1-6.
- ¹³⁷ Moguel-Anchieta S.; Dixon-Olivera S.; Martinez-Oropeza S.; Orozco-Gomez L. P.; Botulinum toxin as a treatment for strabismus in systemic diseases. Arch Soc Esp Oftalmol vol 78(1), 2003, pag 9-14.
- ¹³⁸ Oliveira M. V.; Oliveira A. P.; Toxina botulínica no tratamento de rugas faciais. Disponível em:<URL: <http://www.cosmedical.com.br/botox.htm>
- ¹³⁹ Nakannami C.; Chefe do Setor de Motilidade Extrínseca Ocular- Oftalmopediatria, Uso da Toxina Botulínica nos Estrabismos, Depto de Oftalmologia da UNIFESP, Brasil, pg 1-6.

-
- ¹⁴⁰ Limongi de Souza Carvalho R. M.; Gomi C. F.; Mota Moura E.; et al. ; Tratamento do blefaroespasma e distonias faciais correlatas com toxina botulínica - estudo de 16 casos, Arq Bras Oftalmol, vol 66, 2003;pg13-16: pg 13.
- ¹⁴¹ Moguel-Anchieta S.; Dixon-Olivera S.; Martinez-Oropeza S.; Orozco-Gomez L. P.; Botulinum toxin as a treatment for strabismus in systemic diseases., Arch Soc Esp Oftalmol vol 78(1), 2003, pg 9-14.
- ¹⁴² Limongi de Souza Carvalho R. M.; Gomi C. F.; Mota Moura E.; et. al; Tratamento do blefaroespasma e distonias faciais correlatas com toxina botulínica - estudo de 16 casos, Arq Bras Oftalmol, vol 66, 2003;pg13-16: pg 15.
- ¹⁴³ Limongi de Souza Carvalho R. M.; Gomi C. F.; Mota Moura E.; et.al; Tratamento do blefaroespasma e distonias faciais correlatas com toxina botulínica - estudo de 16 casos, Arq Bras Oftalmol, vol 66, 2003;pg 13-16: pg 15.
- ¹⁴⁴ Limongi de Souza Carvalho R. M.; Gomi C. F.; Mota Moura E.; et.al; Tratamento do blefaroespasma e distonias faciais correlatas com toxina botulínica - estudo de 16 casos, Arq Bras Oftalmol, vol 66, 2003;pg 13-16: pg 15.
- ¹⁴⁵ Guimarães J.; Rosas M. J.; Simões F.; Eficácia da Toxina Botulínica no Tratamento das Distonias Crânio-Cervicais e Espasmo Hemifacial, Durante um Período de 14 Anos - Análise Retrospectiva, Serviço de Neurologia, Hospital de São João, Porto, ARQUIVOS DE MEDICINA, vol 21, nº(2), 2007, pg 55-58: pg 57-58.
- ¹⁴⁶ Guimarães J.; Rosas M. J.; Simões F.; Eficácia da Toxina Botulínica no Tratamento das Distonias Crânio-Cervicais e Espasmo Hemifacial, Durante um Período de 14 Anos - Análise Retrospectiva, Serviço de Neurologia, Hospital de São João, Porto, ARQUIVOS DE MEDICINA, vol 21, nº(2), 2007, pg 55-58:pg 57-58.
- ¹⁴⁷ Peixoto Socal M.; Roberto de Mello Rieder C.; Lampert Monte T.; Corrêa Krug B.; Medeiros Amaral K.; Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas - Distonias Focais e Espasmo Hemifacial, Portugal, nº376,2008, pg 183-201.
- ¹⁴⁸ Oliveira M. V.; Oliveira A. P.; Toxina botulínica no tratamento de rugas faciais. Disponível :<URL: <http://www.cosmedical.com.br/botox.htm>
- ¹⁴⁹ Brashear A.; Botulinum toxin type A in the treatment of patients with cervical dystonia, Dept of Neurology, Wake Forest University Baptist, Medical Center, Winston Salem, EUA, Biologics: Targets & Therapy, 2009, pg 1-7: pg 5.
- ¹⁵⁰ Castaño, G.; Rivera, C.; Título: Oscilopsia: Un sintoma confuso/Oscilopsia: confuse symptom , Fonte: Univ. med, vol 40(3), 1999, pg 122-124,.
- ¹⁵¹ Cefaleias tensionais, Manual Merk, secção 6, capítulo 62.
- ¹⁵² Quagliato E, Bang G, Botelho L A, Gianini M A C, Spósito M M, Lianza S - Associação Brasileira de Medicina Física e Reabilitação, Espasticidade: Tratamento Medicamentoso, Projecto de Diretrizes, Novembro de 2009, pg 1-17.
- ¹⁵³ Monteiro Gimenes M. C.; Especialista em Prótese Dental, Toxina botulínica y su empleo en la patología oral y maxilofacial, Rev. Esp Cirug Oral y Maxilofac, 26, 2004, pg 149-154.

-
- ¹⁵⁴ Claudiney C. C.; Ferreira J. B.; Aplicação de toxina botulínica nas glândulas salivares maiores para o tratamento de sialorréia crônica, Rev. Bras. Cir. Cabeça Pescoço, v. 37, nº 1, janeiro / fevereiro / março 2008,pg. 28 – 31.
- ¹⁵⁵ Trevisol Bittencourt P.C.; Professor de Neurologia da UFSC, Uso abusivo de Medicamentos, Visão Acadêmica, Curitiba, v.9, n.2, Jul. - Dez./2008, pg 71 – 94.
- ¹⁵⁶ Juleci M M.; Microbiologia e Parasitologia, Canoas, Editora ulbra, 3º edição, 2003,pg 37.
- ¹⁵⁷ Chertow D .S.; Tan E. T.; Maslanka S. E.; et. al.; Botulism in 4 Adults Following Cosmetic Injections With an Unlicensed, Highly Concentrated Botulinum Preparation, JAMA, Vol 296, Nº. 20, November 22/29, 2006, pg 2476-2479.
- ¹⁵⁸ Soares P.; Baptista R.; Toxicologia e Análises Toxicológicas I, Tipos de Botulismo, Universidade de Farmacia FFUP, 2005, acessado em http://www.ff.up.pt/toxicologia/monografias/ano0405/toxina_botulinica/template.htm.
- ¹⁵⁹ Romero Cabello R.; Microbiologia e Parasitologia Humana, 3ª edição, Editorial Médica Panamerica, México, 2007, pg 951.
- ¹⁶⁰ Soares P.; Baptista R.; Toxicologia e Análises Toxicológicas I, Tipos de Botulismo, Universidade de Farmacia FFUP, 2005, acessado em http://www.ff.up.pt/toxicologia/monografias/ano0405/toxina_botulinica/template.htm.
- ¹⁶¹ Romero Cabello R.; Microbiologia e Parasitologia Humana, 3ª edição, Editorial Médica Panamerica, México, 2007, pg 951.
- ¹⁶² Soares P.; Baptista R.; Toxicologia e Análises Toxicológicas I, Tipos de Botulismo, Universidade de Farmacia FFUP, 2005, acessado em http://www.ff.up.pt/toxicologia/monografias/ano0405/toxina_botulinica/template.htm.
- ¹⁶³ Romero Cabello R.; Microbiologia e Parasitologia Humana, 3ª edição, Editorial Médica Panamerica, México, 2007, pg 952.
- ¹⁶⁴ Benetti Zagui R. M.; Matayoshi S.; Castelo Moura F.; Efeitos adversos associados à aplicação de toxina botulínica na face: revisão sistemática com meta-análise, Departamento de Oftalmologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - USP - São Paulo – Brasil, Arq Bras Oftalmol.,vol 71, nº6, 2008, pg 894-901:pg 897.
- ¹⁶⁵ Benetti Zagui R. M.; Matayoshi S.; Castelo Moura F.; Efeitos adversos associados à aplicação de toxina botulínica na face: revisão sistemática com meta-análise, Departamento de Oftalmologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - USP - São Paulo – Brasil, Arq Bras Oftalmol.,vol 71, nº6, 2008, pg 894-901: pg 897.
- ¹⁶⁶ Dover J. S.; Kaminer M. S.;Kenneth A. A.; Atlas of Cosmetic Surgery, W.B. Sanders Company, EUA, cap17 (2), pg 308.
- ¹⁶⁷ Hatheway C. L.; Ferreira J.; Detection and Identification of Clostridium botulinum Neurotoxins. In: Natural Toxins II Plenum Press, cap. 39, 1996, pg.481-498.
- ¹⁶⁸ Mello Sposito M.; Toxina botulínica tipo A - propriedades farmacológicas e uso clínico, ACTA FISIÁTR., Spp 01, 2004, pg S33.
- ¹⁶⁹ Oliveira M. V.; Oliveira A. P.; Toxina botulínica no tratamento de rugas faciais.Disponível em: <http://www.cosmedical.com.br/botox.htm>

-
- ¹⁷⁰ Moguel S.; Martinez-Oropeza S.; Orozco L.; Treatment of strabismus associated with brain damage using botulinum toxin. Tratamiento con toxina botulinica para estrabismo en retraso psicomotor (SPA). Arch Soc Esp Oftalmol, vol 79(9), 2004, pg 443-448.
- ¹⁷¹ Moguel-Anchieta S.; Dixon-Olivera S.; Martinez-Oropeza S.; Orozco-Gomez L. P.; Botulinum toxin as a treatment for strabismus in systemic diseases. Arch Soc Esp Oftalmol; 78(1), 2003, pg 9-14.
- ¹⁷² Cheng M. C.; Cosmetic use of botulinum toxin type A in the elderly, Department of Clinical Pharmacy, University of California, San Francisco, EUA, Clinical Interventions in Aging, 2(1), 2007, pg 81-83.
- ¹⁷³ Mello Sposito M.; Toxina botulínica tipo A - propiedades farmacológicas e uso clinico, ACTA FISIÁTR., Spp 01, 2004, pg S33.
- ¹⁷⁴ Mello Sposito M.; Toxina botulínica tipo A - propiedades farmacológicas e uso clinico, ACTA FISIÁTR., Spp 01, 2004, pg S33.
- ¹⁷⁵ Mello Sposito M.; Toxina botulínica tipo A - propiedades farmacológicas e uso clinico, ACTA FISIÁTR., Spp 01, 2004, pg S33.
- ¹⁷⁶ Mello Sposito M.; Toxina botulínica tipo A - propiedades farmacológicas e uso clinico, ACTA FISIÁTR., Spp 01, 2004, pg S33.
- ¹⁷⁷ Mello Sposito M.; Toxina botulínica tipo A - propiedades farmacológicas e uso clinico, ACTA FISIÁTR., Spp 01, 2004, pg S33.
- ¹⁷⁸ Mello Sposito M.; Toxina botulínica tipo A - propiedades farmacológicas e uso clinico, ACTA FISIÁTR., Spp 01, 2004, pg S34.
- ¹⁷⁹ Abramowicz M.; Zuccotti, G.; BOTULINUM TOXIN (BOTOX COSMETIC) FOR FROWN LINES, The Medical Letter On Drugs and Therapeutics, NY, EUA, Vol. 44 (W1131A) May 27, 2002, pg 47-48.
- ¹⁸⁰ Moguel-Anchieta S.; Dixon-Olivera S.; Martinez-Oropeza S.; Orozco-Gomez L. P.; Botulinum toxin as a treatment for strabismus in systemic diseases. Arch Soc Esp Oftalmol., 78(1), 2003, pg 9-14.
- ¹⁸¹ Moguel-Anchieta S.; Dixon-Olivera S.; Martinez-Oropeza S.; Orozco-Gomez L.P.; Botulinum toxin as a treatment for strabismus in systemic diseases. Arch Soc Esp Oftalmol., 78(1), 2003, pg 9-14.
- ¹⁸² Naumann M.; Lowe N. J.; Kumar C. R.; Hamm H.; (on behalf of the BOTOX Hyperhidrosis Clinical Study Group, Botulinum toxin type A is a safe and effective treatment for axillary hyperhidrosis over 16 months: a prospective study. Arch Dermatol, 2003.
- ¹⁸³ Sobredosagem, Infarmed, anexo III- Resumo das características do medicamento, capítulo 4 - informações clinicas, sub cap. 4 4.9. - Sobredosagem, pg 17.
- ¹⁸⁴ FDA Consumer Health Information / U.S. Food and Drug Administration, FDA Law Enforcers Crack Down on Illegal Botox Scammers, October 2009, pg 1-3: pg 2.
- ¹⁸⁵ FDA Consumer Health Information / U.S. Food and Drug Administration, FDA Law Enforcers Crack Down on Illegal Botox Scammers, October 2009, pg 1-3: pg 1.

¹⁸⁶ Drug information Portal, http://www.druglib.com/druginfo/botox/side-effects_adverse-reactions/, visualizado em 3 de Agosto de 2011.

¹⁸⁷ Sistema de Farmacovigilância, Registo de reacções adversas da toxina Botulínica, INFARMED, capítulo Anexos da tese A toxina Botulínica e as suas complicações, cedido a 16 de Fevereiro de 2011 (ver Anexos- Caso 1).

¹⁸⁸ Sistema de Farmacovigilância, Registo de reacções adversas da toxina Botulínica, INFARMED, capítulo Anexos da tese A toxina Botulínica e as suas complicações, cedido a 16 de Fevereiro de 2011 (ver Anexos-Caso 2).

¹⁸⁹ Sistema de Farmacovigilância, Registo de reacções adversas da toxina Botulínica, INFARMED, capítulo Anexos da tese A toxina Botulínica e as suas complicações, cedido a 16 de Fevereiro de 2011 (ver Anexos-Caso 3).

¹⁹⁰ Prontuário Terapeutico Infarmed, Infarmed, cap 2, sub cap 2.4. – Antimiasténicos, Março de 2010, pg 76.

¹⁹¹ KFOURI NETO M, Responsabilidade civil do médico, São Paulo, Revista dos Tribunais, 4.ed., 2001, pg.92.

¹⁹² Silva, W M. Dano estético, Enciclopédia Saraiva de Direito. Rio de Janeiro: Saraiva, v. 22,pg. 249-260.

¹⁹³ Sistema Nacional de Farmacovigilância, Registos das reacções adversas recebidas no Sistema Nacional de Farmacovigilância aos medicamentos com a substância activa toxina botulínica, Infarmed, Lisboa registos relatados até dia 16 de Fevereiro 2011.

¹⁹⁴ Sistema Nacional de Farmacovigilância, Registos das reacções adversas recebidas no Sistema Nacional de Farmacovigilância aos medicamentos com a substância activa toxina botulínica, Infarmed, Lisboa registos relatados até dia 16 de Fevereiro 2011.

¹⁹⁵ Sistema Nacional de Farmacovigilância, Registos das reacções adversas recebidas no Sistema Nacional de Farmacovigilância aos medicamentos com a substância activa toxina botulínica, Infarmed, Lisboa registos relatados até dia 16 de Fevereiro 2011.