

5. Toxina botulínica y sus aplicaciones clínicas

Guillermo Fernández García

Médico especialista en Otorrinolaringología.

RESUMEN

La neurotoxina botulínica, estudiada desde hace 2 siglos, tiene unas propiedades únicas que la han convertido en un agente terapéutico de gran utilidad para una gran variedad de enfermedades crónicas, además de su ampliamente conocido uso como agente cosmético. Este trabajo ahonda desde sus aspectos bioquímicos y farmacológicos hasta su aplicación en las enfermedades actuales y sus futuros desarrollos.

Palabras clave: Bioquímica, farmacología, aplicaciones, desarrollos.

ABSTRACT

Botulinum neurotoxin, studied for 2 centuries, has unique properties that have made it a very useful therapeutic agent for a wide variety of chronic diseases, in addition to its widely known use as a cosmetic agent. This work delves from its biochemical and pharmacological aspects to its application in current diseases and its future developments.

Keywords: Biochemistry, pharmacology, applications, developments.

1. INTRODUCCIÓN

La neurotoxina botulínica (NTBo) es la toxina más letal conocida para el ser humano y una potente amenaza en su potencial uso como arma biológica. La NTBo tipo A (NTBo/A) tiene una dosis letal estimada en adultos de 1.3-2.1 ng/kg cuando se administra de manera intravenosa o intramuscular y de 10-13 ng/kg cuando se inhala (1).

Pese a ello, las propiedades únicas de esta neurotoxina la han convertido en un agente terapéutico de gran utilidad para una gran variedad de enfermedades crónicas, además de su ampliamente conocido uso como agente cosmético. Estas aplicaciones e deben gracias a las propiedades biológicas únicas que encontramos en esta fascinante proteína.

El estudio de la biología y comportamiento de esta neurotoxina desde hace casi 200 años han ido informando y ayudando a la comprensión de su toxicidad y actividad terapéutica,

abriendo la puerta al diseño de nuevas proteínas de mayor efecto y potencial terapéutico. Los futuros desarrollos y estudios prometen que esta proteína seguirá ampliando más su utilidad, ganándose un lugar en el salón de la fama de la medicina.

Desentrañar la biología de la neurotoxina ha informado la comprensión de la base tanto de su toxicidad como de su actividad terapéutica, abriendo oportunidades para diseñar la toxina para crear nuevas proteínas de mayor efecto y potencial terapéutico. Los desarrollos futuros prometen que la toxina amplificará aún más su uso y ganará un lugar en el salón de la fama de la medicina.

1.1. Historia

Antiguas leyes y tabúes dietéticos indican que el botulismo ha acompañado a la humanidad probablemente desde sus inicios. Se registró por primera vez en Europa en el siglo XVIII con el nombre de "intoxicación por salchichas", ya que inicialmente se asoció con la ingestión de salchichas alemanas. Sin embargo, no fue hasta 1822 que Justinus Kerner publicó la primera descripción precisa de los síntomas del botulismo transmitido por los alimentos.

El conocimiento moderno se origina con el descubrimiento de la bacteria en 1897 por Pierre van Ermengem. En 1919, Georgina Burke descubrió 2 toxinas botulínicas distinguibles antigénicamente: tipo A y tipo B. Durante las siguientes décadas, se descubrieron 5 tipos de toxinas más; tipos C (descubierto en 1922), D (1928), E (1937), F (1960) y G (1970) (2). En 2013, se descubrió el tipo H en las heces de un niño que padecía botulismo infantil (3).

El Doctor Alan Scott introdujo la toxina en la práctica médica a finales de 1970 (4), cuando demostró por primera vez la eficacia de la NTBo/A para el tratamiento del estrabismo en humanos. Durante las siguientes décadas, las investigaciones demostraron que los beneficios de la toxina se extendían mucho más allá de la oftalmología, proporcionando a los pacientes un alivio temporal de una amplia gama de afecciones médicas crónicas resultantes de la hiperactividad de las neuronas colinérgicas periféricas, como espasmos faciales, distonía focal, espasmos de las cuerdas vocales, etc. Actualmente se utiliza en casi todas las subespecialidades de la medicina y su valor de mercado total podría ascender a 4.300 millones de dólares estadounidenses (5).

1.2. Organismo

La NTBo es elaborada principalmente por la bacteria *Clostridium botulinum*. Además, cepas atípicas de *Clostridium barati* y *Clostridium butyricum* han demostrado ser capaces de producir respectivamente las variantes tipo F y tipo E de esta toxina, probablemente debido a la habilidad del *C. botulinum* para transferir los genes de la neurotoxina a otras especies de *Clostridium* (6,7).

1.2.1. Factores microbiológicos identificativos

El *Clostridium botulinum* es una bacteria grampositiva, anaeróbica, con capacidad de formación de esporas y con forma de bacilo. Es capaz de tolerar cantidades discretas de oxígeno gracias a la enzima superóxido dismutasa. Sin embargo, la neurotoxina se produce parcialmente durante la esporulación, proceso que solo puede ocurrir en un hábitat anaeróbico. Forma esporas muy resistentes que pueden sobrevivir a la mayoría de los climas del planeta, incluido al agua hirviendo (8).

1.2.2. Habitat y distribución

Se trata de una bacteria ubicuitosa que se encuentra en el lodo y sedimentos marinos de cualquier región de mundo, pudiendo contaminar sus aguas, vegetales cultivados y colonizando el tracto gastrointestinal de peces, pájaros y mamíferos (9).

1.2.3. Grupos

La clasificación en grupos se basa en la habilidad del organismo para poder digerir complejos proteicos (10). Las epidemias de botulismo en humanos son causadas por el grupo I "proteolítico" y II "no proteolítico". El *C. botulinum* grupo III es el responsable de la enfermedad entre distintas especies de animales, mientras que el grupo IV no ha demostrado causar enfermedad en humanos ni en animales (11).

1.3. Botulismo

El botulismo es una enfermedad neurológica aguda causada por las neurotoxinas botulínicas, provocando una neuroparálisis potencialmente letal.

1.3.1. Epidemiología

En Estados Unidos, aproximadamente se reportan 154 casos de botulismo anual al "Centro de Control y Prevención de Enfermedades". El botulismo infantil supone un 75% de todos los casos notificados. La incidencia del botulismo de origen alimentario es de aproximadamente 24 casos al año, mientras que el que se adquiere directamente por contacto a través de heridas cutáneas es de solamente 3 casos anuales.

Los rangos de mortalidad varían según la edad y tipo de botulismo: el de origen alimentario tiene una mortalidad entre el 5-10%, el de contacto por heridas entre el 15-17%, y el infantil se sitúa en menos de un 1% (13). Sin embargo, en los pacientes que no reciben tratamiento, la mortalidad oscila entre el 40 y 50% de los casos (14).

1.3.2. Manifestaciones clínicas

Hay 4 categorías principales de botulismo, según el área de entrada de la toxina:

Origen alimentario

Resultante de la ingestión de comida contaminada. Las principales fuentes son las conservas inadecuadamente preservadas, particularmente las envasadas de forma casera. Las verduras, frutas, pescado y cerdo son los vehículos de transmisión más comunes, pero con menor frecuencia pueden llegar a encontrarse en otros alimentos como en la ternera, pollo y leche.

Los signos y síntomas empiezan típicamente entre las 18 y 36 horas después de la ingestión de la toxina, pero este inicio puede demorarse durante varios días si la cantidad de toxina es menor. Las náuseas, los vómitos, los calambres abdominales y la diarrea suelen preceder a los síntomas neurológicos. La toxina actúa sobre las neuronas motoras provocando una parálisis flácida bilateral y simétrica que, de forma característica, comienza con los nervios craneales y se propaga al cuerpo provocando una debilidad descendente. Los signos comunes incluyen boca seca, visión borrosa o doble, ptosis palpebral, dificultad para hablar y disfagia. Las principales complicaciones incluyen insuficiencia respiratoria causada por parálisis diafragmática e infecciones pulmonares. No se acompaña de fiebre y no afecta al sistema neurosensorial.

Origen cutáneo

Ocurre mediante la colonización directa de la bacteria sobre una lesión cutánea, pudiendo elaborar y liberar la toxina in vivo. La inyección de drogas ilícitas, en particular la heroína, también puede provocar la enfermedad. Los síntomas neurológicos se desencadenan como en el botulismo transmitido por alimentos, sin embargo no

Tabla 1.2. Características de los grupos de *C. botulinum* (12).

Propiedades	Group I	Group II	Group III	Group IV
Tipo de toxina	A, B, F, H	B, E, F	C, D	G
Huésped de enfermedad	Humanos		Animales	–
Proteolisis	+	–	Débil	–
Sacarolisis	–	+	–	–
Resistencia de la spora	$D_{121^{\circ}\text{C}} = 0.21 \text{ min}$	$D_{82^{\circ}\text{C}} = 2.4 \text{ min}$		
Temperatura mínima para su crecimiento	12 °C	3 °C	No establecido	
Conformación génica	Cromosoma / plásmido		Bacteriófagos	Plásmido

se acompaña de síntomas gastrointestinales o de evidencia que implique un posible origen alimentario.

Origen inhalado

Hasta la fecha, los únicos casos han sido el resultado de la inhalación inadvertida de la toxina por parte de trabajadores de laboratorio. Sin embargo, podría suponer un potencial método de ataque bioterrorista.

Botulismo infantil

Se presenta mayoritariamente en lactantes menores de seis meses. A diferencia del botulismo transmitido de origen alimentario, causado por la ingestión de toxinas preformadas en los alimentos, el botulismo infantil ocurre tras la ingestión directa de esporas de *Clostridium botulinum*, que tienen el potencial de germinar y colonizar el intestino de lactantes, creando y liberando directamente nuevas toxinas. En la mayoría de los adultos, esto no sucede debido a la maduración del sistema inmune gastrointestinal que se desarrolla con el tiempo y que es capaz de prevenir el crecimiento de la bacteria. La mayoría de los casos son de origen desconocido, aunque algunos se han relacionado con la ingestión de miel.



Figura 1.3.2. Lactante con botulismo infantil (CDC.gov, 2021).

1.3.3. Diagnóstico

El diagnóstico inicial debe sospecharse basándonos en la anamnesis y los hallazgos físicos. Las pruebas de confirmación se realizan mediante el aislamiento del organismo en las heces (mediante cultivo sobre agar específico para el crecimiento de *C. botulinum*) o mediante la identificación de toxinas en los alimentos, el estómago o el contenido intestinal mediante un ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas, una prueba electroquimioluminiscente o una test de inoculación en ratones, siendo esta última la prueba complementaria más específica (15).

Las analíticas de sangre que contengan electrolitos séricos, pruebas de función renal y hepática, hemograma y análisis de orina, y los electrocardiogramas, serán normales a menos que ocurran complicaciones secundarias. La electromiografía muestra una respuesta aumentada a la estimulación repetitiva rápida.

1.3.4. Tratamiento y prevención

Los pacientes con síntomas de botulismo o exposición conocida deben ser hospitalizados y monitorizados periódicamente con mediciones seriadas de la capacidad vital.

La antitoxina proporciona inmunidad pasiva inmediata contra todos los tipos de neurotoxina botulínica circulante, evitando nuevas uniones al complejo sináptico y frenando la progresión sintomática. Sin embargo, no inactiva la toxina que ya se encuentre unida, debiendo esperar a la recuperación espontánea mediante la regeneración de las terminaciones nerviosas en 1 a 3 meses. Las medidas de soporte suelen basarse en el requerimiento soporte ventilatorio e intubación nasogástrica para evitar aspiraciones. Además, se puede administrar carbón activado en casos de sospecha de botulismo de origen alimentario, beneficiándose de lavado gástrico y/o enema si han transcurrido pocas horas desde la ingestión. En caso de botulismo cutáneo, se requiere desbridamiento de la herida y administración de penicilina.

La piedra angular de la prevención la "cocción botulínica" (121 °C durante 3 minutos) de todos los alimentos enlatados o embotellados (16).

2. ASPECTOS BIOQUÍMICOS

El *C. botulinum* elabora ocho exotoxinas antigénicamente distinguibles: A, B, C1, C2, D, E, F, G y H. La tipo H es la más potente, seguida de las tipo A, B y F. Las toxinas A y B son las únicas comercializadas como tratamiento terapéutico, ya que muestran el tiempo de acción más prolongado *in vivo* (17).

Todos los serotipos contienen una proteína doble compuesta por un polipéptido de cadena pesada de 100 kDa unido mediante un enlace disulfuro a un polipéptido de cadena ligera de 50 kDa. Este complejo de toxina botulínica puede asociarse en ocasiones a otras proteínas no tóxicas, aportándole propiedades hemoaglutinantes (18).

Para la mayoría de los serotipos existen varios subtipos según las diferencias que encontramos en las secuencias de aminoácidos. La *NTBo/A1* es el subtipo mejor estudiado con diferencia debido a su explotación en el campo comercial, seguido de la *NTBo/B*. Ambos son, en este momento, los únicos productos del mercado farmacéutico disponibles. Los más de 30 subtipos restantes se encuentran en estudio y desarrollo para su potencial uso terapéutico en el futuro (19).

2.1. Mecanismo de acción

Todos los serotipos de *BoNT* interfieren en la unión neuromuscular, bloqueando la liberación de acetilcolina (*ACh*)

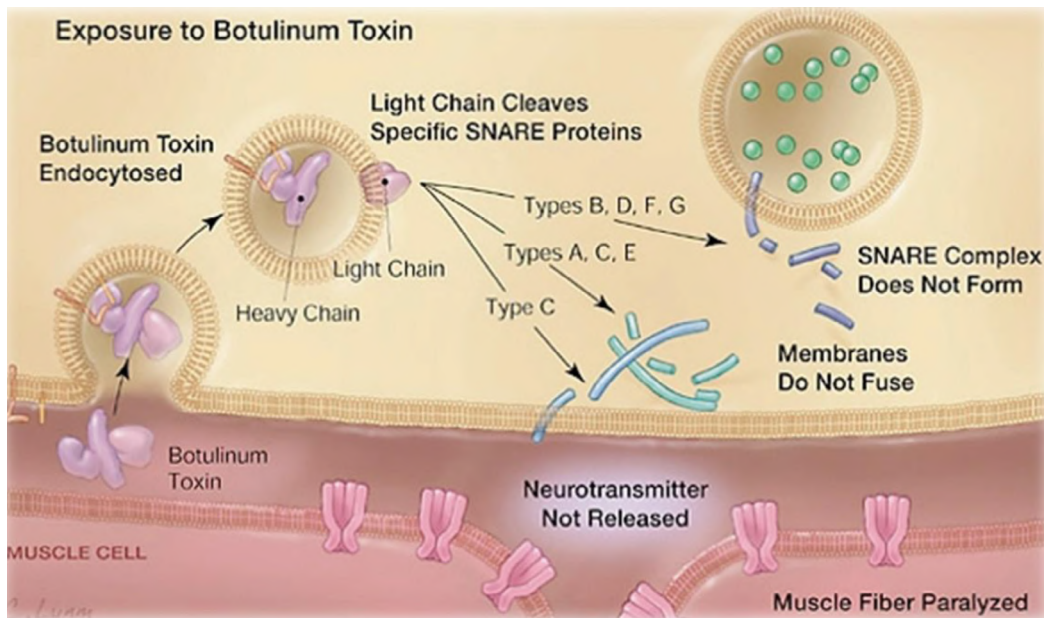


Figura 2.1. Ilustración del mecanismo de acción de la toxina botulínica (Arnon et al., 2001).

de las neuronas motoras presinápticas causando parálisis muscular. La cadena pesada de la toxina se une de manera selectiva e irreversible a los receptores de alta afinidad que se encuentran en la superficie presináptica de las neuronas colinérgicas, induciendo la absorción por endocitosis del complejo toxina-receptor (20). El enlace de disulfuro entre las dos cadenas se rompe y la cadena ligera escapa al citoplasma gracias a su actividad como metaloproteasa. A partir de aquí, la cadena ligera interactúa con proteínas *SNARE* específicas^A, evitando la fusión de vesículas de *ACh* con la membrana celular.

Transcurren de 24 a 72 horas para objetivar el efecto de la *NTBo/A* inyectada, lo que refleja el tiempo necesario para interrumpir el proceso de sinapsis. El pico de la parálisis ocurre de 4 a 7 días después de la inyección, y la función se recupera mediante el nuevo brote de terminaciones nerviosas y la formación de nuevos contactos sinápticos; este último proceso suele tardar entre dos y tres meses (21).

2.2. Áreas de actuación

La toxina botulínica actúa selectivamente en el espacio presináptico de las neuronas motoras colinérgicas en la unión neuromuscular. Las ubicaciones específicas incluyen:

- *Motoneuronas alfa* del músculo esquelético, conllevando su amplio uso terapéutico en condiciones de hiperactividad muscular y espasticidad.
- *Neuronas gamma* de los husos musculares, evitando la hiperactividad refleja que se postula como desencadenante adicional en las distonías (22).
- *Neuronas parasimpáticas y simpáticas* del sistema nervioso autónomo (*SNA*): este lugar de actuación permite ampliar su uso como tratamiento de la hiperactividad en

los músculos lisos (por ejemplo, en la acalasia) o en las glándulas (por ejemplo, hiperhidrosis) (23).

- *Neuronas colinérgicas* del sistema nervioso central (*SNC*). A pesar de una posible distribución sistémica, no se han informado efectos directos de la *NTBo* sobre el *SNC*, ya que su tamaño de 150 kD no le permite atravesar la barrera hematoencefálica. Además, la potencial vía de entrada por transporte axonal retrógrado es demasiado lento, causando una probable inactivación de la toxina previa a su llegada al *SNC* (24).
- Receptores del dolor: Aunque el alivio del dolor se atribuyó inicialmente a la reducción de la hiperactividad muscular, la *NTBo* también ha demostrado bloquear la sustancia P en conejos (25), lo que confirma un efecto directo en la supresión del dolor.

3. ASPECTOS FARMACOLÓGICOS

3.1. Formulación y dosificaciones

Hay 4 productos de la neurotoxina diferentes (Tabla 3.1). Todos los productos terapéuticos empleados son preparaciones de la *NTBo/A1*, dominando ampliamente el mercado de toxinas, con una excepción, la *NTBo/B*, que pese a su comercialización no se ha ganado una participación significativa en la práctica clínica. Todas estas formulaciones tienen en común un perfil de seguridad, eficacia, duración y aplicación muy similares. Sin embargo, podemos resumir algunas diferencias relevantes (26):

- El Botox® fue la primera preparación de *NTBo* que se lanzó. Su seguridad está bien establecida y cuenta con la aprobación de la *FDA* para todas las potenciales aplicaciones terapéuticas que puede ofrecer la neurotoxina.
- El Dysport® fue lanzado en 2009, 20 años después del Botox. Es más económico y contiene menos cantidad de proteína que el Botox, lo que significa una menor

^A Proteínas *SNARE*: superfamily mediating vesicle fusion, targeted by BoNT and tetanus toxin. BoNT serotypes target 3 different SNARE proteins: SNAP-25 by type A and E, synaptobrevin by type B, D, F and G, and Syntaxin by type C.

Tabla 3.1. Formulaciones de NTBo disponibles en EE.UU. y Europa (UE)(28).

Nombre genérico	OnabotulinumtoxinaA "Ona/A"	AbobotulinumtoxinaA "Abo/A"	IncobotulinumtoxinaA "Inco/A"	RimabotulintoxinB "Rima/B"
Nombre comercial	Botox® Vistabel® (uso cosmético)	Dysport® Azzalure® (uso cosmético)	Xeomin® Bocouture® (u cosmético)	Myobloc® (EEUU) Neurobloc® (UE)
Aprobada	1989 EEUU y UE	1991 EEUU, 2009 UE	2005 EEUU, 2010 UE	2000 EEUU y UE
Serotipo	BoNT/A1			BoNT/B
Peso molecular	900 kD	600 kD	150 kD	700 kD
Excipientes	Albumina			
	NaCl	Lactosa	Sucrosa	Succinato sódico
Mantener	3 años a 2-8 °C	2 años a 2-8 °C	4 años a ≤ 25 °C	3 años a 2-8 °C

formación de anticuerpos contra él. Los estudios clínicos han demostrado que el Dysport tiene una mayor distribución tisular; esto podría significar que se requiere un menor número de pinchazos para abarcar un área concreta, pero también es posible que se propague a áreas locales no deseadas, causando posibles efectos secundarios adversos, como visión borrosa o ptosis palpebral.

- El Xeomin® es la única preparación que contiene proteína pura de 150 kD, lo que conlleva a demostrar la tasa más baja de formación de anticuerpos incluso tras ser administrado en dosis altas o sesiones repetidas. Por el contrario, tiene la mayor tasa de distribución tisular.
- Myobloc / Neurobloc® es el único producto elaborado con NTBo/B. Necesita ser administrado en volúmenes de 30 a 50 veces mayores que el Botox para obtener efectos similares, siendo por tanto más doloroso, menos duradero y presentando una mayor incidencia de efectos secundarios que los productos de tipo A, especialmente en cuanto a disfagia y xerostomía (27).

Las dosis de todas las toxinas botulínicas disponibles comercialmente se expresan en términos de unidades de actividad biológica. Una unidad de toxina botulínica corresponde a la mediana de la dosis letal intraperitoneal (DL50) calculada en ratones Swiss-Webster hembra (29). Desafortunadamente, debido a las distintas características farmacocinéticas, se ha creado mucha confusión entre las dosis y unidades de potencia de las dos principales preparaciones (Botox y Dysport) (30). Pese a este sistema de estandarización utilizado en ratones, una unidad de Botox parece ser 3 veces más potente que una unidad de Dysport en humanos (31). Por tanto, cada producto tiene un perfil de dosificación único. La potencia de cada producto de NTBo es específica para la preparación y el método de ensayo empleados, y las unidades de actividad biológica no se pueden comparar ni convertir de un producto a otro (32).

3.2. Manufactura y preparación

El proceso de manufacturación conlleva:

- *Medios de cultivo*: Incluye un agente reductor para conseguir un medio anaeróbico y nitrógeno adicional usado como cobertura de la capa de cultivo. Dado que los requi-

sitos nutricionales del *C. botulinum* no se conocen con detalle, se utilizan medios de crecimiento animales y vegetales complejos, que incluyen como sustratos principales, 2% de hidrolizado de caseína, 1% de extracto de levadura y 0,5% de dextrosa (33). El crecimiento óptimo para las variantes de tipo A se establece a una temperatura de 37 °C y un pH de 6,8 (34).

- *Producción de toxinas*, que se inicia desde las primeras etapas de crecimiento (35). La esporulación de las bacterias ocurre en menor intensidad durante las etapas iniciales de crecimiento, pero se vuelve abundante a medida que el ciclo de vida bacteriano termina y se acerca a la muerte. La esporulación reducida está relacionada con una producción reducida de NTBo, lo que indica que los dos procesos pueden estar vinculados genéticamente (36).
- Finalmente, la *purificación de la toxina* se consigue a partir del aislamiento del cultivo mediante diálisis y precipitaciones seriadas a pH de 3,5 (37). El almacenamiento final ocurre en forma de neurotoxina purificada (en el caso de Xeomin®) o vinculada a otras proteínas (como ocurre en el resto de formulaciones) (38).

La preparación requiere la reconstitución de la toxina diluyéndola con una solución salina estéril al 0,9%. Esto debe realizarse de 4 a 24h antes de su uso, dependiendo de la preparación (39). La dilución final, como en el caso del Botox, es principalmente una cuestión de preferencia personal. Normalmente se mezclan 100 unidades en 1-10 ml de diluyente. Teóricamente, las soluciones más concentradas permanecieran cercanas al área inyectada, mientras que las soluciones más diluidas conducen a una mayor difusión de la toxina (40).

3.3. Administración, monitorización y precauciones

La NTBo se inyecta por vía intramuscular con una aguja pequeña de calibre 30. Las dosis se ajustan según el modo de empleo y la individualización de cada paciente, y depende de la masa de músculo que se inyecte; cuanto mayor sea la masa muscular, mayor será la dosis requerida. En áreas delicadas y localizadas, como en su uso para el estrabismo, las inyecciones suelen estar guiadas por electromiografía (41). Mediante esta técnica nos aseguramos

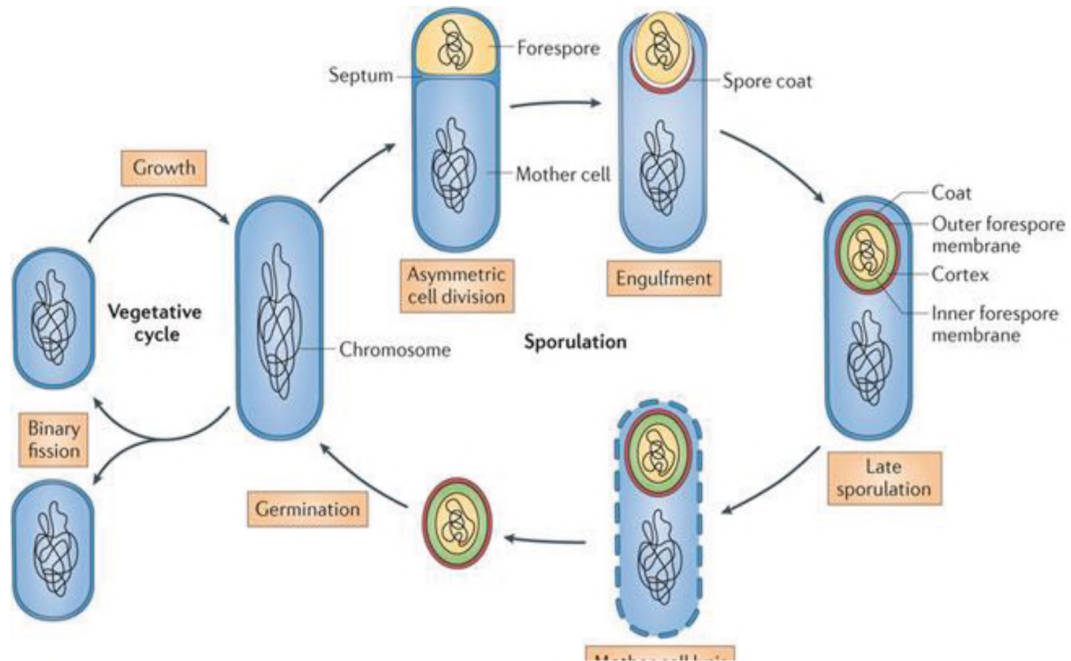


Figura 3.2. Ciclo de esporulación y germinación (Nature, 2013).

que la inyección se administre en el punto muscular que más contribuye a la disfunción.

La debilidad muscular inducida por la inyección de *NTBo/A* suele durar unos tres meses. Por lo tanto, para el seguimiento de la eficacia se implica la evaluación de la respuesta mediante medidas subjetivas y objetivas y la repetición de nuevas inyecciones a intervalos regulares. Este intervalo varía mucho según la dosis, grupo muscular y la susceptibilidad individual. A medida que se inyectan las sucesivas dosis, se genera una atrofia muscular progresiva que hará que el músculo sea más susceptible a nuevas dosis, requiriendo además más tiempo entre punciones para lograr el efecto deseado inicial.

Como precaución general, después de la administración, el paciente debe:

- Evitar la presión en el lugar de la inyección durante 6-12 horas.
- Evitar actividades extenuantes durante uno o dos días y abstenerse de tratamientos con láser durante una o dos semanas después de las inyecciones.

Estas medidas se realizan para minimizar la difusión de la toxina a los músculos circundantes debido al aumento de la circulación sanguínea o la presión directa.

3.4. Efectos adversos

A pesar de su alta toxicidad, dado que el mecanismo de acción de la neurotoxina es local, las inyecciones se toleran correctamente y los eventos adversos suelen ser leves y transitorios, con una duración de una a dos semanas.

Los *efectos secundarios generales más comunes* son:

- Dolor leve durante la inyección, edema local, eritema.
- Entumecimiento transitorio.

- Malestar o náuseas leves.
- Debilidad / parálisis temporal no deseada de la musculatura cercana.

Ningún fármaco puede revertir la *NTBo* una vez que está unida al complejo presináptico, siendo el tiempo para el nuevo crecimiento neuronal el único método de reversión de estos efectos. Sin embargo, en caso de ptosis palpebral, el uso repetido de colirio de fenilefrina al 2,5%, un agente alfa-adrenérgico que estimula al músculo de Müller, a demostrado ayudar a recuperar la elevación el párpado superior.

En caso de disfagia, puede ser necesaria la ingesta de alimentos blandos.

Los *eventos adversos raros* incluyen:

- Cefalea: sin embargo, se cree que este se debe al dolor irradiado tras el traumatismo causado por la inyección (42).
- Disfunción de la vesícula biliar atribuida a efectos secundarios autónomos de los toxina, causando retención biliar y posible dolor cólico transitorio (43).
- Plexopatía braquial: extremadamente rara, probablemente debida a mecanismos autoinmunes (44).
- Se notificó fascitis necrotizante en un caso de mujer inmunosuprimida con blefaroespasmos (45).

No se han informado reacciones alérgicas graves, sin embargo, el paciente puede ser alérgico a cualquiera de sus componentes.

Desde 2009, en todos los productos comercializados bajo la aprobación de la *FDA* se advierte del potencial riesgo de propagación del efecto de la toxina desde el área de inyección, pudiendo causar síntomas similares a los del botulismo. Sin embargo, una afectación sistémica grave se considera excepcional (46).



Figura 3.4. Paciente con ptosis palpebral tras la extensión accidental de la toxina.

3.5. Contraindicaciones (47)

Absolutas

- Presencia de infección activa.
- Hipersensibilidad conocida al agente.

Relativas

- Embarazo y lactancia: la toxina puede atravesar la barrera placentaria. No hay datos sobre el riesgo para el embrión, pero se podría suponer que un sistema nervioso en desarrollo que no está protegido por una barrera hematoencefálica compelta puede verse afectado en caso de enfermedad materna.
- Enfermedades neuromusculares preexistentes como en casos de: neuropatía de la neurona motora, miastenia gravis, síndrome de Eaton-Lambert.
- Inestabilidad psicológica, para casos cosméticos.

Interacciones

- Los aminoglucósidos pueden aumentar el efecto de la NTBo y generalmente deben evitarse.
- Los bloqueadores de los canales de penicilamina, quinina, cloroquina y calcio pueden reducir el efecto.
- Los agentes anticoagulantes pueden provocar hematomas en el lugar de inoculación.

3.6. Fallo terapéutico

Los pacientes que no responden a las inyecciones y que nunca han respondido anteriormente, se designan como *no respondedores primarios*. Esto puede ocurrir debido a una técnica de inyección inadecuada o una toxina desnaturalizada. Los pacientes con arrugas que no son de origen dinámico (como las arrugas de origen solar o las relacionadas con el envejecimiento cutáneo por la edad) también pueden resultar en fracaso terapéutico (48).

Los *no respondedores secundarios* muestran un efecto visible inicialmente, pero pierden eficacia a medida que se pautan

las inyecciones posteriores. El mecanismo de acción de esta tolerancia se debe en su mayoría a la creación de anticuerpos capaces de neutralizar la toxina. Los pacientes que reciben dosis individuales más altas o inyecciones de refuerzo frecuentes parecen tener un mayor riesgo de desarrollar anticuerpos. Por lo tanto, las inyecciones deben administrarse a la dosis efectiva más baja y con la menor frecuencia posible. En los ensayos clínicos, los pacientes resistentes a la NTBo/A se han visto beneficiados con las inyecciones con el serotipo NTBo/B ya que este presenta distintas propiedades inmunogénicas (49).



Figura 3.6. Las 4 marcas comerciales aprobadas en EEUU y UE.

4. APLICACIONES CLÍNICAS

La NTBo está diseñada para proporcionar un tratamiento sintomático rápido y eficaz en una amplia variedad de afecciones médicas, especialmente en el estrabismo, distonías focales, espasmo hemifacial y diversos trastornos del movimiento espástico (50). Además existen ensayos clínicos alentadores para ampliar su futura indicación a otros campos como dolores de cabeza (51), hipersalivación (52) e hiperhidrosis (53). De este modo, la lista de posibles indicaciones se está expandiendo rápidamente (Tabla 4 y 4.1).

Pese a las indicaciones específicas que presenta cada marca comercial, es probable que todas las formulaciones de NTBo acaben demostrando su eficacia en el mismo abanico de indicaciones.

Tabla 4. Lista las posibles indicaciones off-label de la neurotoxina (55).

Desórdenes de hiperactividad muscular	<p><i>Distonías focales:</i> distonía laríngea, distonía de extremidades, distonía oromandibular, distonía orolingual, distonía del tronco</p> <p><i>No distonías:</i> espasmo hemifacial, temblor, tics, mioquimia, sinquinesia, tinnitus, hereditario, calambres musculares, bruxismo nocturno, trismo, anismo, vaginismo, mioclono doloroso</p> <p><i>Oftálmico:</i> nistagmo, estrabismo, oscilopsia, esotropía, exotropía, Síndrome de Duane, ptosis terapéutica para la protección corneal</p> <p><i>Músculo liso:</i> vejiga neurogénica, disinerxia del esfínter detrusor, hipertrofia prostática benigna, acalasia, enfermedad de Hirschsprung, disfunción del esfínter de Oddi, fisuras anales crónicas, fenómeno de Raynaud</p>
Espasticidad	Accidente cerebrovascular, esclerosis múltiple, parálisis cerebral, lesión cerebral traumática, lesión de la médula espinal
Dolor crónico	Cefalea tensional, dolor neuropático, síndrome de dolor miofascial, epicondilitis lateral, lumbalgia crónica, dolor de rodilla, dolor de hombro
Otros	Hiperhidrosis palmar, babeo en parálisis cerebral y otros trastornos neurológicos, síndrome auriculotemporal, alergia nasal y rinitis alérgica

En la práctica, es probable que todas las formulaciones de *NTBo* finalmente demuestren eficacia en el mismo rango de indicaciones (54).

4.1. Distonía focal primaria

La distonía es una contracción muscular involuntaria sostenida de músculos antagonistas, que provoca movimientos repetitivos de torsión y posturas anormales (57). No existe cura para la distonía primaria, en parte también porque su fisiopatología aún no se comprende por completo. Por tanto, el tratamiento es solo sintomático y está encaminado a disminuir los movimientos involuntarios, corregir posturas anómalas, prevenir contracturas, reducir el dolor y, en definitiva, intentar mejorar la calidad de vida del paciente.

Las piedras angulares actuales del tratamiento médico sintomático incluyen la denervación química con inyecciones

Tabla 4.1. Indicaciones aprobadas por la FDA para cada marca comercial (56).

Preparación	Indicaciones aprobadas por la FDA
Botox®	<ul style="list-style-type: none"> Tratamiento de la incontinencia urinaria por hiperactividad del detrusor asociada a afección neurológica [p. ej., lesión de la médula espinal o esclerosis múltiple] en adultos que tienen una respuesta inadecuada o son intolerantes a un medicamento anticolinérgico Profilaxis de dolores de cabeza en pacientes adultos con migraña crónica (≥ 15 días al mes con dolor de cabeza de 4 horas al día o más) Tratamiento de la espasticidad de miembros superiores en pacientes adultos. Tratamiento de la distonía cervical en pacientes adultos, para reducir la gravedad de posición anormal de la cabeza y dolor de cuello. Tratamiento de la hiperhidrosis axilar severa que no es manejada adecuadamente por agentes tópicos en pacientes adultos. Tratamiento del blefaroespasma asociado con distonía en pacientes ≥ 12 años de edad Tratamiento del estrabismo en pacientes ≥ 12 años
Dysport®	<ul style="list-style-type: none"> Tratamiento de la distonía cervical en pacientes adultos, para reducir la gravedad de posición anormal de la cabeza y dolor de cuello ²⁰¹⁰ Tratamiento estético de líneas glabellares en adultos ²⁰¹¹
Xeomin®	<ul style="list-style-type: none"> Espasticidad de los miembros superiores ²⁰¹⁵ Sialorrea debido a causas neurológicas ²⁰¹⁸ Blefaroespasma ²⁰¹⁹
Myobloc®	<ul style="list-style-type: none"> Tratamiento de la distonía cervical en pacientes adultos, para reducir la gravedad de posición anormal de la cabeza y dolor de cuello.

de *NTBo*, la estimulación bilateral del globo pálido y el tratamiento farmacológico con antidopaminérgicos (58).

Tabla 4.2. Tratamientos recomendados para los subtipos de distonía más frecuentes.

Subtipos	Primera línea	Segunda línea	Tercera línea
Distonía cervical	<i>NTBo</i>	Trihexyfenidilo, baclofen, clonazepam	Tetrabenazina, Denervación selectiva periférica, ECP
Blefaroespasma		Baclofen, clonazepam	ECP, miectomía
Distonía oromandibular		Baclofen, clonazepam, tetrabenazina	ECP
Distonía miembros		Baclofen	ECP
Disfonía espasmódica		Benzatropina	Denervación del nervio recurrente
Distonía generalizada	Trihexyfenidilo	<i>NTBo</i> , baclofen, clonazepam	Tetrabenazina, ECP, baclofeno intratecal

4.1.1. Distonía cervical

La distonía cervical (DC) es la presentación más común de distonía focal primaria, causando movimientos y posturas anormales en el cuello.

Las inyecciones de NTBo se consideran el *gold standard* actual para la DC (59). Hasta el 85% de los pacientes se benefician de esta terapia, especialmente en cuanto a la postura cefálica, el dolor y la mejora del rango de movimiento. El tratamiento inicial debe estar dirigido a los músculos más activos, que contribuyen a los movimientos y posturas distónicas. La mayoría de los estudios muestran que la latencia promedio de acción clínica es de alrededor de 1 semana. La duración del beneficio oscila entre 8 y 16 semanas, aunque puede alargarse hasta de 5 a 6 meses, especialmente tras sesiones repetidas (60).

Varios metaanálisis de series de ensayos clínicos doble ciego han demostrado un efecto beneficioso de la NTBo /A frente al placebo en múltiples ámbitos, como en la gravedad de la distonía, el dolor y la valoración subjetiva del paciente y del médico (61). Varias grandes series de casos han demostrado la eficacia del tratamiento hasta 10 años, sin efectos adversos a largo plazo (62). La comparación del efecto clínico entre la NTBo /A y NTBo /B mostró la no inferioridad para la NTBo /B (63). Los eventos adversos fueron idénticos a los de NTBo /B, pero se sugiere que esta puede mostrar más frecuentemente un riesgo de disfunción autonómica.

Los efectos secundarios de mayor interés (mostrándose en mayor frecuencia con dosis más altas) son la debilidad cervical, disfagia, sequedad oral, odinofagia y trastorno del ronquido simple.

Los fallos de eficacia primarios son comunes, ocurriendo aproximadamente en el 15-30% de los pacientes, y tiene varias causas que incluyen: contracturas que impiden la propagación para un mayor efecto, dosificación inadecuada, selección muscular incorrecta, inaccesibilidad de los músculos involucrados (64). El fracaso secundario de la NTBo afecta aproximadamente al 10-15% de los pacientes con distonía y se debe principalmente a la creación de anticuerpos contra la proteína (65).

4.1.2. Blefaroespasmos

El blefaroespasmos es una distonía focal que afecta al músculo orbicular de los ojos y a los músculos perioculares, lo que provoca un cierre involuntario excesivo (intermitente o persistente) de los párpados. La NTBo ha sido reconocida como el tratamiento de elección para el blefaroespasmos (66). Aunque no hay estudios clínicos controlados, aleatorizados y de alta calidad que respalden el uso de la NTBo en el blefaroespasmos, varios estudios de grandes casos de series indican que es un tratamiento eficaz y seguro (67). Los datos recopilados por la Sociedad Estadounidense de Oftalmología mostraron que la NTBo /A trata con éxito aproximadamente al 90% de los pacientes con blefaroespasmos.

Las inyecciones suelen ser bien toleradas, causando eventos adversos más frecuentes, xeroftalmia, ptosis palpebral y debilidad facial. Estos efectos que ocurren en el 10% de los pacientes tratados y duran menos de dos semanas (68).

El tratamiento comienza con pequeñas dosis que se aumentarán según sea necesario en las sucesivas sesiones de tratamiento. La dosis óptima se encuentra cuando hay una mejoría subjetiva que dure de 2 a 3 meses sin efectos secundarios apreciables. Se han utilizado dosis muy altas (> 100 U) de NTBo/A en casos seleccionados para tratar con éxito el blefaroespasmos refractario (69).

Para garantizar resultados óptimos, además, es fundamental comprender la anatomía muscular periorbitaria y elegir una técnica adecuada. El tratamiento estándar implica la inyección en cuatro sitios alrededor de cada ojo, dos en el párpado superior, uno medialmente y uno lateralmente cerca del canto ocular. El lugar de la inyección influye mucho en el resultado; los mejores resultados se obtienen cuando se coloca en sitios pretarsales, en lugar de orbitales (70). La aplicación de dos inyecciones en el canto lateral inferior y una cerca de la línea media del párpado inferior parece producir efectos de mayor duración (71).

La latencia promedio desde el momento de la inyección hasta el inicio de la mejoría varía de 3 a 5 días y en casi todos los pacientes se observa un beneficio que dura de 2 a 3 meses. Las diferentes preparaciones de NTBo /A son

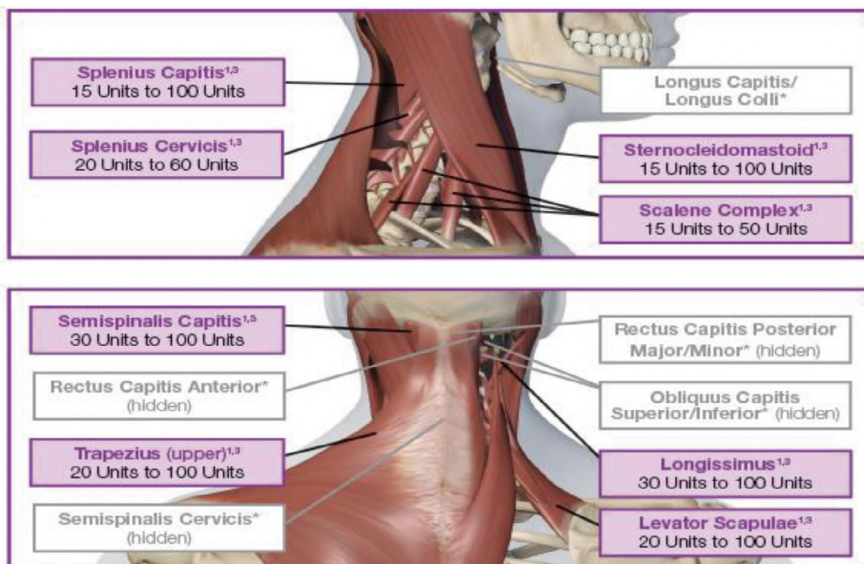


Figura 4.1.1. Los músculos en recuadros morados han sido aprobados para la inyección con BOTOX® (Stacy M, ed. Handbook of Dystonia).

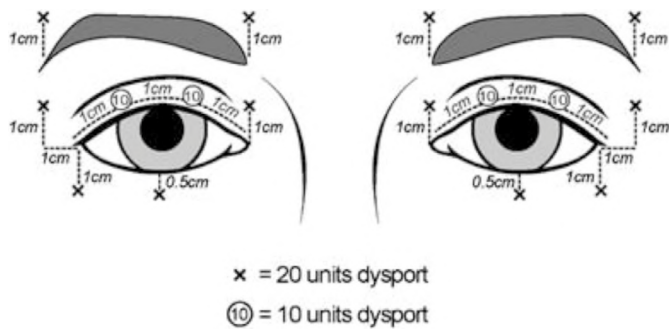


Figura 4.1.2. Áreas y dosis de inyección de la NTBo para tratar el blefaroespaso (E. Ortisi, 2006).

similares en términos de eficacia y efectos adversos (72); sin embargo, un ensayo de clase IV encontró que *Ona* /A tiene un efecto de mayor duración que *Abo* /A (73). Además, las preparaciones de *BoNT* /B también se han utilizado con éxito en el tratamiento del blefaroespaso (74).

4.1.3. Distonía oromandibular y lingual

La distonía oromandibular (*DOM*) involucra la contracción involuntaria de los músculos masticatorios provocando mordeduras accidentales de la lengua, dificultad para masticar y hablar y alteración de la expresión facial, con su consecuente repercusión social. La distonía lingual se asocia en ocasiones, o puede encontrarse de manera aislada. La *DOM* puede provocar complicaciones secundarias, como cefalea tensional, aumento del desgaste dental, síndrome de la articulación temporomandibular o dislocación de la articulación temporomandibular. La *NTBo* es el tratamiento de elección para cualquier caso de *DOM*, con respuestas especialmente en satisfactorias en *DOM* con cierre mandibular (75). En este caso, la *NTBo* se inyecta tanto en los músculos maseteros como en los temporales. Si estas inyecciones no son suficientes para controlar los movimientos distónicos, se puede inyectar el pterigoideo interno. En la *DOM* de apertura mandibular, el músculo más importante a tratar es el pterigoideo externo, seguido del músculo digástrico. Cuando domina la protuberancia mandibular, deben inyectarse ambos pterigoideos externos. Como la mayoría de estos músculos no son fácilmente accesibles por palpación, las inyecciones generalmente se realizan bajo guía por

Frontalis —————
 Temporalis —————
 Obicularis oculi —————
 Levator —————
 Lateral Pterygoid —————
 Masseter —————

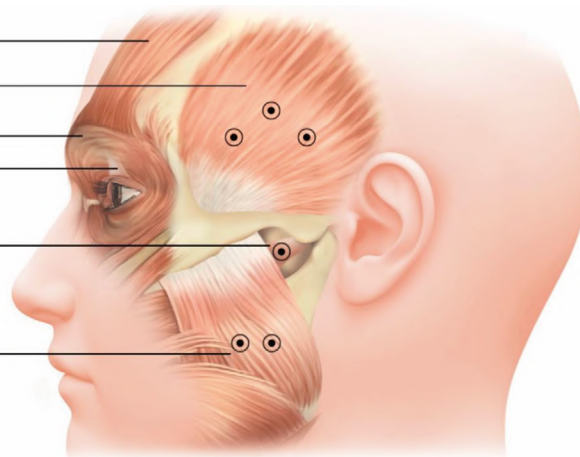


Figura 4.1.2. Áreas de inyección de NTBo en la DOM (Travis J.W. Hassell, 2020).

EMG. El 31% informó eventos adversos, principalmente disfagia y disartria (76).

La afectación lingual es difícil de tratar, ya que la necesidad de preservar la actividad funcional limita la cantidad de toxina que se puede utilizar y el riesgo de disfagia es alto (77). Algunos autores sugieren que los fármacos anticolinérgicos pueden ser el tratamiento de elección en los casos con distonía lingual, sin embargo, la línea de tratamiento primaria sigue siendo un tema de debate (78).

4.1.4. Distonía focal de extremidades

Si bien la *NTBo* representa el tratamiento de elección para las distonías focales de las extremidades, el resultado funcional de los tratamientos es decepcionante en comparación con el del blefaroespaso o la distonía cervical, en particular porque los movimientos de la mano implican el fino ajuste de muchos músculos del antebrazo y de la mano. Aún así, no existen tratamientos médicos o quirúrgicos alternativos efectivos.

Las distonías típicas de las extremidades superiores incluyen calambres del músico y del escritor. El objetivo principal es corregir la postura anormal de la mano y aliviar la incomodidad, para lo cual diversos estudios han designado a la *NTBo* como tratamiento eficaz (79). El objetivo secundario de restaurar la función normal de la mano es extremadamente difícil de lograr, y como consecuencia, a pesar de la mejoría inicial, algunos pacientes no continúan con las inyecciones.

El primer paso en la planificación del tratamiento es identificar los músculos que se estén afectados más gravemente, separando los movimientos distónicos de los compensadores. Después de la inspección inicial, la selección del músculo mediante *EMG* generalmente permite refinar la elección de los puntos de entrega de la toxina. La debilidad y el dolor transitorios en el sitio de la inyección son los eventos adversos informados más frecuentemente.

Se han informado tratamientos para la distonía del pie con *NTBo*, pero no hay ensayos controlados disponibles (80). Todavía se recomienda el uso de *NTBo* ya que faltan alternativas terapéuticas.

4.1.5. Disfonía espasmódica

La disfonía espasmódica (*DE*) es una distonía laríngea que causa espasmos musculares anormales solo durante el habla, provocando alteraciones en la calidad vocal (81). Se han identificado diferentes tipos de *DE*; el tipo aductor, causado por la hiperadducción del músculo tiroaritenoides, es el más común y produce una voz aguda, trémula y áspera. El tipo abductor produce una voz hipofónica y entrecortada. La disfonía de ciclo invertido es un tipo raro que causa estridor no hipóxico durante la inspiración.

Durante muchos años, las únicas opciones de tratamiento fueron la terapia del habla o la psicoterapia con malos resultados en general. Hasta la introducción de la *NTBo*, las intervenciones quirúrgicas habían sido las únicas opciones verdaderamente eficaces, pero los efectos secundarios y los decepcionantes resultados a largo plazo limitaron su utilidad. Actualmente, la *NTBo/A* se considera el tratamiento de elección para este trastorno; la mayoría de los investigadores informan una mejora del 75% al 95% en los síntomas de la voz y una mejora significativa en la calidad de vida. Los eventos adversos incluyen hipofonía respiratoria transitoria, ronquera y ocasionalmente disfagia con aspiración (82).

Con mayor frecuencia, la *DE* aductora se trata inyectando por vía percutánea a los músculos aductores laríngeos bajo guía por *EMG*. Los tratamientos unilaterales mostraron un perfil de eficacia / tolerabilidad más favorable que los bilaterales (83). La experiencia con la *NTBo/B* en la *DE* es más limitada. La rimabotulinumtoxina B tuvo un inicio más rápido y una duración de acción más corta (10,8 frente a 17 semanas) en estudios recientes publicados, mostrando un perfil de seguridad comparable (84).

La musculatura del aductor es más difícil de tratar, ya que afecta a los músculos cricoaritenoides posteriores, el crico-tiroideo o ambos. La mejora general fue alta, alrededor del 70%. El efecto secundario más relevante en un estudio fue una voz débil y entrecortada durante los primeros días y el 6% mostró disfagia transitoria a sólidos (85).



Figura 4.1.5. Áreas de inyección para la disfonía de los aductores se inyecta el músculo posterior (Jayita Poduval, 2021).

4.2. Desórdenes de hiperactividad no distónica

En este grupo se incluyen los trastornos de hiperactividad neuromuscular que afectan al músculo esquelético bajo mecanismos fisiopatológicos heterogéneos.

4.2.1. Hemiespasmo facial

Los espasmos hemifaciales (*EHF*) son una forma de mioclonías segmentarias que provocan contracciones clónicas involuntarias, intermitentes e irregulares de los músculos inervados por el nervio facial (86).

La mayoría de los casos de *EHF* se atribuyen a una arteria aberrante que comprime el nervio facial en la zona de salida de la raíz, y el resto se asocia a lesiones ocupantes de espacio como meningioma, neuroma acústico y tumor de la glándula parótida. La parálisis del nervio facial periférico puede preceder o coexistir con los *EHF*. Las lesiones ocupantes de espacio deben tratarse quirúrgicamente cuando sea posible. Para la mayoría de los otros casos o candidatos no quirúrgicos, el tratamiento de primera línea varía entre pacientes y centros.

Los medicamentos alivian los síntomas en el 50% de los pacientes, pero a menudo son ineficaces en el manejo a largo plazo y los efectos secundarios pueden ser relevantes (87). La descompresión microvascular destinada a separar la arteria aberrante del nervio facial tiene una alta tasa de éxito de entre el 88 y 97% y, en la mayoría de los casos, la resolución del *HFS* es duradera, lo que respalda su uso en pacientes más jóvenes. Por otro lado, los síntomas reaparecen en el 25% de los pacientes en los primeros 2 años y ocurren complicaciones graves en el 20%, incluyendo sordera permanente, parálisis facial, sangrado excesivo e incluso la muerte (88). La rizotomía química, al ser menos invasiva, muestra resultados similares a la descompresión (89).

La *NTBo* tiene una tasa de éxito igual a la de la cirugía y la rizotomía, con un costo similar a largo plazo y un perfil más seguro, emergiendo así como una opción de primera elección para el manejo sintomático (90). Las inyecciones se colocan por vía subcutánea en la porción orbicular o pretarsal de los párpados y el orbicular de los ojos se alcanza fácilmente por difusión local. Si es necesario, se pueden tratar otros sitios (como la ceja medial, el procerus, el corrugador y el músculo frontal). Los pacientes con *EHF* tienen la menor incidencia de resistencia al tratamiento, probablemente debido a las bajas dosis utilizadas (de 10 a 60 U de *Ona/A*). Se observan efectos secundarios menores en el 30% de los pacientes, como eritema, equimosis en la región inyectada, ojos secos, boca caída, ptosis palpebral, debilidad facial o edema (91).

4.2.2. Temblor

El temblor se define como un movimiento oscilatorio rítmico e involuntario de una parte del cuerpo que se produce por contracciones alternas de músculos recíprocamente inervados. El temblor esencial (*TE*) es el tipo de temblor más común y también el trastorno del movimiento observado con mayor frecuencia (92).

El propranolol y la primidona son el tratamiento de primera línea para el *TE* leve o moderado, pero la farmacoterapia generalmente no es suficiente para controlar los temblores de alta amplitud que afectan las actividades de la vida diaria.

No hay estudios de clase I que investiguen la eficacia de la *NTBo* en el temblor, pero existe un consenso general de que este tratamiento no es tan eficaz como en la distonía o la espasticidad (93, 94).

Solo tres estudios de Clase II apoyan una recomendación de nivel B para el tratamiento del temblor con *Ona /A*: dos estudios en pacientes con temblor esencial de la mano, con una mejoría modesta (1,5 / 4 puntos) (95), y un estudio en pacientes con temblor de cabeza (con 2,5 puntos) / 4 puntos) (96).

4.2.3. Tics

Los "tics motores" son movimientos relativamente breves e intermitentes generalmente precedidos por una sensación premonitoria. El síndrome de Tourette es la aparición de tics motores y vocales durante más de un año.

Aunque hay una falta de ensayos clínicos controlados, varias series de casos evidencian que la quimiodenervación focal con *Ona/A* mejora no solo los movimientos involuntarios sino también el componente sensorial premonitorio de los tics motores y fónicos y puede ser particularmente útil en los casos de "latigazo cervical" potencialmente mortales que ocurren en pacientes con tics de cuello (97, 98).

El único efecto secundario relevante fue la hipofonía, con una mejoría en la calidad de vida en general. No hay estudios que evalúen el resultado a largo plazo de la *NTBo* en los trastornos de tics.

4.2.4. Bruxismo nocturno

El bruxismo nocturno es un trastorno del movimiento relacionado con el sueño que hace que los molares superiores e inferiores rechinen entre sí.

Previo a su tratamiento, se debe retirar o cambiar la medicación que pueda provocar este síndrome en los pacientes candidatos. La terapia con aparatos es un remedio rápido y eficaz para prevenir el desgaste y las lesiones de los dientes.

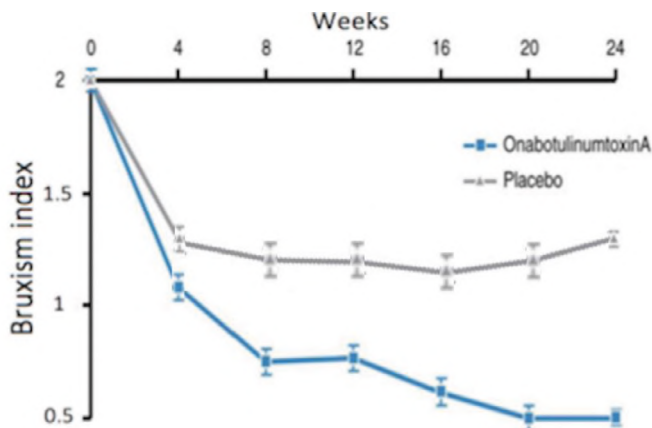


Figura 4.2.4. Seung Jin, et al. Ensayo clínico randomizados sobre el bruxismo nocturno (2010).

La terapia con *NTBo* está especialmente indicada en el tratamiento del bruxismo severo, el cual suele estar asociado con estado de coma, lesión cerebral, abuso de anfetaminas, enfermedad de Huntington, autismo y enfermedad de Parkinson, pero también se está utilizando para tratar casos menores de bruxismo (99).

Grandes series de casos de 120 pacientes mostraron que la *NTBo/A* inyectada en los músculos maseteros disminuyó los síntomas subjetivos del bruxismo de manera segura y eficiente (100).

4.2.5. Discinesia tardía

La discinesia tardía (*DT*) se caracteriza por movimientos involuntarios de la lengua, los labios, la cara, el tronco y las extremidades que ocurren en pacientes tratados con medicamentos antagonistas dopaminérgicos a largo plazo.

Los anticolinérgicos se prescriben en asociación con neurolepticos para reducir la incidencia de *DT*, pero son ineficaces una vez que se manifiestan. Se ha informado que la tetrabenazina mejora la *DT*, aunque no se logra un control satisfactorio de los síntomas en todos los casos.

La distonía tardía focal responde al tratamiento con *NTBo* tan bien como en la distonía primaria (101). Particularmente, el blefaroespasmio tardío y la distonía cervical requieren las mismas dosis de *NTBo* que se usan para tratar las afecciones primarias.

4.2.5. Tinnitus

El tinnitus es la percepción del sonido sin una causa externa. Si bien la fisiopatología sigue siendo poco conocida, y las causas descritas son múltiples, algunos investigadores creen que el espasmo muscular cefálico o cervical es la causa más común de tinnitus y representa hasta el 80% de los casos (102).

La *NTBo* reduce las entradas al SNC desde los receptores en los músculos cervical, temporal, frontal y periauricular. El estudio clínico prospectivo doble ciego en 26 pacientes encontró una mejora en las puntuaciones del inventario de discapacidad del tinnitus después de la inyección de toxina botulínica A en comparación con el placebo. Es necesario completar estudios más amplios para evaluar más a fondo los posibles beneficios de la toxina botulínica A en el tratamiento de este difícil problema (103).

4.2.7. Espasmos del suelo pélvico

Los espasmos del suelo pélvico incluyen una serie de condiciones dolorosas y heterogéneas, de etiología desconocida, que afectan las estructuras del suelo pélvico. Se han realizado ensayos con *NTBo* sobre anismo (104), vaginismo (105), vulvodinia (106) y dolor pélvico no menstrual (107).

4.3. Espasticidad

La espasticidad es un aumento de tono muscular involuntario y dependiente de tonicidad basal muscular que

causa resistencia al movimiento. La base fisiopatológica no se comprende por completo y se cree que puede surgir de un desequilibrio entre la entrada excitatoria e inhibitoria de las neuronas motoras α causada por daño en el cerebro o la médula espinal. La espasticidad se presenta de forma difusa o focal en trastornos del SNC, como en ictus, esclerosis múltiple, traumatismo craneoencefálico, lesión de la médula espinal y parálisis cerebral (108).

El objetivo del tratamiento de la espasticidad es reducir la hiperactividad motora para mejorar el movimiento sin empeorar la debilidad. Además, la reducción de la hiperactividad de la musculatura antagonista puede ayudar a exprimir la potencia residual funcional. El abordaje terapéutico de la espasticidad requiere un juicio integral y multidisciplinario de los objetivos funcionales: todos los tratamientos médicos y quirúrgicos deben combinarse con intervenciones físicas; por lo tanto, las inyecciones de *NTBo* no pueden considerarse como un enfoque individual (109).

La *NTBo* está indicada no solo para prevenir y limitar el deterioro funcional causado por la espasticidad, sino también para proporcionar una mejoría funcional (110). Los datos de seguridad y eficacia llevan a considerar las inyecciones de *NTBo* como el tratamiento farmacológico de elección en la espasticidad focal, para mejorar tanto la posición de las extremidades y la capacidad funcional como para reducir el dolor (111).

En la mayoría de los estudios de *NTBo* en la espasticidad de las extremidades utilizaron técnicas electrofisiológicas o de ultrasonido para optimizar la búsqueda del punto de inyección muscular, de manera similar a la distonía focal de las extremidades. Las dosis de *NTBo* que se usan en la espasticidad son más altas que las que se usan para tratar otros trastornos del movimiento, por lo que ha despertado la precaución de dosis máxima particularmente en niños. Un límite superior seguro para la *Ona/A* o *Inco/A* es de 6U/Kg por músculo, con una dosis total máxima de 1.000 U por niño (112). No se han establecido las dosis máximas absolutas para adultos, pero probablemente no deberían superar las 2.000 unidades en cada sesión. El manejo práctico puede ser tan simple como inyectar algunos músculos involucrados en la espasticidad focal de inicio en la edad adulta o involucrar un enfoque escalonado complejo como para algunos casos de espasticidad de en la niñez que requieren un ajuste gradual.

Los efectos secundarios comunes observados en adultos y niños incluyen dolor muscular, dolor en el lugar de la inyección, erupción cutánea, fatiga, debilidad excesiva, síntomas similares a los de la gripe, infección y reacción alérgica, pero generalmente se informa que son leves y reversibles.

Las investigaciones futuras resaltarán algunos de los problemas sin respuesta en el tratamiento de la espasticidad, como la eficacia y la seguridad a largo plazo y la rentabilidad. También se necesitan estudios de alta calidad sobre la espasticidad de los miembros inferiores. Finalmente, el momento oportuno para iniciar el tratamiento con *NTBo* debe asociarse y estratificarse por estrategias de manejo complementarias, como intervenciones físicas y ortopédicas.

4.3.1. Espasticidad post-ictus

En adultos, el accidente cerebrovascular es la causa más común del síndrome de la *MNS*, que a menudo se presenta con aducción del hombro y la cadera, con codo, muñeca y flexión plantar. Los estudios observacionales y controlados muestran evidencia de que la *NTBo/A* es superior al placebo para reducir la espasticidad de las extremidades superiores e inferiores después de un accidente cerebrovascular (113). A pesar de la mejora en la calidad de vida, no hubo un efecto general sobre los parámetros funcionales de la discapacidad. La reducción de la hipertonia se mantiene durante más tiempo en los músculos distales que en los proximales probablemente debido a dosis insuficientes inyectadas en los músculos proximales más grandes (114).

4.3.2. Espasticidad en la esclerosis múltiple

En esta afectación, la *NTBo* se ha utilizado para tratar la espasticidad del aductor del muslo, los pies equinos, el dedo del pie estriado o la aducción del hombro. El tratamiento con la *NTBo* también ayuda a los pacientes que están posttrados en cama o en silla de ruedas a prevenir la aparición de úlceras por decúbito y dolor (115).

Dado el pequeño número de pacientes con esclerosis múltiple (*EM*) estudiados, es necesario realizar más estudios a largo plazo en grandes cohortes. Además, la fatiga relacionada con la *EM* podría verse agravada por la *NTBo*, especialmente si consideramos que se necesitan grandes dosis para la espasticidad.

4.3.3. Parálisis cerebral

La parálisis cerebral (*PC*) es un trastorno provocado por una lesión cerebral prenatal, perinatal y posnatal, que combina espasticidad, aumento o disminución del tono muscular y pérdida del control de la coordinación muscular en varios grados. Los desarrollos más dinámicos se pueden observar durante los primeros 6 años de vida, siendo la espasticidad el síntoma más común.

La *NTBo/A* combinada con cirugía y fisioterapia es actualmente el mejor enfoque de tratamiento para niños con *PC*. Los objetivos de la *NTBo* incluyen la reducción del dolor y los espasmos musculares, la mejoraría la postura para minimizar las contracturas y las deformidades, facilitar la movilidad y mejorar la facilidad de atención del paciente.

Como la espasticidad necesita dosis altas de *NTBo* y los niños tienen menos tolerancia a altas cantidades de toxina, el tratamiento con *NTBo* puede conducir a una sintomatología similar al botulismo. Informes de casos graves han descrito hospitalizaciones que involucraron soporte ventilatorio e incluso la muerte (116).

4.4. Enfermedades oftálmicas

4.4.1. Estrabismo

El estrabismo es la falta de paralelismo de los ejes visuales oculares, que provoca diplopía y fatiga visual. La inyección de la toxina para tratar el estrabismo, publicada en 1981,

se considera el primer uso de la toxina botulínica con fines terapéuticos (117). Sin embargo, actualmente no existe una recomendación clara sobre el uso de la toxina botulínica en el tratamiento del estrabismo (118).

La *NTBo* se considera una alternativa útil a la cirugía en casos particulares, como para personas no aptas para la anestesia general, en condiciones clínicas inestables o en evolución, después de una cirugía fallida o para proporcionar alivio a corto plazo de la diplopía (119). Se ha informado que la terapia con toxina botulínica tiene un éxito similar al de la cirugía de estrabismo para pacientes con visión binocular y menor eficacia que la cirugía para aquellos que no tienen visión binocular (120).

Los efectos secundarios más comunes descritos son la ptosis y la corrección excesiva o insuficiente.

4.4.2. Nistagmo

El nistagmo es una oscilación ocular rítmica y periódica de los ojos que puede ser fisiológica, provocada o patológica.

El tratamiento del nistagmo es complejo e incluye tratamientos médicos, ópticos, quirúrgicos y otros diversos. El objetivo es reducir los síntomas visuales (como visión borrosa, oscilopsia) reduciendo la velocidad de las fases lentas del nistagmo o suprimiendo las oscilaciones sacádicas. Los tratamientos que impiden por completo el movimiento de los ojos como la *NTBo* no son ideales, ya que provocan oscilopsia durante los movimientos de la cabeza (debido a la pérdida del reflejo vestibulo-ocular) y diplopía (debido a la pérdida de los movimientos oculares de convergencia) (121). Por lo tanto, el papel de la *NTBo* puede considerarse solo en pacientes con nistagmo intratable (122).

4.5. Trastornos de hiperactividad del músculo liso

4.5.1. Hiperactividad neurogénica del detrusor

La hiperactividad del detrusor es una afectación urodinámica caracterizada por contracciones involuntarias del músculo detrusor vesical durante la fase de llenado que pueden ser espontáneas o provocadas.

La terapia convencional se basa en fármacos anticolinérgicos. Aunque es eficaz, esta opción de tratamiento produce con frecuencia molestos efectos adversos anticolinérgicos sistémicos, especialmente en los ancianos.

La *Ona/A* se considera una terapia de segunda línea para pacientes refractarios o no candidatos a terapias antimuscarínicas y conductuales por la Asociación Americana de Urología (123).

La toxina se administra con mayor frecuencia a través del músculo detrusor y, más recientemente, a través de la instilación en la vejiga. Se debe usar profilaxis antibiótica con inyecciones de *NTBo/A* intradetrusor, ya que la tasa de infección sintomática del tracto urinario después de su inyección puede exceder el 7%, siendo el evento adverso más común (124).

Un informe de consenso europeo recientemente publicado sobre el uso de *NTBo/A* encontró evidencia de grado A en

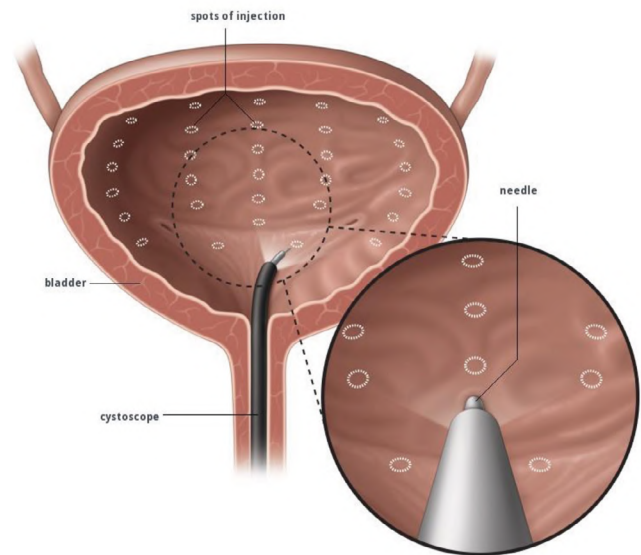


Figura 4.5.1. Áreas de inyección de *NTBo* mediante cistoscopia (Allergan, 2013).

los síntomas intratables de hiperactividad del detrusor tanto neurogénica como idiopática en adultos, siendo la única condición urológica que cuenta con un fuerte respaldo en la evidencia (125).

4.5.2. Disinergia detrusor-esfínter

La disinergia detrusor-esfínter (*DDE*) se define como una contracción del músculo esfínter de la uretra al mismo tiempo que el músculo detrusor de la vejiga, lo que resulta en la obstrucción del flujo urinario.

Las intervenciones terapéuticas intentan liberar la orina residual mediante cateterismo o reducción del tono del esfínter mediante medicación o cirugía. Los problemas de estas terapias incluyen infecciones, eficacia inadecuada e incontinencia.

Una revisión de la revista Cochrane que incluyó cuatro ensayos controlados aleatorios de la inyección de *NTBo/A* como tratamiento para el *DDE* encontró que las inyecciones intrauretrales podrían mejorar algunas medidas urodinámicas después de 30 días, pero los estudios tenían un alto riesgo de sesgo, la calidad de la evidencia era limitada, y la necesidad de reinyección es un inconveniente significativo. Los autores informaron que se necesitan más estudios sobre la efectividad y que la esfinterotomía podría ser una opción más efectiva para el tratamiento a largo plazo (126).

4.5.3. Hiperplasia prostática benigna y prostatitis

La hiperplasia prostática benigna (*HPB*) es la proliferación del tejido conectivo de la próstata, las células epiteliales y el aumento del tono de su músculo liso.

Si bien la medicación es solo parcialmente efectiva y puede producir efectos adversos, la eliminación o destrucción del tejido prostático periuretral mediante varias técnicas mínimamente invasivas o quirúrgicas suele ser efectiva, pero conlleva riesgos de incontinencia y eyaculación retrógrada.

Dado que se ha demostrado que la denervación quirúrgica produce una atrofia profunda de la próstata de rata, era lógico que la inyección prostática de *NTBo/A* pudiera usarse potencialmente para tratar los trastornos asociados con el agrandamiento de la próstata.

Oeconomou et al. realizó una revisión de la literatura que consta de la base de datos *MEDLINE*, así como resúmenes de varias conferencias internacionales para estudios sobre el uso de la *NTBo/A* para la *HBP*, que muestra mejoras en el flujo urinario máximo, el volumen prostático total, el volumen residual posmiccional y la puntuación internacional de síntomas prostáticos (127). Este tratamiento puede ser una alternativa prometedora para la *HBP* refractaria a los medicamentos, los malos candidatos quirúrgicos y la prostatitis. Los efectos secundarios locales y sistémicos son raros. Debe reconocerse que esta terapia sigue siendo experimental y, aunque alentadora, el nivel general de evidencia clínica en este momento es bajo como para respaldar el uso rutinario de la *NTBo/A* para su inyección intraprostática.

4.5.4. Espasmos del esfínter Oddi

Los espasmos del esfínter Oddi se diagnostican cuando la presión del esfínter aumenta a más de 40 mmHg. La esfinterotomía endoscópica es el tratamiento de elección, pero conlleva el riesgo de perforación y reflujo enterocolédoco (128).

Varios estudios demostraron que la *Ona/A* puede mejorar las secuelas de los espasmos del esfínter de *Oddi* en candidatos no quirúrgicos, y puede usarse como una herramienta de diagnóstico para probar la indicación de esfinterotomía (129).

4.5.5. Acalasia

La acalasia describe la aperistalsis y la relajación del esfínter esofágico inferior causando disfagia progresiva a sólidos y líquidos.

El tratamiento tiene como objetivo la reducción de la presión esofágica e incluye miotomía de Heller y dilataciones neumáticas endoscópicas, con éxito en aproximadamente el 80 % de los casos (130).

La *NTBo* parece reservarse para pacientes que no pueden someterse a terapias convencionales, incluidos pacientes de edad avanzada, pacientes con comorbilidad y pacientes con perforación esofágica o divertículos epifrénicos (131), o puede usarse como tratamiento adyuvante (132).

4.5.6. Fenómeno de Raynaud

El fenómeno de Raynaud es un vasoespasmo recurrente de los dedos de manos y pies y generalmente ocurre en respuesta al estrés o la exposición al frío.

Desde 2004, se han realizado 5 estudios que han evaluado el uso de la *NTBo/A* para el tratamiento de la enfermedad de Raynaud en la búsqueda de *MEDLINE*. Los informes fueron prometedores pero con resultados controvertidos. Se requiere mayor investigación para una mejor comprensión del mecanismo de acción, la dosis adecuada y la eficacia en relación con otros tratamientos (133).

4.6. Enfermedades glandulares

La *NTBo* actúa sobre las neuronas simpáticas y parasimpáticas del sistema nervioso autónomo, bloqueando la entrada neuronal a nivel glandular.

4.6.1. Hiperhidrosis

La hiperhidrosis describe una sudoración excesiva idiopática que puede ser localizada, más comúnmente en la región axilar y palmar (90%), o difusa. Se considera una condición benigna, pero puede ser socialmente devastadora.

Las terapias convencionales incluyen antitranspirantes tópicos (con efectividad a corto plazo y frecuente irritación



Figura 4.6.2. Inyección de toxina botulínica para la hiperhidrosis (*Skin therapy Let®*, 2008).

de la piel), fármacos anticolinérgicos (ligeramente efectivos) y curetaje axilar o simpatectomía torácica endoscópica (con riesgos de sangrado y hematotórax).

Las inyecciones intradérmicas o subdérmicas de *NTBo* colocadas a unos 2 cm de distancia entre sí en el área de la piel hiperhidrótica han demostrado ser más eficaces que el cloruro de aluminio al 20% tópico para el tratamiento de la hiperhidrosis axilar focal primaria de moderada a grave (134). Los efectos adversos son prácticamente nulos, a excepción de Rima/B, que puede producir mayor dolor y efectos adversos autonómicos leves (135).

4.6.3. Hypersalivación

La hypersalivación describe la presencia de exceso de saliva en la cavidad oral provocando que el paciente babea. La mayoría de los casos son secundarios a trastornos de la deglución, como en el Parkinson, la esclerosis lateral miotrófica y la parálisis cerebral (136).

Las terapias habituales incluyen fármacos anticolinérgicos, antidepressivos tricíclicos, bloqueadores beta, radioterapia, resección de glándulas salivales o neurectomía del nervio timpánico.

La eficacia del tratamiento botulínico es comparable a este último, inyectando la toxina a las glándulas parótidas y submandibulares (las sublinguales son de difícil acceso únicamente aportan el 5% de la salivación total).

Los efectos secundarios incluyen dificultades leves para masticar, disfagia y saliva viscosa.

4.6.4. Hiperlacrimación primaria

El hiperlagrimeo es el flujo incontrolado de lágrimas generalmente debido a una alteración del nervio facial (137).

Dosis muy bajas de *NTBo* inyectadas directamente en la glándula lagrimal tratan eficazmente esta afección, siendo la ptosis ocasional el único efecto secundario.

4.6.5. Rinitis crónica

En un ensayo de control aleatorio de 39 pacientes con rinitis alérgica, la terapia con *Ona/A* proporcionó un mejor con-

trol sintomático que las inyecciones de esteroides en cada cornete inferior, tanto en términos de duración como de grado de los síntomas (138).

Además, en un estudio de 38 pacientes con rinitis idiopática, la *Ona/A* mostró un grado y una duración de eficacia similares con respecto a los síntomas de hipersecreción al bromuro de ipratropio (139). Por lo tanto, el papel de la *NTBo* en la rinitis alérgica e idiopática parece prometedora, aunque su alto costo probablemente impide su uso generalizado.

4.7. Trastornos con dolor crónico

El dolor crónico es una queja médica común y, a pesar de la disponibilidad actual de una gran cantidad de medicamentos analgésicos, el manejo del dolor crónico sigue siendo un desafío para los médicos. Los analgésicos potentes suelen ser útiles, pero los efectos secundarios y las interacciones farmacológicas limitan su utilidad clínica.

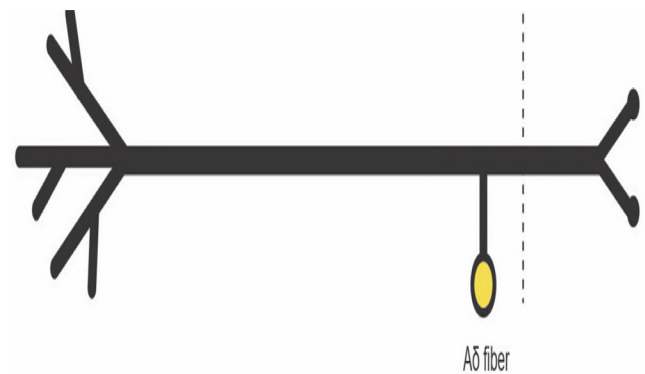


Figura 4.7. Inhibición de los neurotransmisores del dolor por la *NTBo*.

Si bien el mecanismo exacto por el cual la *NTBo/A* ejerce sus efectos analgésicos en humanos no se conoce por completo, los datos en animales han demostrado que la *NTBo/A* inhibe la liberación de neuromoduladores del dolor (glutamato, sustancia P, péptido relacionado con el gen de la calcitonina) y proinflamatorios (prostaglandinas, bradicinina, histamina) de las terminaciones nerviosas periféricas y los ganglios sensoriales, y reducen los fenómenos de sensibilización periférica y central, los cuales son factores principales de la cronicidad del dolor (Figura 4.7).

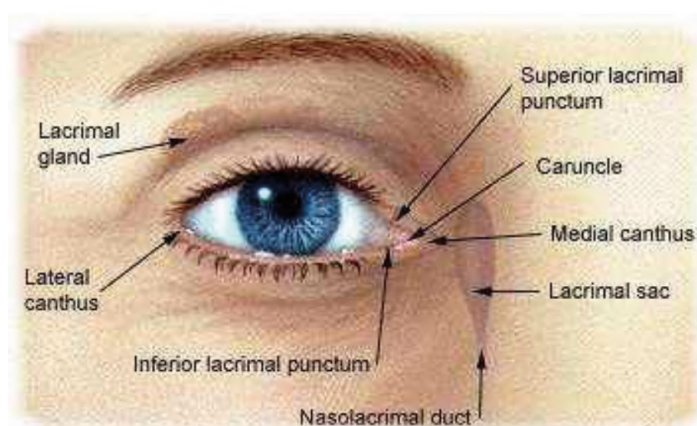


Figura 4.6.4. Inyección de glándula lagrimal con *NTBo* (Royal college of ophthalmologist, 2015).

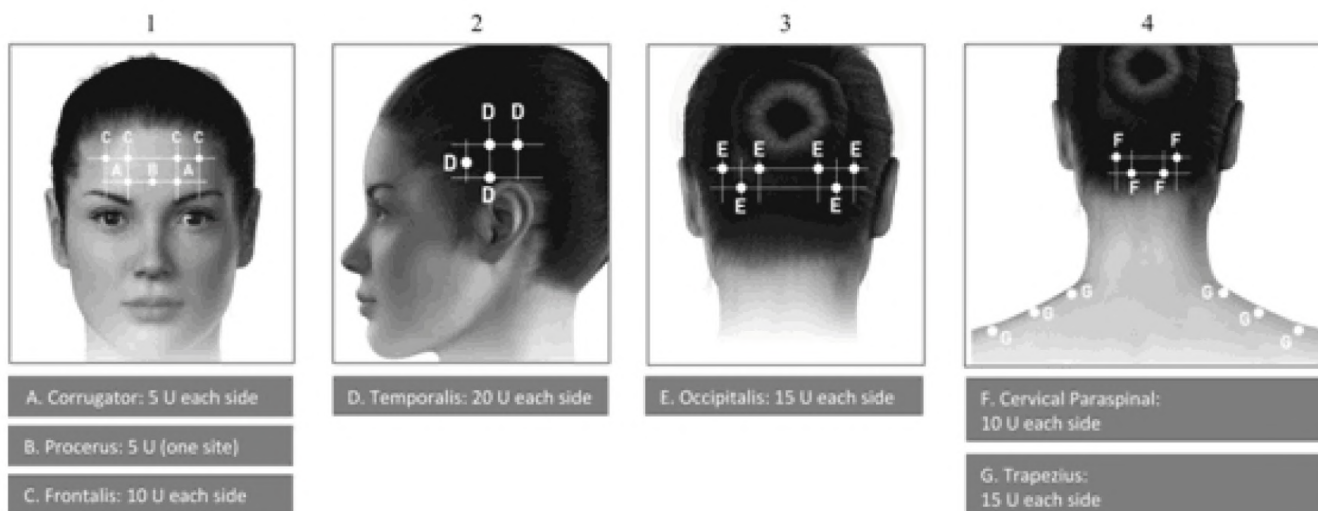


Figura 4.7.1. Puntos de inyección de la NTBo/A (Blumenfeldt et al, 2010).

4.7.1. Trastornos con dolor crónico con eficacia establecida (nivel A)

Dolor de cuello asociado con distonía cervical

El dolor de cuello suele ser el síntoma más incapacitante experimentado por la mayoría de los pacientes (68–75% 140). El grado de alivio del dolor en la distonía cervical es similar entre las toxinas tipo A y tipo B (con la excepción de un estudio que informó que el tipo B es más efectivo 141).

Migraña crónica

La migraña crónica (MC) es un problema de salud importante y se cree que representa la mayoría de los casos de dolores de cabeza diarios crónicos. La evidencia clínica de acuerdo con los datos de Phase Research Evaluating Migraine Prophylaxis Therapy (PREEMPT) 142 indica que el efecto analgésico de la terapia con toxina botulínica en la MC disminuyó tanto la duración como la frecuencia de los episodios de dolor de cabeza y mejora con los tratamientos repetidos.

Epicondilitis lateral

A pesar de los efectos beneficiosos mostrados por dos estudios de clase I (143, 144), los efectos secundarios, la debilidad en los dedos y en la extensión de la muñeca, limitan el valor práctico de la terapia con NTBo en esta afección. Los estudios futuros podrían considerar dosis más pequeñas y técnicas más refinadas para evitar este efecto secundario.

4.7.2. Trastornos con dolor crónico con eficacia probable o desconocida

- *Evidencia nivel B:* Neuralgia postherpética y postraumática, fascitis plantar, síndrome del músculo piriforme y dolor tras artroplastia total de rodilla.
- *Evidencia nivel C:* Alodinia de la neuropatía diabética, lumbalgia crónica, osteoartritis dolorosa de la rodilla, dolor anterior de la rodilla con desequilibrio del vasto lateral, dolor pélvico, dolor posoperatorio después de la mastectomía y espasmos del esfínter y dolor después de la hemo-roidectomía.

- *Evidencia nivel U:* Síndrome de dolor miofascial y dolores de cabeza diarios crónicos.

4.8. Uso cosmético

Las inyecciones de toxina botulínica tipo A son uno de los procedimientos cosméticos más populares para disminuir la apariencia de las líneas faciales causadas por las contracciones musculares faciales habituales.

La toxina es más efectiva para las arrugas que se forman debido a la contracción muscular, donde el debilitamiento del músculo suaviza y aplana la piel que lo recubre. Por tanto, no es un tratamiento adecuado para las arrugas provocadas por la exposición solar u otros procesos degenerativos de los tejidos dérmicos.

A diferencia de otros productos utilizados para procedimientos cosméticos, la NTBo/A es mínimamente invasiva, relativamente fácil y rápida de administrar, con un efecto casi inmediato y notable y un período de recuperación rápido, y suele ser más asequible que otros tratamientos cosméticos (145).

Los procedimientos alternativos implican el uso de rellenos inyectables (como silicona y colágeno), técnicas de rejuvenecimiento (como dermoabrasión y exfoliación química) y cirugía de "lifting", que pueden provocar efectos adversos graves y permanentes, como fotosensibilidad, cicatrización anómala, morbilidad quirúrgica, e implican un largo período de recuperación (146).

Aunque la etiqueta del fabricante recomienda la toxina botulínica solo para el tratamiento de las líneas glabellares en adultos menores de 65 años, existe un uso generalizado de la toxina para otros fines cosméticos y para pacientes mayores de 65 años. Estas recomendaciones se basan en la ausencia de estudios que investiguen los usos cosméticos específicamente en los ancianos, y no ha habido suficientes pacientes ancianos inscritos en estudios clínicos para hacer comparaciones significativas (147). Sin embargo, dado que es más probable que los ancianos tengan una piel más delgada y menos elástica, músculos faciales más débiles y arrugas que con el tiempo son causadas por la

flacidez del tejido inducida por la gravedad en lugar de la contracción muscular, no se espera que los ancianos respondan tan bien al tratamiento con *NTBo* (148).

Los efectos secundarios más comunes están relacionados con la técnica de inyección e incluyen enrojecimiento local, hematomas, hinchazón y dolor leve (149).

5. FUTUROS DESARROLLOS

Comprender la estructura y la base molecular de la función de las neurotoxinas ha abierto oportunidades para diseñar nuevas proteínas terapéuticas que utilicen los dominios de las neurotoxinas.

El éxito terapéutico de la *NTBo* está fuera de discusión. Sin embargo, la utilidad clínica de la neurotoxina está severamente restringida tanto por su rango limitado de células diana como por su estrecha ventana terapéutica. En los últimos años, se ha hecho evidente que, dentro de los serotipos, existen múltiples subserotipos que difieren en sus propiedades bioquímicas (150). Estos subserotipos pueden brindar oportunidades terapéuticas diferentes a las de los productos actuales. Wang et al (151) ya informaron sobre la creación de quimeras de cadena ligera de *NTBo/A* con cadena pesada de tipo E. Este enfoque es claramente capaz de crear entidades novedosas con propiedades únicas y es el enfoque más sencillo para la modificación de la *NTBo*.

Las ventajas de la ingeniería de toxinas incluirían la capacidad de modificar su afinidad, especificidad y epítipo inmunológico, lo que permitiría la creación de tratamientos más duraderos y precisos. Los inhibidores de secreción dirigidos son novedosas proteínas diseñadas que administran la toxina a las células a las que la *NTBo* no se dirige de forma natural, dado que las proteínas *SNARE* representan un mecanismo universal de fusión de vesículas en células eucariotas (152). Esto define una nueva especificidad de célula diana, proporcionando proteínas con una ventana terapéutica mucho mayor y nuevas indicaciones potenciales representadas en la figura 5.

BIBLIOGRAFÍA

1. Desta, Solomon, Moa Melaku, and Nejash Abdela. "Botulinum toxin and its biological significance: a review." *World Appl Sci J* 34, 2016; 854-64.
2. Gimenez DF, Ciccarelli AS. Another type of *Clostridium botulinum*. *Zbl Bakt I abt Orig.* 2001; 215:212-20.
3. Dover N, Barash JR, Hill KK, Xie G, Arnon SS. Molecular characterization of a novel botulinum neurotoxin type H gene. *J Infect Dis.* 2013.
4. Scott AB. Botulinum toxin injection of eye muscles to correct strabismus. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 1981; 79:734-70.
5. Kazerooni, Rashid, and Christine Broadhead. "Cost-utility analysis of botulinum toxin type A products for the treatment of cervical dystonia." *American Journal of Health-System Pharmacy* 72.4, 2015; 301-307.
6. Aureli P, Fenicia L, Pasolini B, Gianfrancesche M, McCroskey JM, Hatheway CL. Two cases of type E infant botulism caused by neurotoxicogenic *Clostridium botulinum* in Italy. *J. Infect. Dis.* 1986; 154(2):207-211.
7. Hauschild AHW. Epidemiology of human foodborne botulism. In: Hauschild AHW, Dodds KL (eds) *Clostridium botulinum: ecology and control in foods.* Dekker, New York. 2001.
8. Satterfield BA, Stewart AF, Lew CS, Pickett DO, Cohen MN, Moore EA, et al. A quadruplex real-time PCR assay for rapid detection and differentiation of the *Clostridium botulinum* toxin genes A, B, E and F. *J Med Microbiol.* 2010; 59(1):55-64,
9. Carrillo-Marquez, Maria A. "Botulism." *Pediatrics in review* 37.5, 2016; 183-192.

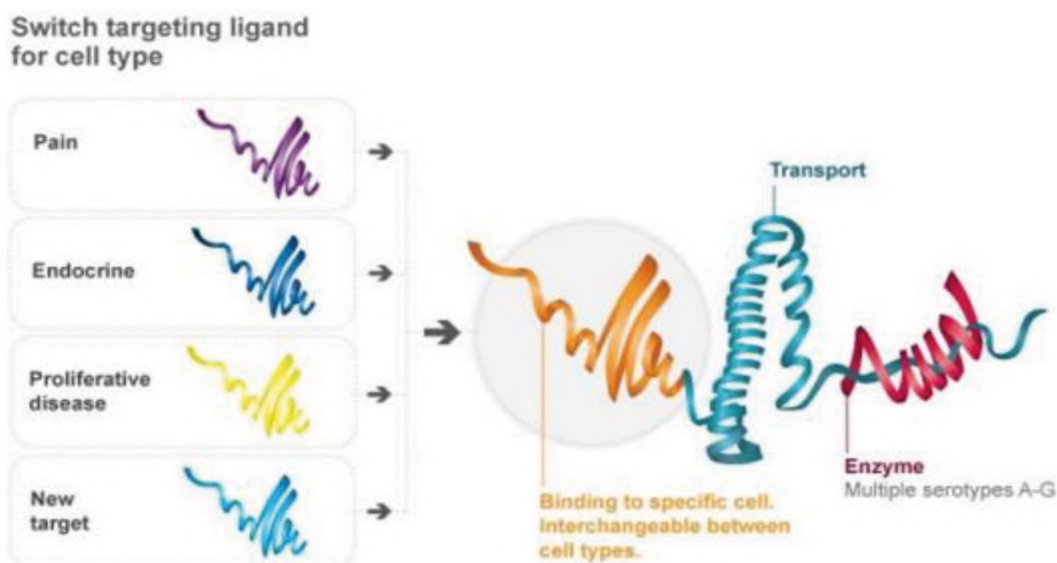


Figura 5. Representación esquemática de la ingeniería TSI, que potencialmente podría expandir el uso de la toxina hacia la endocrinología, la oncología y las enfermedades inflamatorias (Basel, 2010).

10. Dineen SS, Bradshaw M, Johnson EA. Neurotoxin gene clusters in *Clostridium botulinum* type A: sequence comparison and evolutionary implications. *Curr. Microbiol.* 2003; 46:345–352.
11. M.P. Doyle, L.R. Beuchat. *Food microbiology: fundamentals and frontiers* (3rd ed.), ASM Press. 2007; pp. 401–421.
12. M.W. Peck, S.C. Stringer, A.T. Carter. *Clostridium botulinum* in the post-genomic era. *Food Microbiol.* 28. 2011; pp. 183–191.
13. Botulism Fact sheet N°270. World Health Organization. 2013.
14. Chalk, Colin H; Benstead, Tim J; Keezer, Mark; Chalk, Colin H (2014). "Medical treatment for botulism". *The Cochrane Database of Systematic Reviews*.
15. Lonati, Davide, et al. "Foodborne botulism: Clinical diagnosis and medical treatment." *Toxins* 12.8, 2020; 509.
16. Browning LM, Prempeh H, Little C, Houston C, Grant K, Cowden JM. On behalf of the United Kingdom Botulism Incident Management Team. 2011.
17. Chalk, Colin H., et al. "Medical treatment for botulism." *Cochrane Database of Systematic Reviews* 4, 2019.
18. McNutt, Patrick M., et al. "Neuronal delivery of antibodies has therapeutic effects in animal models of botulism." *Science translational medicine*, 2021; 13.575.
19. Montal, M. Botulinum neurotoxin: a marvel of protein design. *Annu. Rev. Biochem.* 2010; 79, 591–617.
20. Dressler, Dirk. "Clinical pharmacology of botulinum toxin drugs." *Botulinum Toxin Therapy*, 2019; 93-106.
21. Stanley EF, Drachman DB. Botulinum toxin blocks quantal but not non-quantal release of ACh at the neuro-muscular junction. *Brain Res.* 1983; 261:172–5.
22. Contarino, Maria Fiorella, et al. "Clinical practice: evidence-based recommendations for the treatment of cervical dystonia with botulinum toxin." *Frontiers in neurology* 8, 2017; 35.
23. Marques, Raquel E., et al. "Botulinum toxin type B for cervical dystonia." *Cochrane Database of Systematic Reviews* 5, 2016.
24. Takamizawa K, Iwamori M, Kozaki S, et al. Y. TLC immunostaining characterization of *Clostridium botulinum* type A neurotoxin binding to gangliosides and free fatty acids. *FEBS Lett.* 1986; 201:229-232.
25. Ishikawa H, Mitsui Y, Yoshitomi T, et al. Presynaptic effects of botulinum toxin type A on the neuronally evoked response of albino and pigmented rabbit iris sphincter and dilator muscles. *Jpn J Ophthalmol.* 2000; 44:106-109.
26. Dressler D. Five-year experience with incobotulinumtoxinA (Xeomin®): the first botulinum toxin drug free of complexing proteins. *Eur J Neurol.* 2012; 19(3):385-9.
27. Comella CL, Jankovic J, Shannon KM, Tsui J, Swenson M, Leurgans S. Comparison of botulinum toxin serotypes A and B for the treatment of cervical dystonia. *Neurology* 2010; 65:1423–1429.
28. Gollomp, S. Neurotoxin therapy: a closer look at the four options. *Neurol.* 2011; 9, 27–33.
29. Hoffman RO, Helveston EM. Botulinum in the treatment of adult motility disorders. *Int Ophthalmol Clin.* 1986; 26:241–50.
30. Bellows, Steven, and Joseph Jankovic. "Immuno-genicity associated with botulinum toxin treatment." *Toxins* 11.9, 2019; 491.
31. Odergren T, Hjaltason H, Kaakkola S, Solders G, Hanko J, Fehling C, et al. A double blind, randomised, parallel group study to investigate the dose equivalence of Dysport® and Botox® in the treatment of cervical dystonia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1998; 64:6–12.
32. Panjwani N, Pickett A, O'Keeffe R. Botulinum type A toxins in clinical use: a comparison of specific potency and protein content. *Neurotox Res.* 2011; 9(2–3):225–254.
33. Jankovic, Joseph. "An update on new and unique uses of botulinum toxin in movement disorders." *Toxicon* 147, 2018; 84-88.
34. Bonventre PF, Kempe LL. Physiology of toxin production by *Clostridium botulinum* types A and B. II. Effect of carbohydrate source on growth, autolysis, and toxin production. *Appl Microbiol.* 1959; 7(6):372–374.
35. Bonventre PF, Kempe LL. Physiology of toxin production by *Clostridium botulinum* types A and B. I. Growth, autolysis, and toxin production. *J Bacteriol.* 1960; 79(1):18–23.
36. Cooksley CM, Davis IJ, Winzer K, Chan WC, Peck MW, Minton NP. Regulation of neurotoxin production and sporulation by a putative agrBD signaling system in proteolytic *Clostridium botulinum*. *Appl Environ Microbiol.* 2010; 76(13):4448–4460.
37. Hambleton P. *Clostridium botulinum* toxins: a general review of involvement in disease, structure, mode of action and preparation for clinical use. *J Neurol.* 1992; 239(1):16–20.
38. Pickett A, O'Keeffe R, Panjwani N. The protein load of therapeutic botulinum toxins. *Eur J Neurol.* 2007; 14(4):e11.
39. Yang GC, Chiu RJ, Gillman GS. Questioning the need to use botox within 4 hours of reconstitution: a study of fresh vs 2-week-old Botox. *Facial Plast Surg.* 2008; 10(4):273–279.

40. Pickett A, O'Keeffe R, Judge A, Dodd S. The in vivo rat muscle forcé model is a reliable and clinically relevant test of consistency among botulinum toxin. *Toxicon*. 2008; 52(3):455–464.
41. Prमित Malhotra S, Daniel Danahey G. BOTOX® Injections to Improve Facial Aesthetics. *eMedicine*. 2010.
42. Kassir, Martin, et al. "Complications of botulinum toxin and fillers: A narrative review." *Journal of cosmetic dermatology* 19.3, 2020; 570-573.
43. Cotton, Peter B., et al. "Gallbladder and sphincter of Oddi disorders." *Gastroenterology* 150.6 (2016): 1420-1429.
44. Glanzman RL, Gelb DJ, Drury I, Bromberg MB, Truong DD. Brachial plexopathy after botulinum toxin injections. *Neurology*. 1990; 40:1143.
45. Latimer PR, Hodgkins PR, Vakalis, Butler RE, Evans AR, Zaki GA. Necrotising fasciitis as a complication of botulinum toxin treatment. *Eye*. 1998; 12:51–3.
46. Bakheit AM, Ward CD, McLellan DL. Generalised botulism-like syndrome after intramuscular injections of botulinum toxin type A: A report of two cases (letter) *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2008; 62:198.
47. Matak, Ivica, et al. "Mechanisms of botulinum toxin type A action on pain." *Toxins* 11.8, 2019; 459.
48. Dressler D, Saberi A. Antibody-Induced Failure of Botulinum Toxin Type B Therapy in de novo Patients. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2007; 78:108–9.
49. Marques, Raquel E., et al. "Botulinum toxin type B for cervical dystonia." *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2016.
50. Caleo, Matteo, and Laura Restani. "Exploiting botulinum neurotoxins for the study of brain physiology and pathology." *Toxins* 10.5, 2018; 175.
51. Luvisetto, Siro, et al. "Botulinum toxin type a as a therapeutic agent against headache and related disorders." *Toxins* 7.9, 2015; 3818-3844.
52. Møller, E., et al. "Repeated treatments of drooling with botulinum toxin B in neurology." *Acta Neurologica Scandinavica* 131.1, 2015; 51-57.
53. Campanati, Anna, et al. "Combined treatment of palmar hyperhidrosis with botulinum toxin type A and oxybutynin chloride: Results of a clinical, multicenter, prospective study." *Dermatologic therapy* 33.6, 2020; e14039.
54. Shojania KG, Sampson M, Ansari MT, Ji J, Doucette S, Moher D. How quickly do systematic reviews go out of date? A survival analysis. *Ann. Intern. Med.* 2007; 147, 224–233.
55. Jankovic J, Brin MF. Botulinum toxin: historical perspective and potential new indications. *Muscle Nerve Suppl.* 2013; 6:S129-45.
56. U.S. Food and Drug Administration (<https://www.fda.gov>) (Búsqueda realizada en enero 2022)
57. Mesa Barrera, Y., Hernández Rodríguez, T. E., & Parada Barroso, Y. Eficacia y seguridad del uso de la Toxina botulínica ante otras alternativas medicamentosas en pacientes con distonías focales. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 2016; 15(3), 348-362.
58. Norris, Scott A., et al. "Clinical and demographic characteristics related to onset site and spread of cervical dystonia." *Movement Disorders* 31.12, 2016; 1874-1882.
59. Sanz-Granda, Á., Martí, M. J., & Catalán, M. J. (2018). Análisis coste-utilidad de dos formulaciones de toxina botulínica de tipo A en el tratamiento del blefaroespasma y la distonía cervical en España. *Revista de Neurología*, 67(12), 465-472.
60. Brashear A, Watts MW, Marchetti A, Magar R, Lau H, Wang L. Duration of effect of botulinum toxin type A in adult patients with cervical dystonia: a retrospective chart review. *ClinTher*. 2000; 22:1516–1524.
61. Costa J, Espirito-Santo C, Borges A, Ferreira JJ, Coelho M, Moore P, et al. Botulinum toxin type A therapy for cervical dystonia. *Cochrane Database Syst Rev* CD003633. 2015.
62. Jabbari, B. History of botulinum toxin treatment in movement disorders. *Tremor and Other Hyperkinetic Movements*, 6, 2016.
63. Pappert E.J, Germanson T. Botulinum toxin type B vs. type A in toxin-naive patients with cervical dystonia: randomized, double-blind trial. *Mov Disord* 2008; 23: 510–517.
64. Bledsoe, I. O., & Comella, C. L. Botulinum toxin treatment of cervical dystonia. In *Seminars in neurology*(Vol. 36, No. 01, pp. 047-053). 2016; Thieme Medical Publishers.
65. Kessler KR, Skutta M, Benecke R. Long-term treatment of cervical dystonia with botulinum toxin A: efficacy, safety, and antibody frequency. German Dystonia Study Group. *J Neurol*. 1999; 246:265–274.
66. Scott AB, Kennedy RA, Stubbs MA. Botulinum toxin injections as a treatment for blepharospasm. *Arch Ophthalmol*. 1985; 103:347–350.
67. Balash Y, Giladi N. Efficacy of pharmacological treatment of dystonia: evidence-based review including meta-analysis of the effect of botulinum toxin and other cure options. *Eur J Neurol*. 2004; 11:361–370.
68. Valdespino, M. F., Lavastida, A., & Molina, M. D. (2021). Uso de la toxina botulínica en pacientes con blefaroespasma en el instituto de neurología.

- Revista de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias, 6(2), 17-29.
69. Levy RL, Berman D, Parikh M, Miller NR. Supramaximal doses of botulinum toxin for refractory blepharospasm. *Ophthalmology*. 2006; 113:1665–1668.
 70. Kollwe, Katja, et al. "Blepharospasm: long-term treatment with either Botox®, Xeomin® or Dysport®." *Journal of neural transmission* 122.3, 2015; 427-431.
 71. Yen, Michael T. "Developments in the treatment of benign essential blepharospasm." *Current opinion in ophthalmology* 29.5, 2018; 440-444.
 72. Sanz-Granda, Á., Martí, M. J., & Catalán, M. J. Análisis coste-utilidad de dos formulaciones de toxina botulínica de tipo A en el tratamiento del blefarospasmo y la distonía cervical en España. *Revista de Neurología*, 2018; 67(12), 465-472.
 73. Bihari K. Safety, effectiveness, and duration of effect of BOTOX after switching from Dysport for blepharospasm, cervical dystonia, and hemifacial spasm dystonia, and hemifacial spasm. *Curr Med Res Opin*. 2015; 21:433–438.
 74. Chaudhry, Neera, Abhilekh Srivastava, and Laxmikant Joshi. "Hemifacial spasm: the past, present and future." *Journal of the neurological sciences* 356.1-2, 2015; 27-31
 75. Huaranga Ramos, P. Y. *Toxina botulínica y su aplicación en ortodoncia*, 2019.
 76. Bakke, Merete, et al. "Oromandibular dystonia, mental distress and oro-facial dysfunction—A follow-up 8-10 years after start of treatment with botulinum toxin." *Journal of oral rehabilitation* 46.5, 2019; 441-449.
 77. Hallett M, Benecke R, Blitzer A, Comella CL. Treatment of focal dystonias with botulinum neurotoxin. *Toxicon* 2009; 54:628–633.
 78. Comella, C. L. Systematic review of botulinum toxin treatment for oromandibular dystonia. *Toxicon*, 2018; 147, 96-99.
 79. Karp, B. I., & Alter, K. Muscle selection for focal limb dystonia. *Toxins*, 2018; 10(1), 20.
 80. Comella, C. L. Dystonia: Then and now. *Parkinsonism & related disorders*, 2018; 46, S66-S69..
 81. Blitzer, A., Brin, M. F., & Stewart, C. F. Botulinum toxin management of spasmodic dysphonia (laryngeal dystonia): a 12-year experience in more than 900 patients. *Laryngoscope*, 2015; 125(8), 1751-1757..
 82. Albanese A, Barnes MP, Bhatia KP, Fernandez-Alvarez E, Filippini G, Gasser Tetal. A systematic review on the diagnosis and treatment of primary (idiopathic) dystonia and dystonia plus syndromes: report of an EFNS/MDS-ES Task Force. *Eur J Neurol*. 2006; 13:433–44.
 83. Bielamowicz S, Stager SV, Badillo A, Godlewski A. Unilateral versus bilateral injections of botulinum toxin in patients with adductor spasmodic dysphonia. *J Voice*. 2002; 16: 117–123.
 84. Mor, N., & Blitzer, A. *Diagnosis and treatment of laryngeal dystonia: past, present and future directions*, 2016.
 85. Blitzer A. Spasmodic dysphonia and botulinum toxin: experience from the largest treatment series. *Eur J Neurol* 17(Suppl 1). 2010; 28–30.
 86. Chaudhry, N., Srivastava, A., & Joshi, L. Hemifacial spasm: the past, present and future. *Journal of the neurological sciences*, 2015; 356(1-2), 27-31.
 87. Kemp LW, Reich SG. Hemifacial spasm. *Curr Treat Options Neuro* 2008; 16:175–179.
 88. Samii M, Gunther T, Iaconetta G, Muehling M, Vorkapic P, Samii A. Microvascular decompression to treat hemifacial spasm: long-term results for a consecutive series of 143 patients. *Neurosurgery*. 2002; 50:712–718.
 89. Soriano-Baron, H., Vales-Hidalgo, O., Arvizu-Saldana, E., Moreno-Jimenez, S., & Revuelta-Gutierrez, R. Hemifacial spasm: 20-year surgical experience, lesson learned. *Surgical neurology international*, 2015; 6.
 90. Jost WH, Kohl A. Botulinum toxin: evidence based criteria in blepharospasm and hemifacial spasm. *J Neurol* 248(Suppl 1). 2001; 21–24.
 91. Sorgun, M. H., Yilmaz, R., Akin, Y. A., Mercan, F. N., & Akbostanci, M. C. Botulinum toxin injections for the treatment of hemifacial spasm over 16 years. *Journal of Clinical Neuroscience*, 2015; 22(8), 1319-1325.
 92. Niemann, N., & Jankovic, J. Botulinum toxin for the treatment of hand tremor. *Toxins*, 2018; 10(7), 299.
 93. Henderson JM, Ghika JA, Van Melle G, Haller E, Einstein R. Botulinum toxin A in non-dystonic tremors. *Eur Neurol*. 1996; 36(1):29–35.
 94. Guglielmino, G., Moraes, B. T. D., Villanova, L. C., Padovani, M., & Biase, N. G. D.. Comparison of botulinum toxin and propranolol for essential and dystonic vocal tremors. *Clinics*, 2018; 73.
 95. Brin MF, Lyons KE, Doucette J, Adler CH, Caviness JN, Comella CL, et al. A randomized, double masked, controlled trial of botulinum toxin type A in essential hand tremor. *Neurology*. 2001; 56, 1523–1528.
 96. Pahwa R, Busenbark K, Swanson-Hyland EF, Du-

- binsky RM, Hubble, JP, Gray C, Koller WC. Botulinum toxin treatment of essential head tremor. *Neurology*. 1995; 45, 822–824.
97. Safarpour, Y., & Jabbari, B. Botulinum toxin treatment of movement disorders. *Current treatment options in neurology*, 2018; 20(2), 1-17.
 98. Cheung MY, Shahed J, Jankovic J. Malignant Tourette syndrome. *Mov. Disord*. 2007; 22, 1743–1750.
 99. Fernández-Núñez, T., Amghar-Maach, S., & Gay-Escoda, C. Efficacy of botulinum toxin in the treatment of bruxism: Systematic review. *Medicina oral, patología oral y cirugía bucal*, 2019; 24(4), e416.
 100. Redaelli A. Botulinum Toxin A in bruxers. One year experience. *Saudi Med J*. 2011; 32(2):156-8.
 101. Khouzam, Hani Raoul. "Identification and management of tardive dyskinesia: a case series and literature review." *Postgraduate medicine* 127.7, 2015; 726-737.
 102. Pulsatile tinnitus: a harbinger of a greater ill? Liess BD, Lollar KW, Christiansen SG, Vaslow D. *Head Neck*. 2009; (2):269-73.
 103. Swain, S. K., Nayak, S., Ravan, J. R., & Sahu, M. C. (2016). Tinnitus and its current treatment—Still an enigma in medicine. *Journal of the Formosan Medical Association*, 115(3), 139-144.
 104. Ron Y, Avni Y, Lukovetski A, Wardi J, Geva D, Birkenfeld S, Halpern Z. Botulinum toxin type-A in therapy of patients with anismus. *Dis Colon Rectum*. 2001; 44:1821–1826.
 105. Pacik, Peter T., and Simon Geletta. "Vaginismus treatment: clinical trials follow up 241 patients." *Sexual medicine* 5.2, 2017; e114-e123.
 106. Karp, Barbara Illowsky, et al. "Methodological approaches to botulinum toxin for the treatment of chronic pelvic pain, vaginismus, and vulvar pain disorders." *International urogynecology journal*, 2019; 1-11.
 107. Thomson AJ, Jarvis SK, Lenart M, Abbott JA, Vancailie TG. The use of botulinum toxin type A (BOTOX) as treatment for intractable chronic pelvic pain associated with spasm of the levator ani muscles. *BJOG*. 2005; 112:247–249.
 108. Kheder A, Nair KP. Spasticity: pathophysiology, evaluation and management. *Pract Neurol*. 2012; 12(5):289-98.
 109. Mills, Patricia Branco, et al. "Systematic review of adjunct therapies to improve outcomes following botulinum toxin injection for treatment of limb spasticity." *Clinical rehabilitation* 30.6, 2016; 537-548.
 110. Andringa, Aukje, et al. "Effectiveness of botulinum toxin treatment for upper limb spasticity poststroke over different ICF domains: a systematic review and meta-analysis." *Archives of physical medicine and rehabilitation* 100.9, 2019; 1703-1725.
 111. Pavone, Vito, et al. "Botulinum toxin treatment for limb spasticity in childhood cerebral palsy." *Frontiers in pharmacology* 7, 2016; 29.
 112. Kaku, M., & Simpson, D. M. (2016). Spotlight on botulinum toxin and its potential in the treatment of stroke-related spasticity. *Drug design, development and therapy*, 10, 1085.
 113. Santamato, Andrea, et al. "Botulinum toxin type A for the treatment of lower limb spasticity after stroke." *Drugs* 79.2 (2019): 143-160.
 114. Lia AE, Filippini G, Calandrella D, Albanese A. Botulinum neurotoxins for post-stroke spasticity in adults: a systematic review. *Mov Disord*. 2009; 24:801–812.
 115. Giovannelli M, Borriello G, Castri P, Prosperini L, Pozzilli C. Early physiotherapy after injection of botulinum toxin increases the beneficial effects on spasticity in patients with multiple sclerosis. *Clin Rehabil*. 2007; 21:331–337.
 116. Kuehn BM. FDA requires black box warnings on labeling for botulinum toxin products. *JAMA*. 2009; 301:2316.
 117. Scott AB. Botulinum toxin injection of eye muscles to correct strabismus. *Trans Am Ophthalmol Soc*. 1981; 79(79):734–770.
 118. Kowal L, Wong E, Yahalom C. Botulinum toxin in the treatment of strabismus. A review of its use and effects. *Disabil Rehabil*. 2007; pp.1823–1831.
 119. Peiter Saunte, Jon; Holmes, Jonathan M. "Sustained improvement of reading symptoms following botulinum toxin A injection for convergence insufficiency". *Informa Healthcare*. 2014; 22 (3):95–99.
 120. Rowe FJ, Noonan CP. "Botulinum toxin for the treatment of strabismus." *The Cochrane database of systematic reviews*. 2012.
 121. Thurtell MJ, Leigh RJ. Nystagmus and saccadic intrusions, *Handb Clin Neurol*. 2011; 102:333-378.
 122. Thurtell MJ, Leigh RJ. Therapy for nystagmus, *J Neuroophthalmol*. 2010; 30:361-371.
 123. Brown T. Overactive bladder guidelines released. *Medscape Medical News*. 2012.
 124. Mouttalib S, Khan S, Castel-Lacanal E, Guillotreau J, De Boissezon, Malavaud B et al. Risk of urinary tract infection after detrusor botulinum toxin A injections for re-fractory neurogenic detrusor overactivity in patients with no antibiotic treatment. *BJU Int*. 2010; 106:1677–1680.
 125. Desrosiers, Laurephile, and Leise R. Knoepp. "Bo-

- tulinum Toxin A: A Review of Potential Uses in Treatment of Female Urogenital and Pelvic Floor Disorders." *Ochsner Journal* 20.4, 2020; 400-409.
126. Utomo E, Groen J, Blok BF. Surgical management of functional bladder outlet obstruction in adults with neurogenic bladder dysfunction. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014.
 127. Oeconomou A, Madersbacher H, Kiss G, Berger TJ, Melekos M, Rehder P. Is botulinum neurotoxin type A (BoNT-A) a novel therapy for lower urinary tract symptoms due to benign prostatic enlargement? A review of the literature. *Eur Urol* 2008; 54:765-775.
 128. Wehrmann T, Schmitt TH, Arndt A, Lembcke B, Caspary WF, Seifert H. Endoscopic injection of botulinum toxin in patients with recurrent acute pancreatitis due to pancreatic sphincter of Oddi dysfunction. *Aliment Pharmacol Ther*. 2000; 14:1469-1477.
 129. Nijhuis, Renske AB Oude, et al. "Factors associated with achalasia treatment outcomes: systematic review and meta-analysis." *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 18.7, 2020; 1442-1453.
 130. Richter JE. Achalasia-an update. *JNeurogastroenterol Motil*. 2010; 16:232-242.
 131. Khashab, Mouen A., et al. "ASGE guideline on the management of achalasia." *Gastrointestinal endoscopy* 91.2 (2020): 213-227.
 132. Zhu Q, Liu J, Yang C. Clinical study on combined therapy of botulinum toxin injection and small balloon dilation in patients with esophageal achalasia. *Dig Surg* 2009; 26:493-498.
 133. Matthew L. Iorio, MD, Derek L. Botulinum Toxin A Treatment of Raynaud's Phenomenon: A Review, *Semin Arthritis Rheum*. 2013; 41:599-603.
 134. Flanagan KH, King R, Glaser DA. Botulinum toxin type a versus topical 20% aluminum chloride for the treatment of moderate to severe primary focal axillary hyperhidrosis. *J Drugs Dermatol*. 2008; 7(3):221-7.
 135. Dressler D, Benecke R. Autonomic side effects of botulinum toxin type B treatment of cervical dystonia and hyperhidrosis. *Eur Neurol*. 2003; 49:34-38.
 136. Cisneros-Lesser, Juan Carlos, and Mario Sabas Hernández-Palestina. "Tratamiento del paciente con sialorrea. Revisión sistemática." *Investigación en Discapacidad* 6.1 (2017): 17-24.
 137. Maroto Rodríguez, Borja. "Tratamiento de la epífora funcional con toxina botulínica tipo A (Incobotulinumtoxina A) frente a la tira tarsal lateral." (2020).
 138. Caro, Jorge, Nicolás Fuentes, and Rodrigo Iñiguez. "Evidencia y uso actual de toxina botulínica en patología otorrinolaringológica." *Revista de otorrinolaringología y cirugía de cabeza y cuello* 75.1 2015; 67-76.
 139. Sapci T, Yazici S, Evcimik MF, et al. Investigation of the effects of intranasal botulinum toxin type a and ipratropium bromide nasal spray on nasal hypersecretion in idiopathic rhinitis without eosinophilia. *Rhinology* 2008; 46:45-51.
 140. Comella CL. The treatment of cervical dystonia with botulinum toxins. *J Neural Transmission*. 2008; 115:379-583.
 141. Lew MF, Chinnapongse R, Zhang Y, Corliss M. Rimabotulinumtoxin B pain associated with cervical dystonia: results of placebo and comparator-controlled studies. *Int J Neurosci*. 2010; 120:298-300.
 142. Aurora SK, Dodick DW, Turkel CC, DeGryse RE, Silberstein SD, Lipton RB, Diener HC, Brin MF. PREEMPT 1 Chronic Migraine Study Group. OnabotulinumtoxinA for treatment of chronic migraine: results from the double-blind, randomized, placebo-controlled phase of the PREEMPT 1 trial. *Cephalalgia* 2010; 30:793-803.
 143. Laczek R, Drescher W, Deuretzbacher G, Hempfing A, Meiss AL. Treatment of chronic radial epicondylitis with botulinum toxin A. A double-blind, placebo-controlled, randomized multicenter study. *J Bone Joint Surg Am*. 2007; 89:255-260.
 144. Espandar R, Heidari P, Rasouli MR, Saadat S, Farzan M, Rostami M, Yazdaniyan S, Mor-tazavi SM. Use of anatomic measurement to guide injection of botulinum toxin for the management of chronic lateral epicondylitis: randomized controlled trial. *CMAJ* 2010; 182:768-773.
 145. Klein AW. Contraindications and complications with the use of botulinum toxin. *Clinics in Dermatology*. 2004; 22:66-75.
 146. Satriyasa, B. K. Botulinum toxin (Botox) A for reducing the appearance of facial wrinkles: a literature review of clinical use and pharmacological aspect. *Clinical, cosmetic and investigational dermatology*, 2019; 12, 223.
 147. Li, J., Li, Q., Zhou, B., Gao, Y., Ma, J., & Li, J. (2016). Predictive factors for cosmetic surgery: a hospital-based investigation. *Springerplus*, 5(1), 1-5.
 148. Rhodes LM, Norman RH, Wrone DA, et al. Cutaneous surgery in the elderly: ensuring comfort and safety. *Dermatol Ther*. 2003; 16:243-53.
 149. Vartanian AJ, Dayan SH. Complications of botulinum toxin A use in facial rejuvenation. *Facial Plast Surg Clin North Am*. 2005; 13:1-10.
 150. Dressler, D. Botulinum toxin drugs: brief history and outlook. *Journal of Neural Transmission*, 2016; 123(3), 277-279.
 151. Wang J, Meng J, Lawrence GW, Zurawski TH, Sasse A, Bodekr MO, et al. Novel chimeras of botulinum neurotoxins A and E unveil contributions from the binding, translocation, and protease domains to