

**A OTIMIZAÇÃO DOS RESULTADOS DA DENERVAÇÃO MUSCULAR QUÍMICA ATRAVÉS DA RECONSTITUIÇÃO DA TOXINA BOTULÍNICA DO TIPO A EM VEÍCULO FISIOLÓGICO ESTÉRIL INJETÁVEL ENRIQUECIDO COM ZINCO**

**THE OPTIMIZATION OF THE RESULTS OF CHEMICAL MUSCLE DENERVATION THROUGH THE RECONSTITUTION OF BOTULINUM TOXIN TYPE A IN A STERILE INJECTABLE PHYSIOLOGICAL VEHICLE ENRICHED WITH ZINC**

Marco Antonio Matrone<sup>1</sup>

Marcia Maria Gomes da Costa<sup>2</sup>

Marília Capelli Barca<sup>3</sup>

Taynan Rodrigues Matrone<sup>4</sup>

Kiroit Ikeoka<sup>5</sup>

---

1 Cirurgião-dentista formado na faculdade de Odontologia de Santos, SP. Médico, mestre e doutor pela Universidade de Tokio, Japão, Especialista em HOF e Docente em Harmonização Orofacial no Instituto Velasco, EAPE - Cuiabá e ISPO - Santos. Coordenador do Grupo Layers e HOPE de Pesquisa.

2 Cirurgiã Dentista especialista em HOF, membro do Grupo Layers e HOPE de Pesquisa

3 Cirurgiã Dentista especialista em HOF, membro do Grupo Layers e HOPE de Pesquisa

4 Cirurgiã Dentista especialista em HOF, membro do Grupo Layers e HOPE de Pesquisa

5 Cirurgião Dentista, membro honorário do Grupo Hope de Pesquisa



Suellen Carneiro Silva<sup>6</sup>Darlene Cruz Vieira<sup>7</sup>Alessandra Nogueira Porto<sup>8</sup>

**Resumo:** A toxina botulínica do tipo A (TBA) é a mais potente neurotoxina dos oito sorotipos produzidos pela bactéria anaeróbia, gram positiva *Clostridium Botulinum*. Por afetar exclusivamente o tecido nervoso, é classificada como neurotoxina. Sua ação promove no interior das terminações nervosas pré sinápticas o bloqueio da liberação de neurotransmissores, dentre eles a acetilcolina. Esta incapacitação do terminal nervoso pela destruição das alças de ligação da proteína SNAP25, no complexo SNARE é permanente. Rotulada como Denervação Muscular Química, essa técnica não invasiva de significativa relevância tem despertado o interesse de profissionais e pesquisadores de várias áreas e promovendo uma crescente oferta de novas opções comerciais, variações de protocolos e ensaios clínicos, no segmento estético e terapêutico-funcional. No entanto, tem-se observado ultimamente uma insatisfação tanto de profissionais como dos pacientes, com relação a duração dos efeitos da toxina, razão que interfere diretamente no intervalo das sessões, conforto do paciente e custo operacional dos tratamentos. Ao se buscar na literatura básica

---

6 Farmacêutica, membro do Grupo Layers e HOPE de Pesquisa

7 Farmacêutica membro do Grupo Layers e HOPE de Pesquisa

8 Pós Doutorado em Periodontia pela Universidade de Taubaté – SP Doutorado em Periodontia pela Universidade de Taubaté -SP. Mestrado em Periodontia pela Universidade de Taubaté – SP. Residência em Harmonização Orofacial



conceitos e justificativas para os desabores da técnica, de forma integrada e inter-relacionada, observou-se que, como em todo e qualquer fenômeno químico, a denervação muscular química necessita de um cenário ideal. O nível de pH fora do padrão próprio no sítio da aplicação da TBA ou do próprio soro fisiológico onde a toxina foi reconstituída, a suficiência de moléculas de zinco para as reações zinco dependentes ou até mesmo a escolha e execução dos protocolos são exemplos simples desta necessidade. O novo enfoque literário trouxe como diagnóstico a existência de lacunas técnicas, batizadas neste estudo de “GAPs”, e que interferem diretamente no sucesso dos procedimentos, quando não identificados e corrigidos. Dois desses Gaps, o pH e o nível de zinco serão apresentados e solucionados nesse artigo.

**Palavras-chave:** Denervação muscular química, Gaps, Zinco, pH, Toxina botulínica, ZincPlus.

**Abstract:** Botulinum toxin type A (TBA) is the most potent neurotoxin from the eight produced serotypes by the anaerobic gram-positive bacteria *Clostridium Botulinum*. To affect exclusively the nervous tissue, it is classified as neurotoxin. Its action promotes, within the presynaptic ending nerves, by blocking of the release of neurotransmitters, including acetylcholine. This nervous terminal incapacitation by the destruction of the SNAP25 protein binding loops in the SNARE complex is permanent. Labeled as Chemical Muscle Denervation, this non-invasive technique of significant relevance has aroused the interest of professionals and researchers from



various areas and promoting a growing offer of new commercial options, protocol variations and clinical trials, in the aesthetic and therapeutic-functional segment. However, it has been observed lately a dissatisfaction of both professionals and patients, regarding the duration of the effects of the toxin, a reason that directly interferes with the interval between sessions, patient comfort and operating cost of treatments. When searching in the basic literature for concepts and justifications for the technical unpleasantness, in an integrated and interrelated way, it was observed that, as in any chemical phenomenon, chemical muscular denervation needs an ideal scenario. The pH level outside the proper standard at the TBA application site or the saline solution itself where the toxin was reconstituted, the sufficiency of

zinc molecules for zinc-dependent reactions or even the choice and execution of protocols are simple examples of this need. The new literary focus brought as a diagnosis the existence of technical gaps, named in this study as “GAPs”, and which directly interfere in the success of procedures, when not identified and corrected. Two of these gaps, pH and zinc level will be presented and resolved in this article.

**Keywords:** Chemical muscle denervation, Gaps, Zinc, pH, Botulinum Toxin, ZincPlus.

## Introdução

A toxina botulínica tipo A (TBA), amplamente utilizada em protocolos terapêuticos estéticos-funcionais, tem apresentado uma tendência a aumentar ainda mais sua aplicabilidade em



diversos países, independente do segmento social. Essa projeção é resultado da reavaliação, compreensão e aceitação do processo fisiológico do envelhecer com sustentabilidade que, sem deixar de ser inevitável, passa a ser um evento prazeroso, proporcionado pelo aumento da autoestima, na busca pela melhor aparência, em uma vida de melhor qualidade, mais longa e lucidamente produtiva.

Como consequência, os tratamentos com neurotoxinas têm despertado a atenção de muitos profissionais e pesquisadores da área, o que desencadeia uma maior oferta de novas opções comerciais, variações de protocolos e ensaios clínicos, tanto no segmento estético quanto no terapêutico-funcional. Todo esse cenário acaba confirmando a denervação muscular química através da ação da TBA como uma

técnica não invasiva relevante para diversas especialidades da saúde.

Tem-se observado, nos últimos anos, uma insatisfação tanto de profissionais como dos pacientes, com relação a duração dos efeitos da toxina, razão que acaba interferindo diretamente no intervalo das sessões, conforto do paciente, custo operacional.

Mesmo considerando a diversidade de opções comerciais da TBA, variações no veículo e volume do mesmo para a sua reconstituição, número de pontuações (injeções, perfurações), unidades (U) do composto tóxico a serem administradas, locais e vias de aplicação, a visão mais clara que se tem, é que falta condições orgânicas ideais ao paciente.

Outro fato que não se deve relevar é a dificuldade de avaliação e individualização das



necessidades de cada paciente e há uma forte tendência na padronização dos protocolos já existentes, como por exemplo os sugeridos pelos consensos de estética. A associação da Dose e Número de pontuações (pertuitos) à severidade e incidência do número de rugas ao se contrair um músculo mimético também é outro parâmetro erroneamente utilizado.

Esses fatores comprometem os resultados, independente do protocolo de denervação química escolhido e numa proporção bem acima da imaginada.

Portanto, o processo de denervação muscular química e o tempo da recuperação muscular fisiológica, indiscutivelmente, apresenta lacunas técnicas batizadas neste estudo como “NEURO GAPS” (NG) ou simplesmente “GAPS” e o sucesso dos procedimentos visando a dener-

vação química, está diretamente relacionado à identificação e correção destes Gaps.

O cenário clínico padrão, isento de Gaps, envolve, nas fases pré e trans aplicação, um paciente suscetível e apto ao tratamento 2,3 ou seja, favorável à ação química da Toxina Botulínica A. Assim sendo ele deve pertencer ao grupo de pacientes sensíveis à toxicidade DL50 do composto, estar no momento e local da pontuação com o nível de acidez ou PH ideal, e apresentar concentração de zinco suficiente para cobrir a demanda orgânica desse mineral para efetiva ação proteolítica da Toxina.

Na tentativa de atenuar a ocorrência desses Gaps, complexos vitamínicos e complementações minerais específicas via oral têm sido orientadas, valendo-se dos benefícios de seus efeitos potencializadores para a ampliação



dos resultados, porém essa conduta está diretamente relacionada à capacidade de absorção e vida média do fármaco.

Na fase pós aplicação ou fase de inatividade muscular temporária, podemos citar como Gap os processos fisiológicos ou o metabolismo individual de cada paciente, e a interferência neste metabolismo pelo estilo de vida, uso de termogênicos, sedentarismo, excesso de atividade física, quantidade e qualidade de sono.

Esse artigo tem como objetivo apresentar recursos para prevenir dois GAPs, do processo de denervação muscular química, baseado no protocolo de reconstituição da TBA. Neste, será utilizado uma solução salina fisiológica estéril injetável enriquecida de Zinco em quantidade suficiente para torná-la ácida, com pH dentro do ponto isoelétrico ideal e suprir a demanda proteolítica

desse mineral no processo de denervação.

## A TOXINA BOTULÍNICA

### Estrutura Química

As moléculas de TBA apresentam pesos moleculares totais, que variam de acordo com a cepa, formulação e a presença ou não de complexo proteico protetor (Figura 1A).

Todavia, independente da origem, toda molécula da toxina tipo A apresenta-se com uma estrutura composta de três fragmentos proteicos definidos como seções ou cadeias. São denominadas cadeia ou seção 1, cadeia 2 e cadeia 3 ou cadeia Hcn, cadeia Hcc e cadeia Lc respectivamente, cada uma pesando 50kDA. Isso confere ao complexo 150kDA de peso. Este peso molecular constante proporciona características específicas de difusão do com-



posto tóxico. (Panicker JN, Muthane UB, 2003)

Essa estrutura proteica apresenta também uma ponte dissulfídica, que une as seções 2 e 3; um terminal denominado

HEXXH (Kayoko M. Fukasawa, Toshiyuki Hata, Yukio Ono, and Junzo Hirose, 2011) acoplado à seção 3, específico para ancoragem de átomos de zinco (Zn) (Aoki KR, 2001). (Figura 1B)

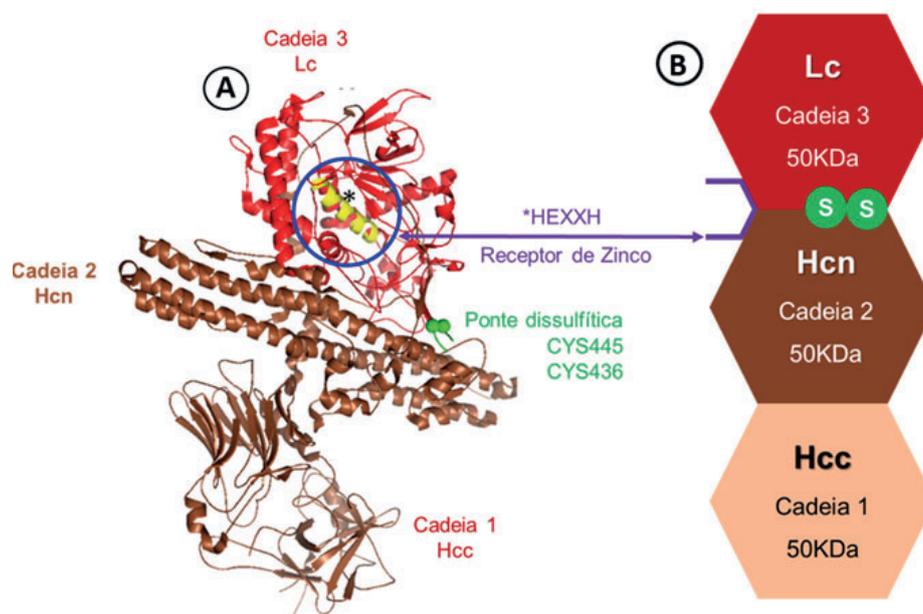


Figura 1 - (A) Estrutura espacial da molécula de TBA; (B) Esquema simplificado da molécula de TBA. Fonte: Matrone, MA; Vieira, M

Cada molécula de TBA possui acoplada a si um átomo de Zn (Figura 2) para realização da clivagem proteica, porém, durante a manipulação no laboratório

ele não raramente se desprende e torna a molécula inativa. (Aoki KR, 2001)



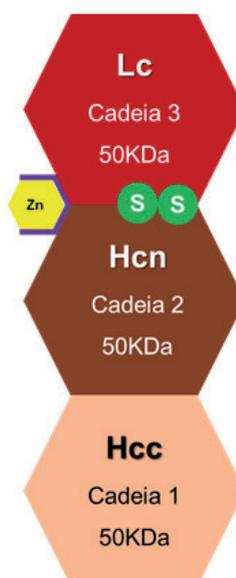


Figura 2 - Esquema simplificado da molécula de TBA com molécula de Zinco representada em amarelo inserida no receptor HEXXH. Fonte: Matrone, MA; Vieira, M

### Dados farmacológicos

A literatura sobre administração da TBA indica quase que exclusivamente a via intramuscular como via de eleição para sua aplicação, sem levar em consideração de que se trata de uma NEURO toxina, portanto, com tropismo ou filia por tecido nervoso.

Independente da via, sítio ou protocolo de aplicação,

uma vez presente no organismo, cada seção ou cadeia proteica da TBA desenvolve uma função distinta no processo de intoxicação celular e conseqüente bloqueio funcional (Borodic G, JoHnson E, Goodnough M, Schantz E, 1996) ou denervação química.

A seção ou cadeia 1 ou Hcn tem como missão localizar e direcionar toda estrutura da TBA até o nervo que corre sobre a superfície do músculo alvo. Esse



sítio anatômico neural antecede a entrada e posterior ramificação do neurônio no interior do músculo, onde cada ramo nervoso originado irá inervar isoladamente cada fibra muscular. Localizado o neurônio, a seção 1 da TBA precisa encontrar um receptor desocupado na sua membrana (Figura 3A) e fixando-se

nele (Figura 3B). Da aplicação a fixação, a TBA tem um prazo de 10 horas para realizá-lo, sendo que após esse período cerca de 50% das unidades passam a ser eliminadas pela urina. Uma vez completada a ligação com o terminal nervoso, termina aí função da cadeia 1.

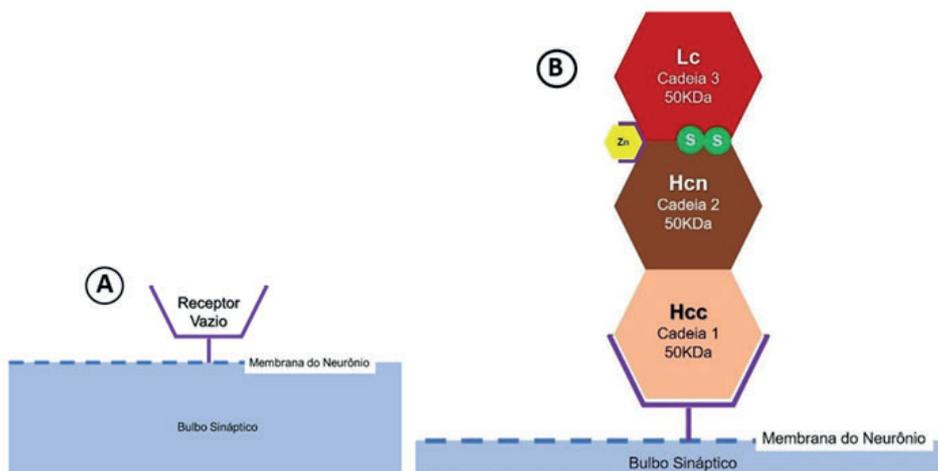


Figura 3 - (A) Esquema simplificado mostrando receptor de superfície de membrana axônica; (B) Esquema simplificado mostrando o acoplamento da molécula de TBA no receptor de superfície de membrana axônica. Fonte: Matrone, MA; Vieira, M

Cabe à cadeia 2 ou Hcc, realizar a internalização da TBA, etapa também definida como en-

docitose (Borodic G, JoHnson E, Goodnough M, Schantz E, 1996). O processo se inicia com



a invaginação da membrana do neurônio (figura 4A) e forma assim uma vesícula que se locomo-

verá através do citosol da célula nervosa em processo de localização da zona ativa (figura 4B).

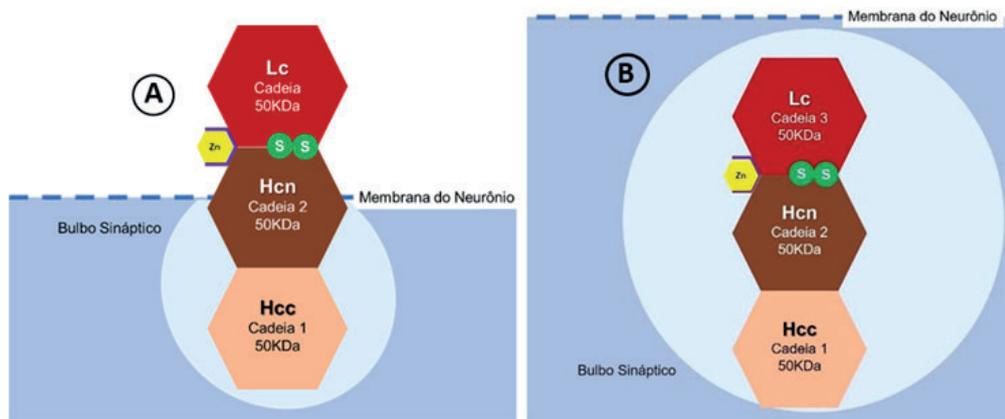


Figura 4 - (A) Esquema simplificado mostrando formação da vesícula para endocitose da TBA; (B) Esquema simplificado mostrando endocitose completa da molécula de TBA. Fonte: Matrone, MA; Vieira, M

A zona ativa é uma estrutura que se encontra acoplada a membrana interna do bulbo axônico e é composta pelas proteínas de ligação syntaxina e SNAP25 e junto à synaptobrevin, que é uma alça proteica anexa da vesícula de neurotransmissores,

formam o complexo SNARE (Figura 5).



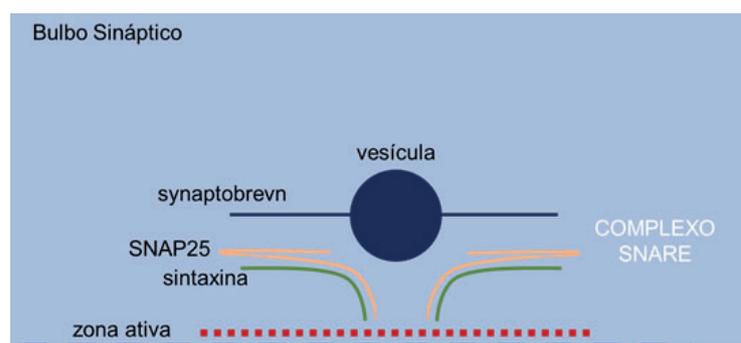


Figura 5 - Esquema simplificado mostrando componentes do Complexo SNARE. Fonte: Matrone, MA; Vieira, M

É o complexo SNARE a entidade responsável pela transmissão do impulso nervoso que desencadeará a contração muscular. A literatura que propõe os protocolos padrões de aplicação e que sugere a via intramuscular, aponta que essa internalização ocorre depois de 20 minutos e ela é máxima após 90 minutos<sup>10</sup>. Localizada a zona ativa, na membrana nervosa interna, para que a toxina se torne ativa ela necessita que a cadeia 3 ou Lc se libere das cadeias 1 e 2, o que ocorre com a clivagem proteolítica seletiva da ponte dissulfídica, ainda no inte-

rior da vesícula e dentro da célula nervosa, sob condições de acidificação. (Montecucco C, Tonello F. Bontoxilysin, 1998) (figura 6<sup>a</sup> e 6B). Esse processo é totalmente dependente do zinco que se encontra acoplado ao receptor HEXXH (Kayoko M. Fukasawa, Toshiyuki Hata, Yukio Ono, and Junzo Hirose, 2011). Sem esta clivagem, a seção 3 ou Lc não se libera das 1 e 2 e a molécula de TBA se torna inativa.

A ação proteolítica da seção 3, Lc, no complexo SNARE é seletiva para clivagem da SNAP 25, e impedirá a perpetua-



ção do potencial de ação, impossibilitando a contração muscular.

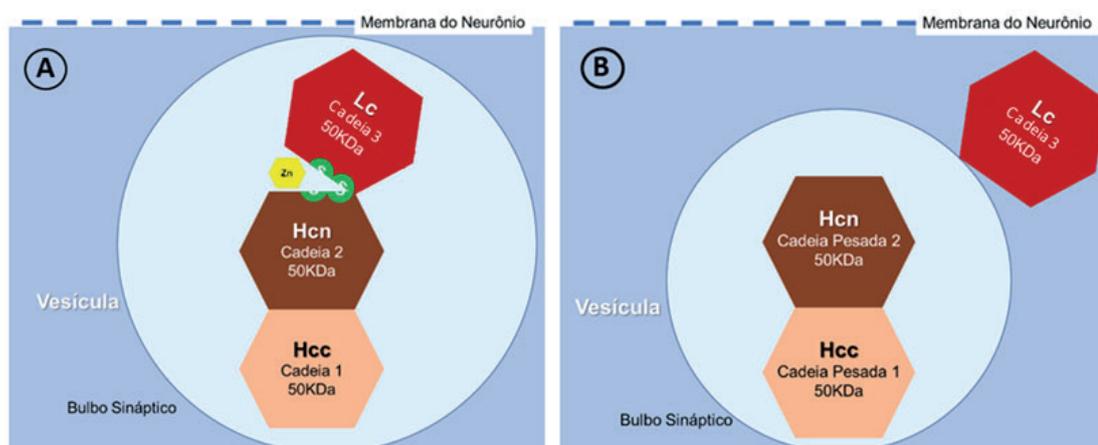


Figura 6 - (A) Representação da clivagem da ponte dissulfídica a partir da ação da molécula de zinco; (B) Liberação da Cadeia 3 da toxina para fora da vesícula após a clivagem. Fonte: Matrone, MA; Vieira, M

A ação proteolítica da seção 3, Lc, no complexo SNA-RE é seletiva para clivagem da SNAP 25, e impedirá a perpetuação do potencial de ação, impossibilitando a contração muscular.

### Fisiologia da transmissão nervosa

Resumidamente, a transmissão do impulso nervoso ou potencial de ação (PA), origi-

nalmente elétrico, e sua transformação em contração muscular, depende da ação química dos neurotransmissores acetilcolina (ACh) armazenadas em vesículas junto com outros neurotransmissores.

À chegada do estímulo elétrico, as alças das proteínas de ligação syntaxina e SNAP25, localizadas na zona ativa, se entrelaçam com a proteína synaptobrevim ou VAMP (vesicle-asso-



cited membrane protein) que é a alça proteica anexa da vesícula de AcH formando assim o complexo SNARE.

Esse entrelaçamento força a fusão da vesícula com a membrana do terminal nervoso e promove a liberação e lançamento dos neurotransmissores na fenda sináptica. As moléculas de AcH são atraídas pelos seus receptores próprios localizados na goteira sináptica na fibra muscular.

Esta atração resulta no acoplamento de duas moléculas de AcH por receptor, o suficiente para promover uma mudança estrutural que os permite abrir e conduzir a entrada de íons sódio  $\text{Na}^+$ . A entrada do sódio deflagará assim, a despolarização e contração da fibra muscular. Com essa exposição resumida do roteiro da transmissão nervosa fisiológica, a compressão da casca-

ta de eventos que resultam na denervação muscular química será mais facilmente desenvolvida.

A SNAP-25 é um resíduo proteico, ligado a superfície da membrana na região do neurônio conhecida como zona ativa e é requerida no crescimento do axônio. A TBA age nas proteínas da membrana pré-sinápticas, quebrando a membrana proteica da vesícula sináptica, SNAP-25, em 3 diferentes pontos de clivagem perto do terminal-C (Aoki KR, 2001). Essa ação da TBA é seletiva à SNAP 25 e realizada através da atividade da cadeia Lc que passa a ser considerada como uma endopeptidase zinco dependente específica para cada um dos 3 sítios de ligação dentro do sistema neurotóxico (Aoki KR, 2001) sob pH ácido 14.



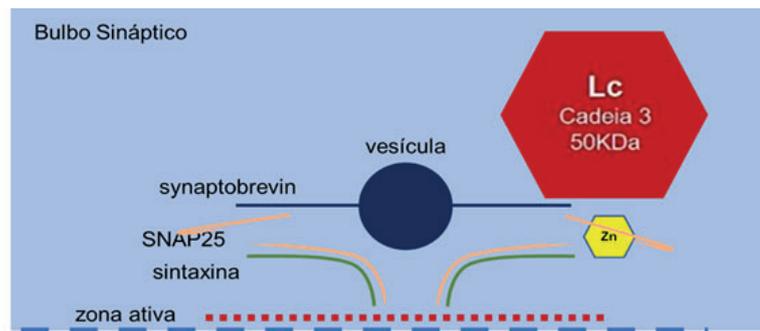


Figura 7 - Esquema simplificado mostrando a clivagem da SNAP25 por ação da Cadeia 3, processo que ocorre com presença de átomo de Zinco. Fonte: Matrone, MA; Vieira, M

Fica assim, a fração Lc da TBA, associada a uma ação proteolítica seletiva da proteína sináptica SNAP-25, agindo como uma protease zinco dependente (Johnson EA, 199).

A função específica destas metaloproteases consiste em auxiliar no duplo reconhecimento dos substratos, baseado na interação com o ponto de clivagem e com o segmento não contínuo que contém a estrutura modificada comum para a sinaptobrevin ou VAMP, SNAP-25, e a syntaxin.

As diferentes neurotoxinas reconhecem as estruturas terciárias de seus alvos sinaptobrevin, SNAP-25 e syntaxin. Estes alvos compartilham entre si um pequeno trecho de cadeia que é chamado “tema principal”. Este, aparece em 2 vezes na VAMP, 4 vezes na SNAP-25 e 2 vezes na syntaxin. Os peptídeos correspondentes a sequência específica do “tema principal”, nos 3 alvos proteicos, é inibida in vivo e in vitro pela atividade da neurotoxina, independentemente da sua origem ou tipo. Anticor-



pos antitoxina apresentam reação cruzada entre os e 3 alvos.

Estes resultados indicam que, o “tema principal” fica exposto e adota uma configuração similar para cada um dos 3 alvos das neurotoxinas. Além disto, as neurotoxinas específicas para a VAMP, para a SNAP-25, e para a syntaxin apresentam reação 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<sup>1</sup> (Aoki KR, 2001)

Todos estes dados indicam que a Toxina Botulínica é muito específica em termos tanto da ação junto à proteína alvo na parede da membrana sináptica, como da quebra da ponte peptídica levando, que estrutura anexa à clivagem da molécula. Esta especificidade está baseada em uma

dupla checagem reconhecendo o sítio de clivagem de um lado e o “tema principal” adicional, comum aos 3 alvos proteicos - VAMP, SNAP-25 e syntaxin, de outro.

Assim, elas reconhecem os seus substratos proteicos através de dois sítios que interagem com: 1- a região que inclui a cadeia peptídica a ser quebrada, e 2- a região de ligação similar à VAMP, SNAP-25 e syntaxin. Isto justifica a reação cruzada de anticorpos e a inibição cruzada dos diferentes tipos de neurotoxinas (Hambleton P, 1992)

Uma vez liberada no citosol<sup>14</sup> o bloqueio da exocitose dos neurotransmissores acetilcolina que promoveriam a propagação do estímulo elétrico, ocorre pela destruição dos sítios proteicos ou alças da proteína de ligação SNAP25, estrutura anexa da vesícula do neurotransmissor.



mente ocorrer a desnaturação e inativação. (Schantz EJ, Johnson EA, 1993)

### **Absorção**

No músculo, a quantidade de substância marcada, reduz-se até a metade, em aproximadamente 10 horas. Nas 24 horas pós-injeção, 60% da substância marcada é excretada pela urina. Provavelmente, a toxina se metabolize mediante protease e os componentes moleculares se reciclam através dos circuitos metabólicos normais (Weinkers K et al., 1984).

Sendo considerada uma neurotoxina, a TBA tem tropismo pelo tecido nervoso e sua aplicação deverá ser realizada sobre este. Além disso, quando da ocorrência de sangramento devido a aplicação intra muscular, o contato da TBA com sangue humano e devido ao pH deste ser levemente alcalino, imediata-

### **Zinco dependência**

Atualmente inúmeras pesquisas têm abordado a importância do zinco na saúde dos seres humanos. O zinco é responsável por várias funções bioquímicas, sendo um mineral presente em várias enzimas, dentre elas, enzimas do sistema nervoso central, fosfatase alcalina, superóxido dismutase e álcool desidrogenase. Está envolvido em processos fisiológicos como o crescimento e desenvolvimento, na divisão celular, morte celular, transcrição genética, expressão genética, atua estabilizando estruturas de membranas e componentes celulares, participa da resposta imunológica e do desenvolvimento cognitivo. A falta de zinco pode



causar diversas alterações fisiológicas como, danos oxidativos, falhas no sistema imune, hipogonadismo, danos neuropsicológicos, hipogeusia e dermatites. (Mafra D, Cozzolino SMF , 2004)

O zinco é encontrado também em alguns alimentos. A ingestão diária de zinco é em torno de 10mg/dia para adultos (Matrone, M ; de Paula, E.; Favarete, L; Barbosa, A P C, 2021). Na gestação, infância, puberdade e senilidade as necessidades deste mineral estão aumentadas. (Hambidge MK, Miller LV, Westcott JE. et al , 2008)

A toxina botulínica é uma endoproteose dependente de zinco, atua nas células vulneráveis clivando polipeptídeos essenciais para uma exocitose e para exercer a paralisia neuromuscular, com isso ocorre, uma série de eventos mediada por receptores que envolvem a sua li-

gação, internalização produtiva com translocação dependente do pH e atividade catalítica intracelular dependente da presença do zinco, e a concentração desse oligoelemento intracelular, pode limitar a ação da toxina. (Simpson LL, Coffield JÁ, Bakry N, 1993)

A biodisponibilidade do zinco pode ser afetada no processo de absorção intestinal ou já na circulação sanguínea. A absorção intestinal do zinco é diminuída por fatores antagonistas na alimentação, como o fitato, o oxalato, os taninos e os polifenóis. Mas pode ser facilitada pela presença de fosfatos, ácidos orgânicos, proteína e aminoácidos (cisteína e histidina). No sangue, pode haver competição do Zn com os minerais cobre e ferro, dependendo da quantidade desses elementos na corrente sanguínea. (Matrone, M ; de Paula, E.; Favarete, L; Barbosa, A P C,



2021)

Cada molécula de neurotoxina A contém um átomo de zinco, com exceção da BoNT/C que contém dois. A proporção do número de moléculas com zinco e por isto potencialmente ativas, e sem zinco, inativas, dependerá da temperatura e do tempo de incubação da cultura de bactérias (Aoki KR, 2001) sob pH ácido (Hambleton P , 1992). Resumindo, nem toda molécula de TBA comercializada, presente no frasco apresenta o átomo de Zn, o que as torna ineficazes para denervação muscular porém potencialmente eficazes para desencadear reações antígeno x anticorpo.

A cadeia Lc das toxinas botulínicas é longa e formada, dependendo do tipo de neurotoxina, por 422 a 445 segmentos peptídicos chamados “resíduos” (Hambleton P , 1992). Ela

apresenta vários segmentos homólogos concentrados nas porções central e amino terminal. O seguimento mais conservado encontra-se na porção central e contém as principais ligações para as zinco-endopeptidases.

Complementando as informações, e lembrando que a cadeia Lc necessita para sair da vesícula da endocitose de um átomo de Zn que pode estar ou não já incorporado ao terminal HEXXH (Kayoko M. Fukasawa, Toshiyuki Hata, Yukio Ono, and Junzo Hirose, 2011) e mais três para clivagem dos sítios da proteína SNAP (Mafra D, Cozzolino SMF , 2004), serão necessários 4 átomos de Zn para cada molécula de TBA23 para uma adequada denervação.

Como não existe no nosso organismo um cofre de Zn a disposição da cadeia Lc, torna-se evidente a complementação exó-



gena desse mineral. Outro fato a ser levado em consideração é que o veículo utilizado para reconstituição da TBA, o soro fisiológico 0,9% solução estéril injetável tem um pH 6,2, próximo ao pH do sangue que é de 6,0, sendo ambos, soro e sangue, neutros.

Como o ponto isoelétrico da TBA, no ser humano, acontece em pH entre 4,5 e 5,6, sendo o índice de 5,0 o ideal, o seu contato com níveis alcalinos, promove rapidamente a quebra de suas cadeias e inativação, assim como em contato com o sangue ou tecidos humanos ou animais (Schantz EJ, Johnson EA, 1992). A inativação da molécula.

A toxina botulínica depende do zinco para reagir no bloqueio da contração muscular, promovendo uma clivagem no receptor responsável. Maneiras de aumentar o seu efeito e durabilidade vem sendo estudadas, e o

seu mecanismo de ação cada vez mais compreendido. Busca-se assim soluções para aumentar sua efetividade na contração muscular, prolongar seu efeito diminuindo as aplicações frequentes e conhecer os inibidores e quelantes de zinco, que antagonizam a sua ação nos receptores neuromusculares.

A proposta do soro enriquecido é de agregar a quantidade exata de zinco às moléculas de toxina botulínica do tipo A. Ou seja, a cada 1 molécula de toxina deve-se agregar 4 moléculas de zinco. E propor também um pH onde melhore o sítio de ação da toxina botulínica. O soro estéril enriquecido com zinco, tem o pH em torno de 5,0. pH este mais compatível com o pH da toxina botulínica, assim aumentando e disponibilizando um rendimento 100% da toxina.

A solução fisiológica é



composta por cloreto de sódio 0,9% e água destilada (veículo). O sódio (Na<sup>+</sup>) cátion e o ânion cloreto (Cl<sup>-</sup>) são dois dos principais íons do fluido extracelular, e tem como função o controle o balanço eletrolítico, pressão osmótica, e balanço ácido/base. (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2012)

As soluções de Cloreto de sódio 0,9% são recomendadas para uso oral e parenteral para tratamento e ou profilaxia de deficiências dos íons em questão, e na reposição do fluido em desidratação e veículo isotônico ou diluente para administração parenteral de medicamentos compatíveis. Podendo ser utilizada também de forma tópica para limpeza de cavidades, limpeza de lesões de pele ou mucosas, bem como na higienização de das lentes de contato. (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2012)

## Conclusão

Conclui-se portanto que, a denervação muscular química apresenta lacunas ou Gaps, que comprometem o melhor aproveitamento das unidades de TBA aplicadas, obrigando os profissionais a administrar uma dosagem maior desse composto tóxico, quando não detectados e corrigidos. O pH ideal para ação da TBA e o nível de zinco circulante no sítio da aplicação, são dois desses eventos ou Gaps passíveis de solução através da substituição do soro fisiológico 0,9% solução estéril injetável, utilizado na reconstituição da TBA, por um veículo estéril injetável, enriquecido de zinco que corrige a relação átomos de zinco x moléculas de TBA, além de estabilizar o pH de 5,0. É necessário esclarecer também que a correção



desses Gaps associados ao local correto de aplicação colaboram com a diminuição da reação antígeno anticorpo.

### Referências Bibliográficas

Plastic and Reconstructive Surgery – March 20

Matrone MA, Barbosa APC, Borba AM, Santos TI, Moreira Junior JM, Pereira PLO, et al. Técnica do Ponto Motor – TPM: denervação muscular química com toxina botulínica A. RFAIPE [periódicos na internet]. 2019 [acesso em 16 out 2020];9(2):17-23 Disponível em: <http://revista-faipe.com.br/index.php/RFAIPE/article/view/173>.

Matrone MA, Barbosa APC, Borba AM, Santos TI, Azevedo FAZ, Pereira PLO, et al. Técnica do Ponto Motor – TPM: aplica-

ção da toxina botulínica tipo A no tratamento das rugas dinâmicas. RFAIPE [periódicos na internet]. 2019 [acesso em 16 out 2020];9(2):42-8

Panicker JN, Muthane UB. Botulinum toxins: pharmacology and its current therapeutic evidence for use. Neurol India. 2003; 51(4):455-60

Evans Menach, Yasuhiko Hashida, Kiyoshi Yasukawa, Kuniyo Inouye Effects of conversion of the zinc-binding motif sequence of thermolysin, HEXXH, to that of dipeptidyl peptidase III, HEXXXH, on the activity and stability of thermolysin ; PMID: 24018667; DOI: 10.1271/bbb.130360.

Kayoko M. Fukasawa, Toshiyuki Hata, Yukio Ono, and Junzo Hirose; Academic Editor: Shandar



- Ahmad; Metal Preferences of Zinc-Binding Motif on Metalloproteases Review Article | Open Access; Volume 2011 |Article ID 574816
- Aoki KR. PHarmacology and immunology of botulinum toxin serotypes. *J Neurol.*2001;248(Suppl 1):3-10.
- Aoki KR. A comparison of the safety margins of botulinum neurotoxin serotypes A, B, and F in mice. *Toxicon.* 2001;39(12):1815-20.
- Borodic G, JoHenson E, Good-nough M, Schantz E. Botulinum toxin therapy, immunologic resistance, and problems with available materials. *Neurology.* 1996;46(1):26-9.
- Göschel H, Wohlfarth K, Frevert J, Dengler R, Bigalke H. Botulinum A toxin therapy: neutralizing and nonneutralizing antibodies- Therapeutic consequences. *Exp Neurol* 1997;147(1):96-102.
- Montecucco C, Tonello F. Bontoxilysin. In: *Handbook of Proteolytic Enzymes.* Academy Press, NY-NY, cap. 510, pp. 1-5, 1998.
- Evans Menach , Yasuhiko Hashida, Kiyoshi Yasukawa, Kuniyo Inouye E ffects of conversion of the zinc-binding motif sequence of thermolysin, HEXXH, to that of dipeptidyl peptidase III, HEXXXH, on the activity and stability of thermolysin ; PMID: 24018667; DOI: 10.1271/bbb.130360.
- Kayoko M. Fukasawa, Toshiyuki Hata, Yukio Ono, and Junzo Hirose; Academic Editor: Shandar Ahmad; Metal Preferences of Zinc-Binding Motif on Metalloproteases Review Article | Open



Access; Volume 2011 |Article ID  
574816

Hambleton P. Clostridium Botu-  
linum toxins: a general review  
of involvement in disease, struc-  
ture, mode of action and prepa-  
ration for clinical use. J Neurol  
1992; 239: 16-20

Hambleton P. Clostridium Botu-  
linum toxins: a general review  
of involvement in disease, struc-  
ture, mode of action and prepa-  
ration for clinical use. J Neurol  
1992; 239: 16-20.

Johnson EA. Biomedical aspects  
of Botulinum toxin. J. Toxicol-  
-Toxin Reviews. 1999;  
18(1): 1-15.

Swaminathan, S.; Eswaramo-  
orthy, S. Análise estrutural dos  
sítios catalíticos e de ligação da  
neurotoxina B. Nat. De Clostri-

dium botulinum. Struct. Biol.  
2000,7, 693–699

Aoki KR et al. Pharmacology of  
BOTOX (botulinum toxin type  
A) purified neurotoxina complex:  
Local versus systemic muscle ac-  
tivity measurements in mice. Eur  
J Neurol 1995; 2: 3-9.

Gracies JM et al. Effects of botu-  
linum toxin type A dilution and  
endplate targeting technique in  
upper limb spasticity. Ann Neu-  
rol; 52 (1 Supply): S89 ABS 271.

Weinkers K et al. Botulinum to-  
xin injection into rabbit vitreous.  
OpHt Surg 1984; 15(4):310-4.

Schantz EJ, Johnson EA. Quality  
of Botulinum toxin for humam  
treatment. In: Botulinum and Te-  
tanus Neurotoxins: neurotrans-  
mission and biomedical aspects.  
New York: Plenum Press; 1993.



p. 657-59.

Rossetto O, Deloye F, Poulain B, Pellizzari R, Schiavo G, Montecucco C. The metallicproteinase activity of tetanus and Botulinum neurotoxins. J PHysiol 1995; 89: 43-40.

Artigo publicado na Revista Fisiátrica da USP pela Dra Maria Matilde de Mello Sposito (<https://www.revistas.usp.br/actafisiatrica/article/view/102495/100810>)

Schantz EJ, Johnson EA. Properties and use of Botulinum toxin and other microbial neurotoxins in medicine. Microbiol Rev. 1992; 52:80-99.

Mafrá D, Cozzolino SMF. The importance of zinc in human nutrition. Artigos de Revisão • Rev. Nutr. 17 (1) • Mar 2004.

Matrone, M ; de Paula, E.; Favarette, L; Barbosa, A P C. Impacto de dietas com suplementação de zinco nos efeitos da toxina botulínica em procedimentos de harmonização facial. FACE. ISSN2596-0210. V3 N° 2.2021

Hambidge MK, Miller LV, Westcott JE. et al. Dietary Reference Intakes for Zinc May Require Adjustment for Phytate Intake-Based upon Model Predictions. J. Nutr. v.138, p.2363–2366, 2008.

Simpson LL, Coffield JÁ, Bakry N. Chelation of Zinc Antagonizes the Neuromuscular Blocking Properties of the Seven Serotypes of Botulinum Neurotoxin as well as Tetanus Toxin. The journal of pharmacology and experimental therapeutics. Departments of Medicine and Pharmacology, Jefferson Medical College, Philadelphia, PA. v.267. n.2. jul.1993.



Pereira TC, Hessel G. Deficiência de zinco em crianças e adolescentes com doenças hepáticas crônicas. Rev. paul. Pediatr, São Paulo, v.27, n.3, p. 322-328, set. 2009.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2º ED; 2012.

