

# O papel dos anticorpos na falha do tratamento com Toxina Botulínica: uma revisão de literatura

Álvaro Landim Peixoto<sup>1</sup>, Juliana Caldas Sales<sup>1</sup>, José Rômulo de Medeiros<sup>1</sup>, Bruno Frota Amora Silva<sup>1</sup>, Fernando André Campos Viana<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Curso de Odontologia, Universidade de Fortaleza -UNIFOR, Fortaleza, CE, Brasil.

\* Correspondência: andrecviana@unifor.br.

**Resumo:** O presente estudo vem analisar o papel dos anticorpos na falha do tratamento com toxina botulínica. Elaborado com uma revisão integrativa da literatura. Foram eleitos aptos para o trabalho, artigos científicos entre os anos 2012 e 2022, publicados na íntegra em inglês e de livre acesso. A pesquisa de dados foi realizada nas seguintes bases de dados: PubMed/MEDLINE, Elsevier, BVS (Biblioteca virtual em saúde) por meio da combinação - utilizando o operador booleano "AND". Os descritores controlados utilizados encontram-se no Banco de Descritores em Ciência de Saúde (DeCS), identificados pelos seguintes descritores: "Botox", "Immunogenicity", "Botox Toxin Treatment", "Immunological botulinum", "Immuno-resistant Botulinum". Foram selecionados 12 artigos. A utilização da toxina botulínica está cada dia mais presente nos consultórios odontológicos para finalidades estéticas. A presença de anticorpos tem sido observada nos procedimentos realizados com intervalos mais curtos, doses mais altas por aplicação e maiores quantidades de proteínas antigênicas. Fatores como sorotipo da toxina, formulação, fabricação e armazenamento também contribuem para a imunogenicidade. Vários ensaios estão disponíveis para a detecção dos anticorpos. A não resposta ao tratamento ainda é desafiadora e envolve uso de formulações menos imunogênicas da toxina ou a expectativa do desaparecimento espontâneo do anticorpo neutralizante no paciente.

**Palavras-chave:** Toxinas Botulínicas; Toxinas Botulínicas Tipo A; Imunogenicidade da Vacina.

**Citação:** Peixoto AL, Sales JC, Medeiros JR, Silva BFA, Viana FAC. O papel dos anticorpos na falha do tratamento com Toxina Botulínica: uma revisão de literatura. Brazilian Journal of Dentistry and Oral Radiology. 2024 Jan-Dec;3:bjd44.

doi: <https://doi.org/10.52600/2965-8837.bjdor.2024.3.bjd44>

Recebido: 2 Abril 2024

Aceito: 7 Maio 2024

Publicado: 14 Maio 2024



**Direitos autorais:** Este trabalho está licenciado sob uma Licença Internacional Creative Commons Atribuição 4.0 (CC BY 4.0).

## 1. Introdução

O botulismo aparece com seu primeiro registro na história por volta do século 18, ocorrendo relatos de um surto na Alemanha, chegando a registrar 6 óbitos após o consumo de salsicha embutida. Em 1895 após outro surto da Bélgica onde 34 músicos teriam apresentado intoxicação após o consumo de presunto em conserva defumado, após uma extensa investigação o professor universitário Émile van Ermengem isolou a bactéria, e após os experimentos a nomeou de *Bacillus botulinus*, mais tarde *Clostridium botulinum* [1]. Considerada uma das toxinas com a mais alta taxa de mortalidade, cuja sua dose letal é de 1ng a 3ng de toxina por quilograma (kg) de massa corporal, a toxina da bactéria da espécie *Clostridium botulinum*, encontrada no solo e conseguindo contaminar vegetais, carnes e peixes em suas formas de armazenamento. Como características apresenta-se como gram-positiva, no formato de bastonetes grandes, apresentando flagelos peritriquios, considerada também anaeróbica estrita, ou seja, na presença de gás oxigênio não consegue se desenvolver [2].

As toxinas botulínicas exercem ação farmacológica específica, bloqueando a transmissão nas fibras dos nervos colinérgicos e impedindo a liberação de acetilcolina, o que resulta em paralisia flácida [2]. A inibição das junções colinérgicas motoras leva o paciente a apresentar algumas manifestações clínicas como, fraqueza muscular, visão embaçada,

disfagia e em casos mais agravantes pode atingir um bloqueio na região dos músculos respiratórios, causando um quadro de insuficiência respiratória. Atualmente, os potentes efeitos da toxina botulínica têm sido aproveitados para uso clínico de algumas doenças que até se apresentam como efeitos colaterais em casos manifestação clínica por contaminação da toxina, que no caso são distonias, espasmos das pálpebras e rugas de expressão.

Seu uso destinado ao tratamento moderno teve como pioneiro nos anos 70 o médico oftalmologista Alan B. Scott, para busca de alternativas ao estrabismo. Após os experimentos em voluntários saudáveis e como consequência da alta taxa de sucesso, foi aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) como um medicamento, cujo nome foi intitulado como “*Oculinum*” [3]. Ganhou ampla seletividade na indicação para tratamentos de inibição de espasmos muscular excessivo [4]. Após relatos das pacientes sobre o efeito de rejuvenescimento na área, elas ainda procuraram tentar realizar o tratamento novamente mesmo que sem indicação. E somente após 1992 começaram as pesquisas para seu uso nas rugas faciais. Desde então, mostrou ser um tratamento seguro, eficiente e minimamente invasivo tanto para indicação de doenças de causas de distúrbios de movimentos, indicações dermatológicas como hiperidrose e para fins estéticos [4].

A duração dos efeitos desejados do Botox possui prazo de expiração em alguns meses, porém após repetidas injeções alguns pacientes param de obter o resultado esperado com a substância [4]. A indicação de uso da toxina botulínica se apresenta com frequência na escolha dos tratamentos estéticos sendo um protocolo de conhecimento seguro e eficaz. Porém com a alta demanda sobre o acesso ao procedimento e a indicação precoce do seu uso, vem gerando relatos sobre o desenvolvimento de anticorpos neutralizantes como consequência de um resultado vem gerar a não atender as expectativas dos pacientes.

A capacidade da imunogenicidade do uso do botox submete-se a vários fatores, desde formulação, quantidade de proteínas antigênicas, dosagem da toxina, frequência e exposição precoce à toxina. Como qualquer proteína não humana, as preparações comerciais com Botox podem dar início a uma reação imune, principalmente quando estas forem de uso frequente.

## 2. Metodologia

O presente trabalho se designa-se no formato do tipo revisão integrativa (RI) da literatura, composto a começar de as etapas subsequentes: formulação da pergunta da revisão, pesquisa e seleção dos estudos primários, extração de dados dos estudos, análise crítica dos estudos primários inclusos na revisão, síntese dos resultados da revisão e exposição do método. A questão norteadora que conduziu o presente estudo foi: *A toxina botulínica é capaz de desencadear efeito vacina?*

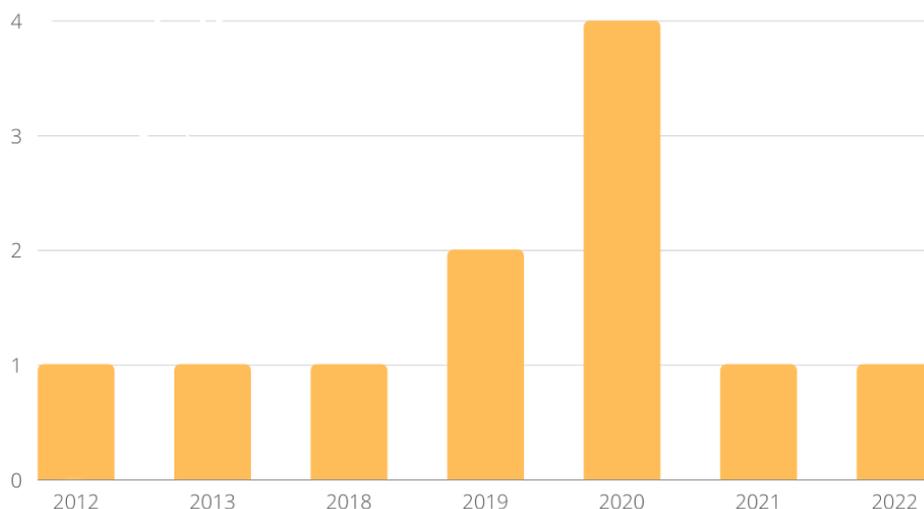
A coleta de dados deu-se início em setembro de 2022, utilizando as seguintes bases de dados: PubMed/MEDLINE, Elsevier, BVS (Biblioteca virtual em saúde) por meio da combinação - utilizando o operador booleano “AND”. Os descritores controlados utilizados encontram-se no Banco de Descritores em Ciência de Saúde (DeCS), identificados pelos seguintes descritores: “Botox” AND “Immunogenicity”, “Botox Toxin Treatment”, AND “Immunological botulinum”, “Immunoresistant” AND “Botulinum”. Os critérios de inclusão adotados para a seleção dos artigos foram: artigos originais, disponíveis na íntegra, delimitação de período de publicação de 10 anos, no idioma inglês. Foram excluídos estudos relacionados ao uso de botox em outras áreas do corpo fora a face, publicados em forma de tese, dissertações ou monografias. Para análise dos dados foi realizado uma leitura crítica dos títulos e resumo de cada artigo encontrado a fim de verificar se esse encontra-se adequado à questão norteadora e obedecendo estritamente todos os critérios de inclusão e exclusão apresentados.

## 3. Resultados e Discussão

Obteve-se uma amostra final de 12 artigos (Tabela 1), distribuídos nas bases de dados citadas, após aplicação dos critérios de inclusão e exclusão previamente estabelecidos. Dos estudos apresentados nessa revisão o maior número de publicação foi no ano de 2020

(n=4, 48%), o que acabou gerando indagações sobre a perspectiva de alguma influência da pandemia COVID-19, sobre se encontrar o maior número de publicações por esse ano (Figura 1).

**Figure 1:** Análises dos estudos selecionados segundo o ano de publicação.



**Tabela 1:** Análises dos estudos selecionados segundo o ano de publicação.

Referência	Principais resultados
[5]	Para a ocorrência de uma baixa taxa de presença de antígenos, deve-se selecionar um produto com baixo risco de antigenicidade. Para diminuir o risco de formação de anticorpos neutralizantes, recomenda-se usar o produto na dose mínima, evitar injeções de reforço.
[6]	Algumas formulações mais recentes com neurotoxina central purificada sem proteínas acessórias podem ter uma imunogenicidade geral mais baixa. Vários ensaios estão disponíveis para a detecção de anticorpos, incluindo ensaios estruturais, como ELISA e bioensaios baseados em camundongos, mas não há correlação consistente entre esses anticorpos e a resposta clínica
[7]	A probabilidade de desenvolver anticorpos neutralizantes aumentou com a dose única e cumulativa de tratamento e foi influenciada pela formulação de toxina botulínica do tipo A, enquanto todos os outros fatores analisados, incluindo etiologia da doença e duração do tratamento, não tiveram influência adicional.
[8]	Como os anticorpos da toxina botulínica podem ter sérias consequências para os pacientes afetados, é necessária uma análise cuidadosa dos fatores de risco para reduzi-los sempre que possível
[9]	Ambos os resultados de ELISA e imunotransferência implicaram que o Hn-33 é o principal responsável por provocar a resposta de anticorpos no complexo.

- 
- [4] O desenvolvimento de anticorpos neutralizantes é uma possibilidade mesmo com o uso de baixa dose de toxina botulínica tipo A usada na prática estética e pode resultar em falha secundária do tratamento.
- [10] O incobotulinumtoxinA demonstra forte eficácia clínica e segurança, bem como baixa imunogenicidade em uma variedade de indicações
- [11] Tratamento repetitivo e a longo prazo com a toxina botulínica, pode induzir o sistema imunológico a desenvolver anticorpos contra a toxina.
- [12] As injeções de rimabotulinumtoxinB oferecem apenas uma melhora de curto prazo na média, mas não uma perspectiva de longo prazo devido ao alto risco de desenvolvimento de uma resposta imune secundária
- [13] Pacientes não responsivos a onabotulinumtoxinA produziram altos níveis de anticorpos contra proteínas complexantes que poderiam responder a incobotulinumtoxinA.
- [14] Adesão da terapia com a toxina botulínica mostrou uma tendência para doses únicas mais altas, intervalos de injeção mais curtos, doses cumulativas maiores e tempos de tratamento mais longos.
- [15] O desenvolvimento de anticorpos neutralizantes contra a neurotoxina botulínica costuma ser o motivo da falha do tratamento secundário.
- 

Potencialmente conhecido por suas características de paralisar ou enfraquecer o músculo alvo por determinando espaço de tempo, a toxina botulínica tem de conhecimento seu uso datado a mais de 25 anos, como fonte terapêutica para intervenções de doenças ou de escolha estética para tratamento de rugas. A bactéria *Clostridium Botulinum*, tem como características ser anaeróbica, com formação de esporos e em formato de bastonete, é desta que se provém a derivação da proteína conhecida como toxina botulínica. Caracterizada como uma proteína percussora inativa e de alto peso molecular 150kD, sendo 100 de cadeia pesada e 50 de cadeia leve, sendo constituído junto a neurotoxinas centrais e 900kD de proteínas complexantes, que são identificadas como proteínas interligadas às neurotoxinas [5].

Classificada em oito sorotipos distintos (A, B, C1, C2, D, E, F e G), apenas o tipo A e B são disponibilizados para uso clínico. Comercialmente hoje a toxina botulínica tipo A é frequentemente escolha de uso dentre 3 produtos, sendo: onabotulinumtoxin (Botox), abobotulinumtoxin (Dysport) e incobotulinumtoxin A (Xeomin). Suas similaridades se apresentam por meio do mecanismo de ação, porém se diferem nos meios de fabricação e peso das proteínas complexantes [5].

O mecanismo de ação da toxina botulínica, é dividido em três fases. A primeira fase é nomeada como união, pois após a injeção da toxina no músculo, ocorre a dissociação das proteínas acessórias protetoras e liberação da cadeia ativa, em seguida temos a união da molécula ativa da toxina botulínica ao receptor. Na segunda fase a parte ativa da toxina botulínica é internalizada na molécula nervosa através da endocitose mediada por receptor, sendo a cadeia leve liberada no citoplasma. E finalizando a fase 3 caracterizada como de bloqueio, com a clivagem da Snap-25. Esse bloqueio da exocitose da acetilcolina afeta a transmissão neural simpática às estruturas musculares e outras e outras glândulas exócrinas dos músculos estriados, resultando com que as contrações não ocorram [4].

A imunogenicidade é habilidade de determinada molécula abrangendo proteínas estranhas ou drogas biológicas, de resultar uma resposta imune do hospedeiro. Não importa qual o fármaco biológico seja, como uma proteína terapêutica recombinante, vetor de terapia gênica ou vacina, tem a capacidade de se tornar um alvo do sistema imunológico, principalmente se administrado recorrentemente ou em altas doses. Podemos observar as vacinas baseadas em proteínas, a qual são desenvolvidas para desencadear a imunidade adaptativa e a formação de anticorpos específicos para potenciais patógenos de maneira a desempenhar seu efeito [8].

A imunogenicidade é desfavorável quando a produção de anticorpos antifármacos ou outros processos imunológicos que levam ao insucesso da eficácia terapêutica de um fármaco biológico, o que pode ocorrer tanto por neutralização direta quanto por modificação na farmacocinética [7]. As proteínas acessórias são presentes nas formulações da toxina botulínica, possuem um papel não terapêutico causando rapidamente um desligamento da neurotoxina central em pH neutro. Assim, a carga total de proteínas presente na composição da formulação das três marcas mais utilizadas pode presumir a imunogenicidade de cada uma [10].

Estudos apontam que as proteínas acessórias clostridiais (HA-1), agem como coadjuvantes a resposta imune, acarretando que esse reforço ao sistema imunológico, possa contribuir para o desenvolvimento de anticorpos neutralizantes terapeuticamente relevantes contra a neurotoxina botulínica. Analisando dados pré-clínicos, podemos observar que a formulação que apresenta o mínimo de proteína clostridial é a mais almejada, pois podemos retardar uma estimulação a resposta imune do hospedeiro que acarretaria na formação de anticorpos neutralizantes e a não resposta clínica. Nos produtos aprovados para uso terapêutico, é constatado que há diferenças na quantidade de proteínas acessórias entre cada um. As formulações ausentes de proteínas acessórias incoBoNT-A não apresenta efeito de eficácia e daxiBoNT-A ainda se encontra sem fase experimental, por sua formulação incomum ainda não se encontra na literatura efeitos colaterais da solução citada [15].

A não resposta primária implica na falta de resposta ao tratamento desde a aplicação inicial. Pode ocorrer por uso de dosagens baixas, injeção em músculo inadequado ou por existência de contraturas, o evento de falha também pode ocorrer por acometer pacientes que apresentem alguma sensibilidade reduzida a toxina ou distonia [15]. É necessário observar se o armazenamento da toxina botulínica se encontra conforme as indicações de cada fabricante pois pode acarretar a degradação da potência da substância caso não sejam seguidas as devidas recomendações. É importante atentar a uma análise clínica cautelosa de cada caso que venha a manifestar-se, para que não advenha diagnósticos incorretos.

Podemos observar a presença de uma não resposta secundária quando o paciente tendo realizado um tratamento anteriormente com resultado eficaz, não evolui mais nas injeções subsequentes. As causas podem variar particularmente entre os pacientes de acordo com o seu estilo de vida, estresse acentuado, intervalo de doses, ou até por resultado de efeito placebo [6]. Estudos apontam que a com a escolha do uso da incobotulinumtoxinA as taxas de imunogenicidade se apresentaram mais baixas, quando comparadas com as outras formulações comercializadas da toxina botulínica. Observou-se também, que mesmo com o aumento exacerbado nas doses da toxina, não obteve taxa de êxito no produto final [6].

São divididos em anticorpos neutralizantes aqueles que visam a neurotoxina central, particularmente o sítio de ligação da cadeia pesada e anticorpos não neutralizantes a qual estes visam as proteínas acessórias. Também foi observado que alguns anticorpos estavam presentes nas regiões onde se encontra a cadeia leve da toxina [11]. Esses anticorpos podem ter uma queda durante um período prolongado de desuso da toxina (intervalo aproximado de 30 meses), e após 6 anos chegar a cair a detecção em cerca de 60%. Porém infelizmente essa resposta imunológica pode ser reativada em tratamentos recorrentes. Nos pacientes que se encontram com anticorpos aumentos na dosagem para o resultado previsto podem exigir um aumento de até quatro vezes nas dosagens [4].

O uso de plasmáfereze ou imunoglobulina intravenosa pode auxiliar na remoção dos anticorpos, porém gerando um custo maior e correlacionado a riscos. A mudança entre os tipos de soro de aplicação no tratamento, não é uma ação de uso inicial, pois acarreta maior risco de resistência ao soro alternativo. Sendo a mudança entre os soros para uma formulação que venha a apresentar uma menor concentração de proteínas complexantes podemos obter um retorno positivo por apresentarem a imunogenicidade potencialmente menor [8]. Após exclusão de outras causas na falha do tratamento, podemos suspeitar sob a concepção de anticorpos neutralizante, podendo por meios laboratoriais encontrar ensaios para a detecção dos anticorpos neutralizantes. Os ensaios estruturais como IPA (ensaio de imunoprecipitação) e ELISA (Ensaio de imunoabsorção enzimática), possuem maior sensibilidade na detecção dos anticorpos, porém não conseguem distinguir se são anticorpos neutralizantes ou não neutralizantes [9].

MPA (ensaio de proteção do camundongo) e MHDA (Ensaio de hemidiafragma de camundongo) são conhecidos como bioensaios pois se utilizam de testes em animais para identificar quais anticorpos estejam afetando o êxito da toxina. O MPA se destaca como padrão ouro na escolha do ensaio para a detecção e medição quantitativa, porém sua sensibilidade é relativamente baixa. Diferentemente do MHDA que se utiliza de menos animais no estudo, gerando menor custo e tempo, porém com a desvantagem de prever falha ao tratamento, pois apresenta índices altos de falsos positivos devida a elevada sensibilidade [13].

#### 4. Conclusão

Na prática clínica devemos observar a importância sobre os intervalos de aplicação da toxina botulínica e mensurar a quantidade de doses, para que o efeito final desejado ainda responda a expectativa no tratamento ao longo do tempo. A forma de armazenamento do produto e domínio da anatomia para as injeções também possuem papel fundamental para o sucesso do procedimento. Observados todos os cuidados anteriores, ainda podemos presenciar o desenvolvimento de anticorpos neutralizantes, nesses casos devemos atentar a explorar as causas por uma anamnese mais detalhada, exames clínicos e laboratoriais antes de modificar a formulação da toxina botulínica usada anteriormente.

**Financiamento:** Nenhum.

**Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa:** Nenhum.

**Agradecimentos:** Nenhum.

**Conflitos de Interesse:** Nenhum.

**Materiais Suplementares:** Nenhum.

#### Referências

1. Rasetti-Escargueil C, Lemichez E, Popoff MR. Human Botulism in France, 1875-2016. *Toxins* (Basel). 2020 May 21;12(5):338. PMID: 32455538; PMCID: PMC7291226. doi: <https://doi.org/10.3390/toxins12050338>
2. Rao AK, Sobel J, Chatham-Stephens K, Luquez C. Clinical Guidelines for Diagnosis and Treatment of Botulism, 2021. *MMWR Recomm Rep*. 2021 May 7;70(2):1-30. PMID: 33956777; PMCID: PMC8112830 doi: 10.15585/mmwr.rr7002a1
3. Erbguth FJ. From poison to remedy: the chequered history of botulinum toxin. *J Neural Transm* (Vienna). 2008;115(4):559-65. Epub 2007 Apr 26. PMID: 17458494 doi: <https://doi.org/10.1007/s00702-007-0728-2>
4. Khatri NM. Neutralizing antibodies to botulinum toxin type A as a secondary treatment failure: An introductory case report from Mumbai, India. *Trichol Cosmetol. Open J*. 2022; 5(1): 4-9. Epub 2022 May 12 doi: <http://dx.doi.org/10.17140/TCOJ-5-117>

5. Wee SY, Park ES. Immunogenicity of botulinum toxin. *Arch Plast Surg*. 2022 Jan;49(1):12-18. Epub 2022 Jan 15. PMID: 35086302; PMCID: PMC8795657. doi: <https://doi.org/10.5999/aps.2021.00766>.
6. Bellows S, Jankovic J. Immunogenicity Associated with Botulinum Toxin Treatment. *Toxins (Basel)*. 2019 Aug 26;11(9):491. PMID: 31454941; PMCID: PMC6784164. doi: <https://doi.org/10.3390/toxins11090491>
7. Albrecht P, Jansen A, Lee JI, Moll M, Ringelstein M, Rosenthal D, Bigalke H, Aktas O, Hartung HP, Hefter H. High prevalence of neutralizing antibodies after long-term botulinum neurotoxin therapy. *Neurology*. 2019 Jan 1;92(1):e48-e54. Epub 2018 Nov 21. Erratum in: *Neurology*. 2022 Feb 22;98(8):341. PMID: 30464031. doi: <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000006688>.
8. Dressler D, Bigalke H, Frevert J. The immunology of botulinum toxin therapy: A brief summary. *Toxicology*. 2022 Nov;481:153341. Epub 2022 Sep 30. PMID: 36191878. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tox.2022.153341>.
9. Bryant AM, Cai S, Singh BR. Comparative immunochemical characteristics of botulinum neurotoxin type A and its associated proteins. *Toxicon*. 2013 Sep;72:126-32. Epub 2013 Jun 28. PMID: 23811077; PMCID: PMC5660946. doi: <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2013.06.011>.
10. Carr WW, Jain N, Sublett JW. Immunogenicity of Botulinum Toxin Formulations: Potential Therapeutic Implications. *Adv Ther*. 2021 Oct;38(10):5046-5064. Epub 2021 Sep 13. PMID: 34515975; PMCID: PMC8478757. doi: <https://doi.org/10.1007/s12325-021-01882-9>.
11. Srinoulprasert Y, Wanitphakdeedecha R. Antibody-induced botulinum toxin treatment failure: A review and novel management approach. *J Cosmet Dermatol*. 2020 Oct;19(10):2491-2496. Epub 2020 Aug 9. PMID: 32702171. doi: <https://doi.org/10.1111/jocd.13637>.
12. Hefter H, Samadzadeh S, Moll M. Transient Improvement after Switch to Low Doses of RimabotulinumtoxinB in Patients Resistant to AbobotulinumtoxinA. *Toxins (Basel)*. 2020 Oct 27;12(11):677. PMID: 33121133; PMCID: PMC7693617. doi: <https://doi.org/10.3390/toxins12110677>
13. Wanitphakdeedecha R, Kantaviro W, Suphatsathienkul P, Tantrapornpong P, Yan C, Apinumtham C, Srinoulprasert Y. Association Between Secondary Botulinum Toxin A Treatment Failure in Cosmetic Indication and Anti-Complexing Protein Antibody Production. *Dermatol Ther (Heidelb)*. 2020 Aug;10(4):707-720. Epub 2020 May 22. PMID: 32445175; PMCID: PMC7367960. . doi: <https://doi.org/10.1007/s13555-020-00397-5>.
14. Dressler D, Pan L, Adib Saberi F. Antibody-induced failure of botulinum toxin therapy: re-start with low-antigenicity drugs offers a new treatment opportunity. *J Neural Transm (Vienna)*. 2018 Oct;125(10):1481-1486. Epub 2018 Jul 31. PMID: 30066275. doi: <https://doi.org/10.1007/s00702-018-1911-3>.
15. Benecke R. Clinical relevance of botulinum toxin immunogenicity. *BioDrugs*. 2012 Apr 1;26(2):e1-9. PMID: 22385408; PMCID: PMC3683397. doi: <https://doi.org/10.2165/11599840-000000000-00000>.