

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
ESCOLA POLITÉCNICA DE SAÚDE JOAQUIM VENÂNCIO
LABORATÓRIO DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL EM TÉCNICAS LABORATORIAIS
EM SAÚDE

Zélia Mayara Pereira da Silva

TOXINA BOTULÍNICA: VENENO E TRATAMENTO

Rio de Janeiro
2013

Zélia Mayara Pereira da Silva

TOXINA BOTULÍNICA: VENENO E TRATAMENTO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio como requisito parcial para aprovação no curso técnico de nível médio em saúde com habilitação em Análises Clínicas.

Orientadora: Joseli Maria da Rocha Nogueira
Co-orientador: Flavia Coelho Ribeiro Mendonça

Rio de Janeiro
2013

RESUMO

Produto do metabolismo de algumas bactérias do gênero *Clostridium* as toxinas botulínicas são as mais potentes toxinas conhecidas. Responsáveis por causarem botulismo em humanos e animais, foram inicialmente estudadas vinculadas a esta doença. Dos estudos de seu uso como arma biológica, evoluíram as pesquisas para sua possível administração no tratamento de doenças e na estética. Como “veneno”, além dos casos de botulismo em humanos, é grande seu impacto na economia, já que o botulismo em animais é um grave problema da pecuária brasileira. Atuando na junção neuromuscular, impedindo a liberação do neurotransmissor: acetilcolina, compromete a propagação do impulso nervoso levando ao relaxamento e flacidez muscular. Essas características tornam as toxinas importantes para o ramo médico, já que seu uso visa geralmente o relaxamento de músculos. No entanto, seu uso não se restringe apenas a distúrbios do movimento e tônus muscular, sendo também usadas no tratamento de dores, hipersecreção, obesidades entre outras. Esse trabalho teve como principal objetivo realizar um estudo sobre as toxinas botulínicas com ênfase na sua utilização para diferentes fins. Como objetivos específicos realizou-se uma revisão de literatura sobre o tema Botulismo, contextualizando a doença e seu agente, descrevendo a forma de atuação da toxina botulínica no organismo, apontou-se também com base na literatura estudada como a toxina botulínica purificada pode ser usada em benefício do homem, para tal, fez-se uso como mecanismos de pesquisa as bibliotecas da Fundação Oswaldo Cruz e como mecanismo de busca na internet, os sites: Google acadêmico, Bireme, Pubmed, entre outros.

Palavras chaves: toxina botulínica, botulismo, *C. botulinum*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Dr Edward J. Schantz.....	11
Figura 2	Dr. Alan B. Scott.....	12
Figura 3	<i>C. botulinum</i> visto em microscópio de varredura.....	14
Figura 4	Esporos de <i>C. botulinum</i>	15
Figura 5	Imagem tridimensional da toxina botulínica.....	16
Figura 6	Variação de peso molecular dependente do tipo de BoNT.....	17
Figura 7	Localização da ponte dissulfídica da BoNT/A.....	17
Figura 8	Estrutura espacial da molécula de BoNT onde podem ser vistas suas cadeias leve e pesada.....	19
Figura 9	Liberação do neurotransmissor na fenda sináptica mediada por exocitose.....	20
Figura 10	Clivagem das proteínas do complexo SNARE pelos diferentes tipos de BoNT.....	21
Figura 11	Animal com botulismo apresentando dificuldade de locomoção.....	2
Figura 12	Brotamentos axonais restabelecendo a junção neuromuscular.....	31

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Grupos fisiológicos que agrupam os Clostrídeos produtores de toxinas botulínicas.....	13
Quadro 2	Alvo SNARE de cada sorotipo de BoNT.....	21
Quadro 3	Relação de doenças que podem receber tratamento com BoNTs.....	30

SIGLAS

TB	Toxina botulínica
BoNT/A	Neurotoxina botulínica do tipo A
BoNT	Neurotoxina botulínica
Hc	Porção carboxi-terminal da cadeia pesada (Domínio de ligação da molécula)
Hn	Porção amino-terminal da cadeia pesada (Domínio de translocação da molécula)
Hc-N	Domínio de ligação acessório
Hc-C	Domínio de ligação a gangliosídeos e proteínas sinápticas
NT	Neurotoxina
LC	Cadeia leve
BoNT/C	Neurotoxina botulínica do tipo C
SNARE	Soluble N-ethylmaleimidesensitive factor attachment protein-Receptor
VAMP	Vesicle-associated membrane protein
SNAP	Synaptosome-associated proteins

LISTA DE SIMBOLOS

® Marca Registrada

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
1.1 JUSTIFICATIVA.....	8
1.2 OBJETIVOS.....	8
1.2.2 Objetivos Gerais.....	8
1.2.2 Objetivos Específicos.....	9
1.3 METODOLOGIA.....	9
2 TOXINA BOTULÍNICA	9
2.1 HISTÓRICO.....	9
2.2 SÍNTESE.....	12
2.3 ESTRUTURA.....	16
2.3.1 Cadeia Pesada.....	17
2.3.2 Cadeia Leve.....	18
2.3.2.1 <i>Mecanismo de Ação</i>	19
3 VENENO	23
3.1 BOTULISMO.....	23
3.1.1 Histórico.....	23
3.1.2 Definição.....	24
3.1.2.1 <i>Modos de Transmissão</i>	25
3.2 BOTULISMO ANIMAL.....	27
4 TRATAMENTO	29
5 CONCLUSÃO	32
REFERÊNCIAS	33

1 INTRODUÇÃO

“Venenos podem ser empregados como forma de destruição da vida, ou como agentes de tratamento de doenças”

Claude Bernard, 1885

Segundo, MATURANA (2001) nunca antes uma substância havia mudado de forma tão expressiva seu papel na sociedade, como aconteceu com as toxinas botulínicas (TB). Inicialmente estudadas vinculadas a casos de botulismo e posteriormente estudadas com o intuito de serem usadas como armas biológicas, concomitantemente com os problemas que ela pode ocasionar aos seres humanos e aos animais, seu uso terapêutico também tem sido pesquisado, com grande entusiasmo, mostrando a dualidade que pode existir numa mesma substância, dependendo do objetivo de sua utilização.

Atualmente são reconhecidos oito tipos de TB (A, B, C1, C2, D, E, F, G) sorologicamente distintos, porém com ação farmacológica similar (JUNQUEIRA, 1994), exceto C2, que segundo a literatura não tem ação neurotoxina (DÖBEREINER, 2004). Atuando sobre o sistema nervoso periférico (JUNQUEIRA, 1994) são as responsáveis por causar o quadro clínico conhecido como botulismo, que segundo o Ministério da Saúde é uma doença neuroparalisante grave não contagiosa, que se apresenta em três diferentes formas (BRASIL, 2006), embora alguns trabalhos defendam a existência de cinco formas de botulismo. As toxinas A, B, E, F e G são as responsáveis pelos casos de botulismo em humanos (BRASIL, 2006). As toxinas C1 e D acometem outras espécies animais, tais como: bovinos, aves, caprinos e ovinos (DÖBEREINER, 2004), merecendo, dessa forma, certo destaque, por representarem grande prejuízo para a pecuária, e conseqüentemente para a economia.

Com a reputação de serem as mais tóxicas substâncias conhecidas, estima-se que um grama da neurotoxina botulínica do tipo A (BoNT/A) dispersadas de maneira adequada e em condições ambientais ideais seja capaz de matar um milhão de pessoas. A dose letal para humanos é de 0,001 µg/kg em sua forma inalada (SPOSITO, 2009) e 70 µg por via oral (CERESER et al, 2008). Além da alta toxicidade, a toxina também conta com mecanismos de ação altamente específicos, tornando-a uma substância altamente perigosa (SPOSITO, 2009), sendo dessa forma necessárias algumas precauções durante seu manuseio e uso, devendo estes ser realizados apenas por profissionais de saúde habilitados. Apesar de tamanha

periculosidade, as toxinas botulínicas podem ser facilmente inativadas por fatores tais como: calor (80° por trinta minutos), hipoclorito de sódio (NaOCl a 0,1% por trinta minutos), radiação solar (uma a três horas) e o tratamento de cloração clássica da água, inativa 84%, dos níveis de toxina existentes, em vinte minutos (GOMES, 2013).

A atuação dessas toxinas diméricas (formada por duas unidades: uma cadeia leve e uma cadeia pesada) se dá nas células pré-sinápticas onde ligam-se ao terminal da placa motora e inibem a liberação da acetilcolina (neurotransmissor) na junção neuromuscular, uma vez não liberado esse neurotransmissor, devido ao fato das células pré e pós-sinápticas serem separadas eletricamente, não há a propagação do impulso que levaria à despolarização e consequente contração do músculo, o que leva a flacidez muscular, ou relaxamento do músculo (MATURANA, 2001). Todos os mecanismos pelos quais atuam a toxina são altamente específicos, sendo esta característica, aliada a sua alta toxicidade, as responsáveis por seu sucesso no ramo médico (SPOSITO, 2009).

1.1 JUSTIFICATIVA

As pesquisas sobre estas toxinas, que inicialmente foram estudadas com a reputação de venenos biológicos avançaram muito e atualmente elas são usadas amplamente em muitos ramos da medicina: da neurologia a estética. Apesar destes avanços, poucos são os conhecimentos da população em geral sobre esse assunto, desde a prevenção de possíveis casos de botulismo até a forma como se obtém produtos relacionados a essa substância. Por esse motivo as pesquisas e eventual publicação desse trabalho tem relevância para o meio acadêmico.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivos Gerais

- Realizar um estudo sobre as toxinas botulínicas com ênfase na sua utilização para diferentes fins.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Realizar uma revisão de literatura sobre o tema Botulismo, contextualizando a doença e seu agente.
- Descrever a forma de atuação da toxina botulínica no organismo.
- Apontar, com base na literatura estudada como a toxina botulínica purificada pode ser usada em benefício do homem.

1.3 METODOLOGIA

A metodologia deste trabalho consiste na pesquisa de livros e artigos científicos sobre o tema. Para tal procedimento usaremos as bibliotecas da Fundação Oswaldo Cruz e como mecanismo de busca na internet, os sites: Google acadêmico, Bireme, Pubmed, entre outros.

2 TOXINA BOTULÍNICA

2.1 HISTÓRICO

Sua história tem início no ano de 1896, em Ellezelles, Bélgica, quando o professor Emile Pierre Van Ermengem, pesquisando um surto de botulismo, descobriu o micro-organismo e a toxina produzida pelo mesmo, e provou a relação desta no quadro da doença. Anteriormente à descoberta de Ermengem, outros estudiosos já vinham pesquisando a toxina botulínica, mas especificamente o botulismo, tendo como nome mais importante Justinus Kerner que é o primeiro a propor o uso das toxinas botulínicas para fins terapêuticos (ERBGUTH, 2008). Em seus experimentos com animais Kerner concluiu que a toxina se desenvolvia em condições anaeróbias, tinha a capacidade de interromper a transmissão motora periférica e autônoma e que uma pequena dose poderia ser letal (BACHUR et al, 2009).

O fato não chamou atenção apenas de Kerner, mais de muitos outros pesquisadores, um deles foi Van de Corput, que sugeriu que a toxina era produzida por um

fungo, ao qual denominou *Sarcina botulina*, entretanto nunca conseguiu isolar o tal fungo (LEDERMANN, 2003).

Por muito tempo as toxinas foram relacionadas a produtos de origem animal, porém Landmann em 1904 consegue isolar o *C. Botulinum* em feijões enlatados, após um surto em Darmstadt, na Alemanha, envolvendo 12 pessoas das quais 11 morreram (LENDERMANN, 2003). Em 1910 Leuchs relata que as cepas isoladas por Ermengem e Landmann produzem toxinas sorologicamente diferentes, além da presença de mais de um micro-organismo relacionado. Em 1919 Burke confirma a diferença sorológica e as denomina de toxina B e toxina A respectivamente. Nos anos que se seguiram novas toxinas foram descobertas, reconhecendo-se atualmente oito tipos (A, B, C1, C2, D, E, F, G) sorologicamente distintos, todavia com ação farmacológica similar (JUNQUEIRA, 1994).

Em 1920, vinte anos após um surto de botulismo nos Estados Unidos que destruiu a indústria de enlatados, a neurotoxina do tipo A, é isolada pela primeira vez, pelo Dr. Herman Sommer, da Universidade da Califórnia (SPOSITO, 2004), no entanto, o resultado não é satisfatório, pois o que se obtém é um precipitado com textura lamacenta (MATURNA, 2001).

Por volta de 1940 as toxinas e o *C. Botulinum* tiveram suas pesquisas voltadas para uso em guerras, almejando sua utilização como arma biológica. Na segunda guerra mundial seu uso se estendeu às forças aliadas (Aliança política criada entre Inglaterra, França, URSS e EUA) e do eixo (Aliança política entre Japão, Alemanha e Itália) (SPOSITO, 2009). Os estadunidenses foram os primeiros a isolar a toxina do tipo A (SPOSITO, 2009), chegando até mesmo a criar um laboratório (Fort Detrick) voltado para as pesquisas a respeito do seu uso e proteção (SPOSITO, 2004). Em 1944 o Dr. Edward J. Schantz (figura 1) e o Dr. Erik A. Johnson se juntam a equipe do laboratório Fort Detrick, a fim de pesquisar o botulismo, e no ano seguinte se tornam, em aliança com o Dr. Carl Lamanna, os responsáveis por purificar pela primeira vez a toxina em forma cristalina (MATURANA, 2001). Uma forma melhorada da toxina purificada foi produzida em 1957 pelo Dr. Duff (SPOSITO, 2004). Ainda na década de 1950 Vernon Brooks sugeriu o uso da toxina para fins terapêuticos (tratamento de hiperfunções musculares) (MATURANA, 2001).

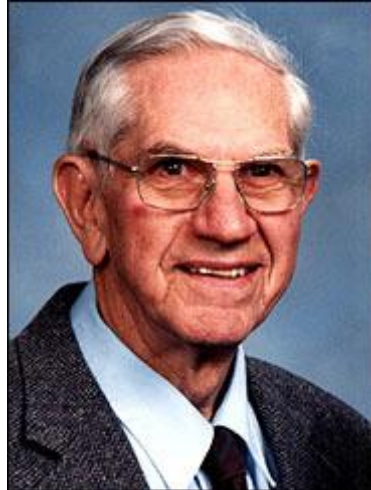


Figura1: Dr Edward J. Schantz

Fonte: http://graphics8.nytimes.com/images/2005/05/04/national/04schantz_184.jpg

Em 1960, o Dr. Alan B. Scott (figura 2), procurando uma forma de tratar o estrabismo, acaba entrando em contato com Schantz e a toxina botulínica, e em parceria com o mesmo começa em 1977 experimentos com humanos. Em 1989 a toxina A é aprovada pelo *Food and drug administration* (FDA), porém sem qualquer vínculo com a marca comercial atual, Botox®. No ano seguinte a toxina do tipo A é incluída na lista de medicamentos eficientes e seguros, após consentimento do *National Institutes of Health* (SPOSITO, 2004). A partir deste ponto tem início as pesquisas de cunho terapêutico dessa toxina (PARRILLI, 2008). Somente no ano de 2002 a toxina é liberada para uso cosmético nos EUA, dois anos após a aprovação para mesma finalidade, no Brasil (Allergan).

Por muito tempo as toxinas foram estudadas vinculadas a casos de botulismo. Atualmente, devido a grande notoriedade que as mesmas adquiriram na área médica passaram a ser estudadas isoladamente a esta doença. Esse histórico, portanto, evidencia a reviravolta vivida pelas mesmas, que de veneno começam a se mostrar eficazes no tratamento de doenças.

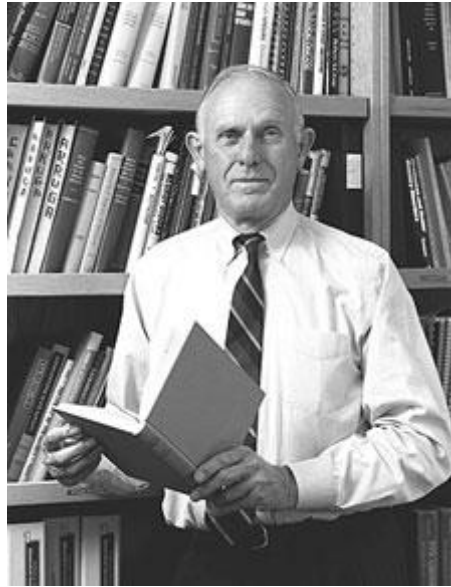


Figura 2: Dr. Alan B. Scott

Fonte: http://www.ski.org/Vision/Scientists/Images/Alan_Scott.jpg

2.2 SÍNTESE

A história das bactérias produtoras de neurotoxina botulínicas (BoNT) tem início no ano de 1895, quando após um surto que acometeu 34 pessoas em Ellezelles- Bélgica o professor Emile Pierre Van Ermengem isolou pela primeira vez o principal agente relacionado ao botulismo (JUNQUEIRA, 1994). Os esporos do *Bacillus botulinus*, como foram nomeados por Ermengem, foram encontrados no baço de uma das três vítimas fatais da doença, e no resto de presunto cru, com o qual essas pessoas haviam se alimentado durante um velório (LEDERMANN, 2003). Somente em 1923 o micro-organismo recebeu o nome de *Clostridium botulinum* (JUNQUEIRA, 1994). Além de isolar o bastonete, Ermengem conseguiu provar a relação de uma toxina no quadro da doença, após inocular alguns animais com o filtrado da cultura e conseguir reproduzir, nos mesmos, os sintomas da doença (JUNQUEIRA, 1994). Nos anos seguintes outros micro-organismos são reconhecidos como produtores de BoNT, contudo, por muito tempo convencionou-se denominar os mesmos apenas como *Clostridium botulinum*.

Embora se saiba que são diversos, ainda se faz menção dos mesmos de forma generalizada (SPOSITO, 2009). Além do clássico *C. botulinum* as outras espécies do gênero que também produzem tipos de BoNT, são: *C. butyricum*, *C. baratii* e *C. argentinense* (síntese do sorotipo G) (SPOSITO, 2009). As bactérias da espécie *C. Botulinum*, por produzirem toxinas com características antigênicas diferentes, foram inicialmente divididas

em sete cepas, denominadas de A a G, de forma correspondente a toxina que produzem (CERESER et al, 2008). Estudos levaram ao conhecimento de que algumas cepas são capazes de produzir mais de um tipo de toxina, invalidando a divisão inicial desses micro-organismos em apenas sete cepas, sendo atualmente agrupados em quatro grupos fisiológicos incluindo-se também as outras bactérias do gênero que também são capazes de produzir tipos da toxina botulínica (SPOSITO, 2009), como pode ser visto no quadro abaixo:

	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV	<i>C. butyricum</i>	<i>C. baratii</i>
Toxinas	A, proteolítica B, F.	E, não Proteolítica B, F	C, D	G	E (96,9 %), F	F
Proteólise	+	-	-	+	-	-
Produção de lipase	+	+	+	-	-	-
Botulismo	Humano	Humano	Animal	Morte súbita	Humano	Humano

Quadro 1: Grupos fisiológicos que agrupa os Clostrídeos produtores de toxinas botulínicas.

Referências: (SPOSITO, 2009; Junqueira, 1994).

Os micro-organismos da espécie *Clostridium botulinum* (figura 3), são bastonetes grandes, medindo de 3 a 6 μm de comprimento, Gram-positivos, todavia, em cultivos mais antigos apresentam-se Gram-negativos, móveis por flagelos peritríquios, anaeróbios estritos, não sendo exigentes quanto as suas necessidades nutricionais, crescendo muito bem em meios preparados com fígado, todas as espécies são mesófilas com ótimo de temperatura em torno dos 25 °C aos 37 °C e pH entre 4,8 a 8,5. Valores de pH abaixo de 4,6 inibem seu crescimento (LEANDRO, 2007), suas colônias geralmente crescem na profundidade do Agar, as que crescem na superfície do mesmo são semitransparentes com bordos irregulares (GOMES, 2013). Sendo assim, as condições ideais para que a bactéria se mantenha em sua forma vegetativa, produzindo toxina, são: Anaerobiose; pH neutro tendendo a alcalinidade; temperatura em torno dos 30 °C e atividade de água de 0,95 a 0,97. Os *C. botulinum* do tipo E tem a capacidade de proliferar em temperaturas a partir dos 3°C (BRASIL, 2006).

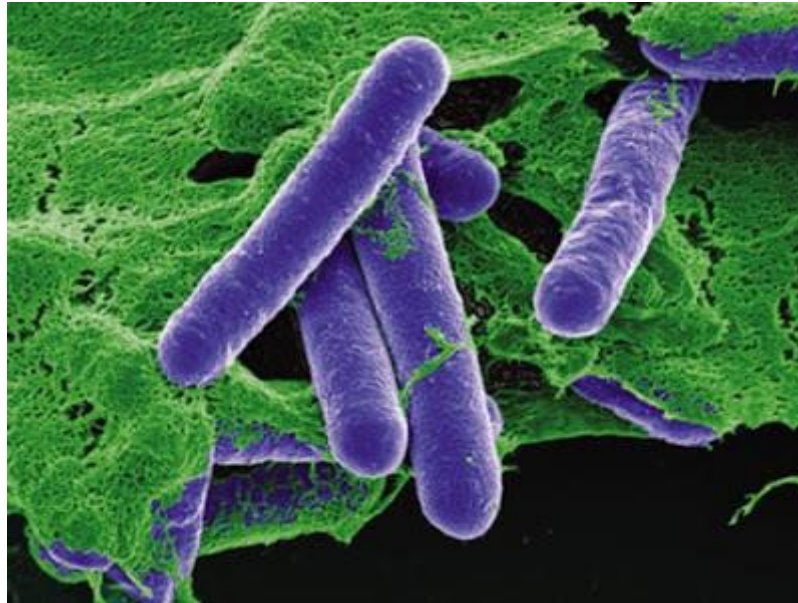


Figura 3: *C. botulinum* visto em microscópio de varredura.

Fonte: http://3.bp.blogspot.com/_d_MrxPu1j0c/Rsb8D7jL43I/AAAAAAAAAI0/laO30VHBLzk/s400/1646.jpg

São produtores de esporos subterminais (figura 4), que são reconhecidos dentre os mais resistentes, capazes de sobreviver por mais de trinta anos em estado líquido e ainda mais tempo em meio seco, tolerando altas temperaturas por horas. Esses micro-organismos são frequentemente encontrados no solo e em sedimentos marinhos, além de serem habitantes normais do trato intestinal de equinos, aves e bovinos, sendo excretado junto com as fezes desses animais (CERESER et al, 2008). Seus esporos também são frequentemente encontrados em fezes humanas sem causarem qualquer enfermidade, já que as condições não são favoráveis a sua reprodução, salvo bebês, que geralmente não tem a microbiota intestinal desenvolvida e alguns adultos com microbiota intestinal deprimida, já que em condições normais o *C. botulinum* não seria um bom competidor frente à outros micro-organismos do local (MUGNOL, 1997 *apud* LEANDRO, 2007; CERESER, 2008).



Figura 4: Esporos de *C. botulinum*.

Fonte: https://d589j1w8ayj7e.cloudfront.net/attachments/media_files/previews/2658.jpg

Embora se admita que os esporos de *C. botulinum* estejam espalhados por todo o globo terrestre, é observada uma prevalência de cada um dos tipos em regiões específicas. Os esporos do tipo B são comumente encontrados na região leste dos Estados Unidos e na Europa, os do tipo A na região Oeste dos Estados Unidos, os do tipo E em latitudes setentrionais, sendo frequentemente isolados no lodo das margens de lagos e na areia das praias, além de serem encontrados constantemente como contaminantes do tubo digestório de peixes. Os do tipo F são geralmente encontrados no sedimento marítimo ao largo da costa da Califórnia e do Óregon e no intestino de salmões do rio Columbia (MUGNOL, 1997 *apud* LEANDRO, 2007). O tipo G foi isolado pela primeira vez em solo Argentino, sendo nomeado *Clostridium argentinense*, pelos seus descobridores (JUNQUEIRA, 1994).

Segundo LOBATO et al (2007), as toxinas botulínicas são codificadas pelo gene BoNT, que tem origem variada. Os tipos C e D tem origem em bacteriófagos, os tipos A, B, E e F origem cromossomal e o tipo G origem plasmidial. Apesar disso, suas toxinas são semelhantes, não apenas quanto ao seu mecanismo de ação, mas também quanto à estrutura: uma cadeia polipeptídica de 150 kDa. Apesar de suas semelhanças estruturais e farmacológicas as toxinas botulínicas diferem quanto as suas características sorológicas (SPOSITO, 2009).

2.3 ESTRUTURA

Produto do metabolismo das bactérias descritas, as toxinas botulínicas (Figura 5) são sintetizadas no citosol e liberadas após a lise dessas bactérias (PELLIZZARI et al, 1997), como um complexo macromolecular (BACHUR et al, 2009).



Figura 5: Imagem tridimensional da toxina botulínica

Fonte: <http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/5b/Botox-structure.png>

Esse complexo macromolecular, com peso que varia entre 300 e 900 kDa (Figura 6), a depender do tipo de toxina, é composto por uma porção ativa com peso de 150 kD, sendo esta a neurotoxina propriamente dita, envolta por proteínas acessórias, do tipo hemaglutinínicas e/ou não hemaglutinínicas, que terão como principal função, sua proteção ante a degradação (SPOSITO, 2009; DRESSLER, 2005). A porção ativa é formada por uma única cadeia polipeptídica simples, que necessitará ser clivada em duas cadeias: leve (L-chain) e pesada (H-chain), que por sua vez se manterão ligadas uma a outra por uma ponte dissulfídica, sendo a manutenção desta imprescindível para a que a toxina expresse de forma eficaz sua atividade biológica (SPOSITO, 2009; DRESSLER, 2005).

A cadeia polipeptídica da BoNT/A é constituída por 1295 aminoácidos, dos quais os 447 primeiros compõe a cadeia leve e os 848 restantes são constituintes da cadeia pesada (SPOSITO, 2009). É o único tipo de toxina que pode ser encontrada em todos os tamanhos (Figura 6). Nesse tipo de toxina a ponte dissulfídica está localizada entre os aminoácidos Cys430 e Cys454, como mostra a figura 7 (SPOSITO, 2009):

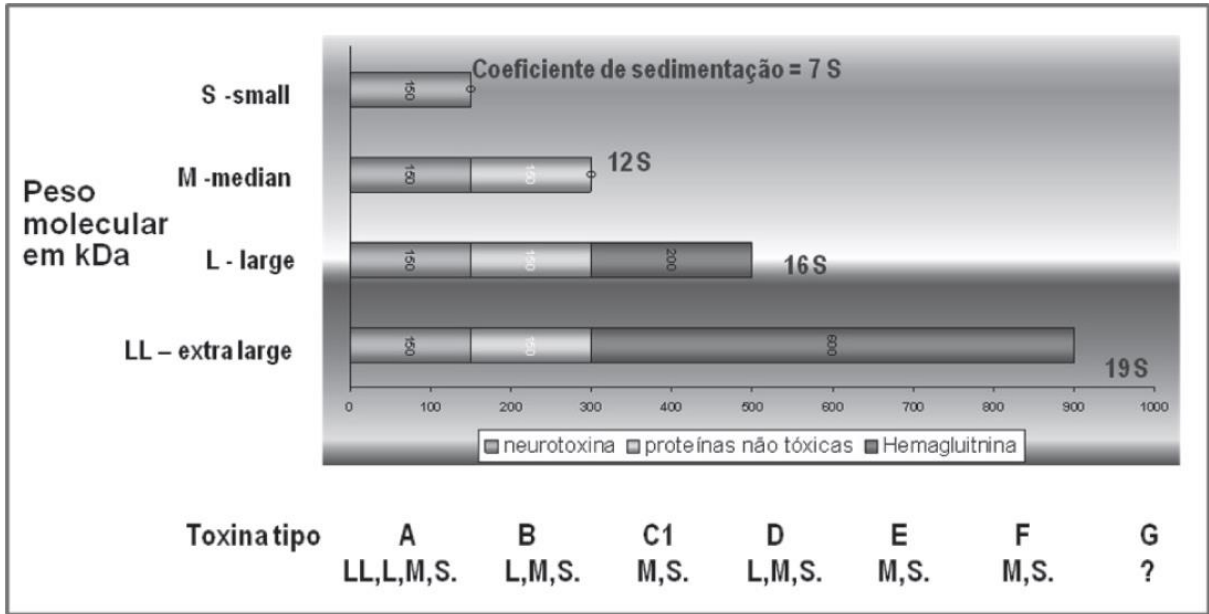


Figura 6: Variação de peso molecular dependente do tipo de BoNT.

Fonte: SPOSITO, 2009

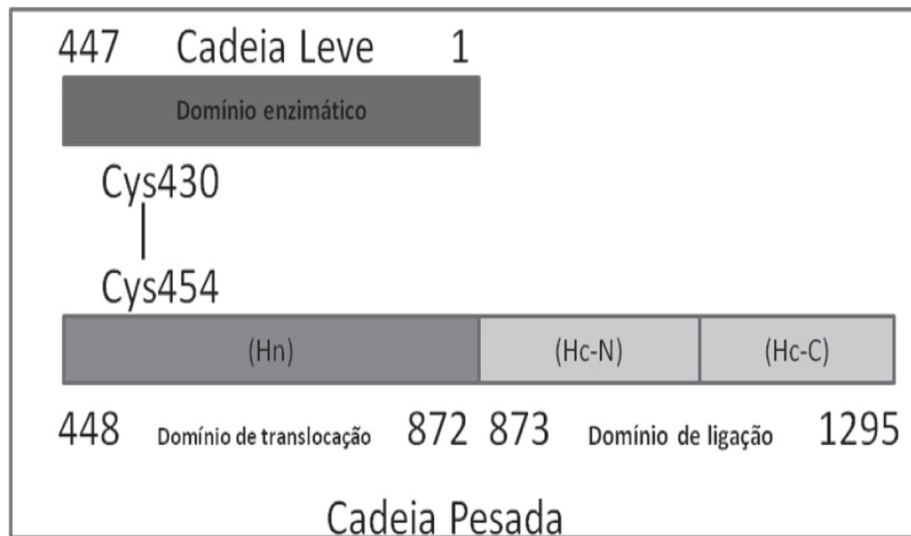


Figura 7: Localização da ponte dissulfídica da BoNT/A

Fonte: SPOSITO, 2009.

2.3.1 Cadeia Pesada

Composta por dois domínios: porção carboxila-terminal que corresponde ao domínio de ligação (Hc) e amino-terminal ao domínio de translocação (Hn), que serão responsáveis pela ligação/internalização na célula nervosa e translocação da cadeia leve para o citosol da mesma, respectivamente (SPOSITO, 2009; PELLIZZARI et al, 1997). O

domínio de ligação (Hc) por sua vez ainda apresenta dois subdomínios: Hc-N, domínio de ligação acessório e Hc-C, domínio de ligação a gangliosídeos e a proteínas sinápticas (SPOSITO, 2009; PELLIZZARI et al, 1997). Os dois subdomínios Hc são basicamente compostos por proteínas estruturadas em forma folha- β -pregueada, unidos a Hn por uma α -hélice (TURTON, 2002). Hn é formado por duas longas α -hélices, sendo responsável pela translocação da neurotoxina e subsequente formação de poros no endossoma, que liberarão a cadeia leve para o meio intracelular do neurônio (TURTON, 2002).

2.3.2 Cadeia Leve

Corresponde a porção catalítica, proteolítica da neurotoxina (NT). Essa cadeia é composta por vários segmentos peptídicos homólogos, concentrados nas porções centrais e amino terminal (SPOSITO, 2002). A cadeia leve (LC) é conhecida como uma metaloprotease, pois sua atividade catalítica depende da presença de um íon zinco alojado em uma cavidade de sua porção central, portanto nessa região se encontram as principais ligações para as zinco-endopeptidases. Dessa forma conclui-se que moléculas desprovidas do íon de zinco são consideradas inativas. (SPOSITO, 2002; SPOSITO, 2009). Todas as moléculas da toxina botulínica têm em sua cadeia leve um átomo de zinco. A BoNT/C têm dois desses átomos em sua molécula (SPOSITO, 2002).

O alvo catalítico da LC são as proteínas responsáveis pela fusão da membrana de acetilcolina com a membrana celular do neurônio pós-sináptico, conhecidas como SNARE (Soluble N-ethylmaleimidesensitive factor attachment protein-Receptor), sendo estas imprescindíveis para que ocorra a liberação do neurotransmissor na junção neuromuscular e consequente contração do músculo (SPOSITO, 2009; BACHUR et al, 2009).

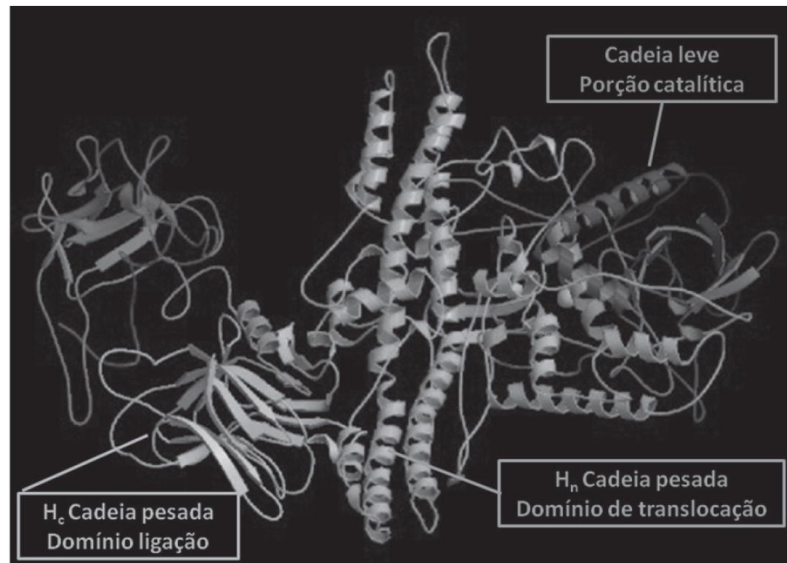


Figura 8: Estrutura espacial da molécula de BoNT onde podem ser vistas suas cadeias leve e pesada.

Fonte: SPOSITO, 2009.

2.3.2.1 Mecanismo de Ação

Entre células nervosas e outras células não há contato direto, sendo assim para que ocorra a transmissão do impulso nervoso existe uma estrutura microscópica de contato, conhecida como sinapse. As sinapses se dão a partir de substâncias conhecidas como neurotransmissores liberados na fenda sináptica a partir de exocitose pelo terminal pré-sináptico, terminal axônico. Liberados na fenda sináptica, os neurotransmissores vão difundir-se na membrana do terminal pós-sináptico, como pode ser visto na figura 8. No caso do terminal pós-sináptico ser um músculo o neurotransmissor (acetilcolina- Ach) provocará um potencial de ação que acarretará na despolarização das células musculares gerando a contração do mesmo (LENT, 2005; MATURANA, 2001).

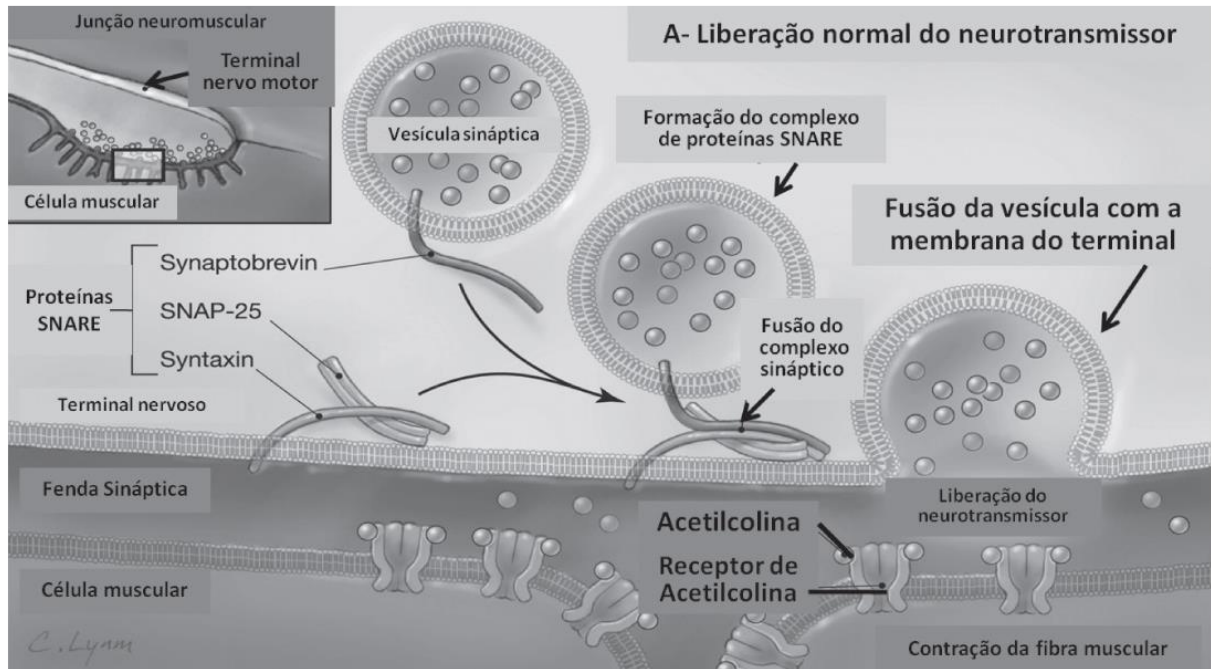


Figura 9: Liberação do neurotransmissor na fenda sináptica mediada por exocitose.

Fonte: SPOSITO, 2009.

Como já citado o neurotransmissor é liberado por via exocitótica. No meio intracelular do terminal pré-sináptico as moléculas de acetilcolina encontram-se dentro de vesículas que deverão se fundir com a membrana celular do neurônio para que ocorra a liberação das mesmas na fenda sináptica, para isso faz-se necessário à presença de algumas proteínas, formadoras de um complexo denominado SNARE (SPOSITO, 2009; BACHUR et al, 2009). O complexo SNARE é composto por proteínas que estão associadas às vesículas, recebendo a denominação de VAMPs (vesicle-associated membrane protein) e proteínas associadas a membrana do neurônio que recebem o nome de SNAPs (synaptosome-associated proteins) (BACHUR et al, 2009).

A cadeia leve das BoNT atua sobre as proteínas desse complexo clivando-as, como está ilustrado na figura 9, bloqueando a exocitose das vesículas do neurotransmissor. Vale mencionar que as diferentes BoNT clivam diferentes pontos da SNARE (SPOSITO, 2009; BACHUR et al, 2009). As toxinas botulínicas A e E clivam a SNAP-25, as toxinas B, D, F e G clivam a VAMP/sinaptobrevina e o sorotipo C cliva a syntaxina e SNAP-25, como pode ser visto na figura 9 e no quadro 2 (BACHUR et al, 2009). Isso explica as diferentes potências de cada sorotipo (COLHADO, BOEING E ORTEGA, 2009) sendo o tipo A o mais potente deles seguido do sorotipo F, que embora potente apresente duração de efeitos menor em relação ao primeiro (SPOSITO, 2004).

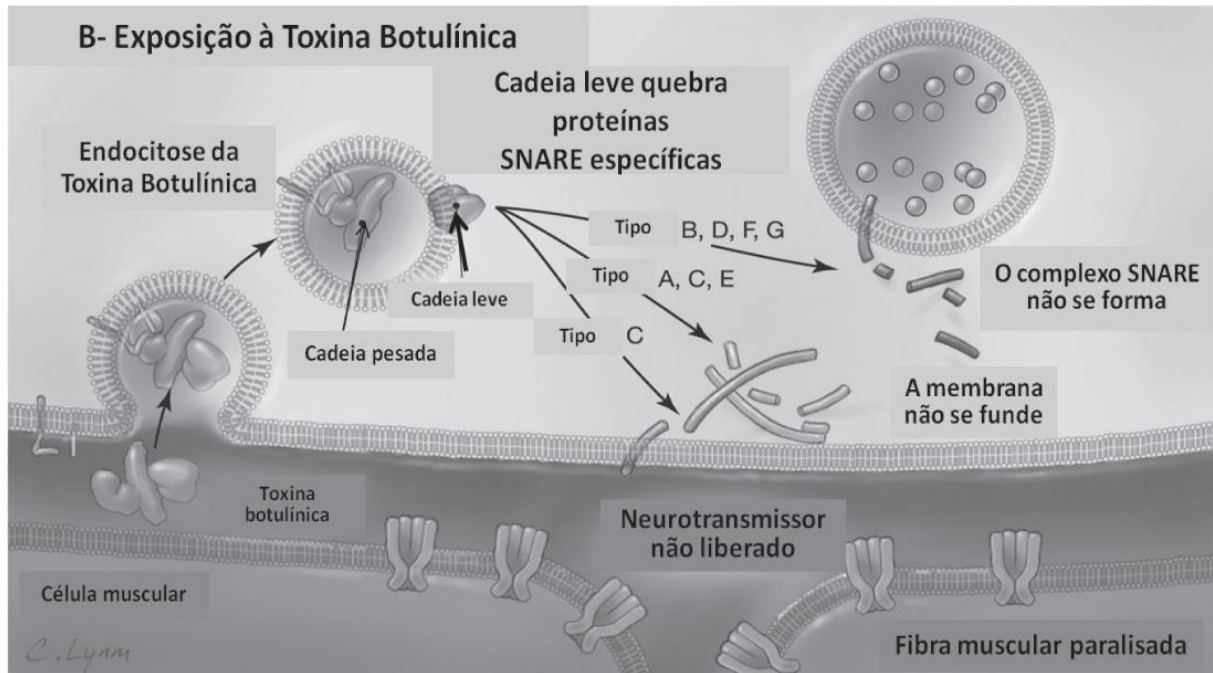


Figura 10: Clivagem das proteínas do complexo SNARE pelos diferentes tipos de BoNT.

Fonte: SPOSITO, 2009.

Sorotipo	Substrato celular
A	SNAP-25
B	VAMP / Synaptobrevin / Cellubrevin
C1	Syntaxin 1A, 1B, SNAP-25
D	VAMP / Synaptobrevin / Cellubrevin
E	SNAP-25
F	VAMP / Synaptobrevin / Cellubrevin
G	Synaptobrevin / Cellubrevin

Quadro 2: Alvo SNARE de cada sorotipo de BoNT

Fonte: SPOSITO, 2009

Para que a cadeia leve da BoNT, atue no meio intracelular é preciso que ocorra a internalização desta para o interior do neurônio, para isso faz-se necessária a atuação da cadeia pesada com seus domínios de ligação e internalização/translocação da BoNT. Essas etapas que se iniciam com a ligação da NT ao neurônio e terminam com a clivagem catalítica das proteínas SNARE configuram o chamado mecanismo clássico de ação das BoNTs (SPOSITO, 2009).

Essa propriedade das NT em clivar as SNARE gerando a inibição das vesículas de acetilcolina acarreta flacidez muscular, tornando assim as BoNT responsáveis pelo quadro

clínico conhecido como botulismo. Essa mesma propriedade a torna um fármaco de grande importância para o ramo médico.

A observação dos sintomas do botulismo e dos efeitos colaterais da administração médica das BoNTs, levaram ao entendimento de que sua ação excede o efeito sobre os músculos estriados, atuando também sobre o sistema nervoso autônomo e sobre o reflexo de estiramento medular, tendo também ação antinociceptiva e sobre o sistema nervoso central direta e indiretamente, atuando dessa forma sobre outros mecanismos que até o momento não estão bem elucidados (SPOSITO, 2009)

Segundo PELIZZARI et al (2013), SPOSITO (2009), MOTECUCCO (1994) e BACHUR et al (2009) esse mecanismo de ação se dá em quatro etapas: (a) ligação aos receptores colinérgicos específicos, (b) internalização mediada por endocitose, (c) translocação da cadeia leve para o citosol do neurônio e (d) clivagem seletiva das SNARE mediadas pela cadeia leve:

- a) A ligação é dependente da presença de gangliosídeos (em particular GD1b, GT1b e GQ1b), no entanto estudos indicam que essas não são as únicas moléculas que favorecerão a ligação ao terminal nervoso, fazendo-se necessária a presença de proteínas receptoras para que conseqüentemente ocorra a internalização da NT. Apesar de ainda não se conhecer todos os receptores envolvidos na ligação da NT, acredita-se que a sinaptotagmina atue como receptor dos sorotipos A, B e E (TURTON, 2002).
- b) Após a ligação a NT é internalizada por endocitose dependente de energia e temperatura. Nessa fase a toxina já não pode mais ser inativada (TURTON, 2002).
- c) A acidez do endossoma promove uma mudança na conformação estrutural da toxina, desse modo a cadeia pesada facilita a entrada da cadeia leve no meio citoplasmático (SPOSITO, 2009).
- d) Uma vez dentro no neurônio a cadeia leve exerce sua função clivando as SNARE (SPOSITO, 2009).

3 “VENENO”

3.1 BOTULISMO

3.1.1 Histórico

Em muitos momentos, a historia das toxinas botulínicas se confunde com a história do quadro clínico causado pelas mesmas, ou seja, a história do botulismo, todavia, anterior a descoberta das BoNT essa doença já assolava a humanidade despertando portanto o interesse de muitos estudiosos em pesquisa-la.

Provavelmente em associação com as técnicas de conservação de alimentos surgiu o botulismo alimentar (JUNQUEIRA, 1994). Entretanto não há qualquer registro da doença anterior ao século XVIII, mas precisamente, 1793 (CERESER et al, 2008), quando ocorreu um surto da doença no reino de Württemberg na Alemanha após o consumo de um tipo de salsicha conhecida como “Blunsen” (ERBGUTH, 2008), onde das 30 pessoas contaminadas, seis foram a óbito (CERESER et al, 2008). Até o ano de 1827, haviam sido registrados 234 casos da doença e em 1853 esta já havia chegado à marca dos 400 casos, dos quais 150 evoluíram ao óbito (LEDERMANN, 2003). A epidemia ficou conhecida como “envenenamento por salsicha” daí a origem do nome atual, botulismo, já que em latim “botulus” significa salsicha (JUNQUEIRA, 1994).

A alta taxa de mortalidade desse envenenamento alimentar chamou a atenção do médico e cientista alemão Justinus Kerner, que em 1817 iniciou suas pesquisas, descrevendo posteriormente, em detalhes, o botulismo e suas manifestações clínicas. No entanto, Kerner desconhecia que a toxina era produzida por um micro-organismo, acreditando que a mesma tivesse origem animal (BACHUR et al, 2009).

Muitas outras teorias foram formuladas, até que em 1895 o microbiologista belga Emile Pierre van Ermengem consegue isolar pela primeira vez os esporos do agente causador do botulismo, ao qual nomeou *Bacillus botulinus*, além disso, consegue provar que os sintomas eram causados pela ação da toxina gerada por esse bacilo (BACHUR et al, 2009). As pesquisas de Ermengem tiveram início, após um surto de botulismo que ocorreu em Hainault, na vila de Ellezelles, na Bélgica no mês de dezembro, onde 34 pessoas foram contaminadas (PARRILLI, 2008) durante a ingestão de presunto cru que havia sido servido em um velório (CERESER et al, 2008). LEDERMANN (2003) cita que o porco do qual foi feito o presunto havia sido morto no mês de agosto e mantido em salmoura até o dia do

funeral. Nesse episódio, das 34 pessoas contaminadas três morreram. Foi no baço de umas dessas vítimas e nos restos de presunto que Ermengem conseguiu encontrar os esporos do *Bacillus botulinus*. Após isolar o micro-organismo e cultivá-lo, Ermengem conseguiu reproduzir os sintomas da doença em animais de laboratório após a inoculação do filtrado da cultura nesses animais, provando a relação de uma toxina no quadro da doença.

3.1.2 Definição

O botulismo é uma doença de alta letalidade causada pela ação das toxinas botulínicas no organismo, que gera paralisia flácida simétrica descendente, podendo levar a morte por comprometimento respiratório (SOBEL, 2005 *apud* LEANDRO, 2007). Acomete espécie humana e muitas espécies animais. Das oito toxinas conhecidas quatro são responsáveis pelo botulismo nos humanos: A, B, E e F (BRASIL, 2002). Os tipos C1 e D causam botulismo animal (DOBEREINER, 2004). O tipo G esteve relacionado a alguns casos de morte súbita (CARDOSO et al., 2004).

Considerada atualmente uma doença rara, muitos autores defendem que maiores índices da doença não são expressos por falta de estudos, que se feitos aumentariam consideravelmente o número de casos. THERRE (1999) citado por LEANDRO (2007) defende que as novas técnicas de processamento de alimentos contribuíram para que esta se tornasse uma doença de incidência rara. MUGNOL (1997) *apud* LEANDRO (2007) aponta que apesar de rara a doença deve ser estudada por ainda representar risco para a saúde humana, apesar de a ocorrência de casos serem menores.

Quanto a ocorrência atual de surto de botulismo, GELLI et al (2002) *apud* CERESER et al (2008) cita que estes ocorrem em todos os continentes. O primeiro surto de botulismo no Brasil que se tem registro, foi notificado à Secretaria de Vigilância em Saúde no ano de 1999 (CERESER et al, 2008), no entanto, apenas em outubro de 2001, após a abertura da portaria nº 1.943/MS de 18/10/2001, a doença passa a ser de notificação compulsória onde um único caso já é considerado surto, tornando-a uma emergência médica e de saúde pública no nosso país (SVS-MS).

O Ministério da Saúde (2002) descreve o botulismo como uma doença neurológica grave, não contagiosa que se apresenta sobre três formas: A primeira é caracterizada pela ingestão da toxina pré-formada, sendo, portanto, chamada de botulismo

alimentar; os dois outros tipos, menos frequentes, da doença ocorrem quando há entrada dos agentes produtores de toxina, a multiplicação dos mesmos e a subsequente produção de toxina *in vivo*, no intestino ou em feridas das vítimas, recebendo respectivamente a denominação de botulismo intestinal e botulismo por feridas. Quanto aos sintomas às três formas apresentam como quadro clínico, sintomas relacionados a distúrbios neuromusculares, sem qualquer sinal de distúrbio centrais, permanecendo o paciente consciente durante a evolução da doença. No caso de botulismo alimentar e intestinal distúrbios gastrointestinais também são observados.

3.1.2.1 *Modos de Transmissão*

- Botulismo alimentar: Ocorre após consumo de alimentos onde a toxina foi previamente sintetizada, na maioria dos casos produtos mal conservados ou produzidos de maneira inadequada. Raramente produtos industrializados estão envolvidos nesse tipo de intoxicação, onde os alimentos geralmente envolvidos são: Conservas caseiras (ex: Palmito), produtos cárneos cozidos, curados e defumados de forma artesanal (carne conservada em gordura, salsicha, linguiça) e pescados defumados, salgados e fermentados; queijos e pasta de queijos (BRASIL, 2002). Vale ressaltar que na maioria das vezes não há qualquer alteração visível no alimento, permanecendo inalterado o odor, o sabor, e a textura, bem como as latas, que nem sempre se apresentam estufadas (JAY, 2005 *apud* CERESER, 2008).
- Botulismo intestinal: Se dá a partir da ingestão de esporos e posterior germinação dos mesmos, com conseqüente produção e absorção de toxina no trato intestinal. A ausência de microbiota é determinante nesse tipo de botulismo, que na maioria das vezes acomete crianças com idade inferior a um ano, sendo anteriormente denominado botulismo infantil. Em adultos, são descritos alguns fatores predisponentes como cirurgias intestinais, doença de Crohn e/ou uso de antibióticos por tempo prolongado, que levaria a alteração da microbiota intestinal (BRASIL, 2002). No caso de botulismo intestinal em crianças menores de um ano um dos alimentos mais citados como possível veiculador dos esporos é o mel (LEANDRO, 2007).
- Botulismo por feridas: Considerado um dos tipos mais raros da doença, se dá após contaminação de ferimentos por esporos de *Clostridium botulinum*, onde estes em condições anaeróbicas se multiplicam e produzem toxina. As principais portas de entrada, para os esporos são úlceras crônicas com tecido necrótico, fissuras,

esmagamento de membros e ferimentos em áreas profundas mal vascularizadas. Admite-se contaminação por agulhas em usuários de drogas injetáveis e lesões nasais em usuários de drogas inalatórias (BRASIL, 2002).

Apesar da excreção de esporos das bactérias por semanas ou meses, no caso de botulismo intestinal, não há qualquer relato de transmissão interpessoal. Outras formas, apesar de raras são descritas, tais como: botulismo acidental associado ao uso terapêutico ou estético da toxina botulínica e a manipulação de material contaminado, em laboratório (via inalatória ou contato com a conjuntiva) (BRASIL, 2002).

O período de incubação, a depender do modo de transmissão e do tipo de toxina, varia de 2 horas a 21 dias. No caso de botulismo intestinal esse tempo não pode ser preciso, devido à impossibilidade de se determinar o momento de ingestão de esporos (BRASIL, 2002).

Ainda não se tem conhecimento da quantidade de toxina que provocaria doença ou levaria a morte (LEANDRO, 2007), todavia, estudos com primatas sugerem que a dose letal para humanos seria de 0.7-0.9 μ g (0,001 μ g/kg) na forma inalada (SPOSITO, 2009) e 70 μ g por via oral (CERESER et al, 2008). No caso de botulismo alimentar acredita-se que a quantidade de toxina absorvida fique em torno de 1% da quantidade ingerida (LEANDRO, 2007).

Ao ser absorvida a toxina segue por via hematogênica até chegar à membrana do terminal pré-sináptico da junção neuromuscular onde atua e inibe a contração muscular, gerando o principal sintoma da doença: a paralisia flácida simétrica e descendente (BRASIL, 2002). À medida que o quadro vai progredindo são observados sintomas tais como: boca seca, diplopia, ptose palpebral uni ou bilateral, disfagia, disartria, em quadros clínicos mais avançados a flacidez muscular afeta os músculos do tronco e dos membros podendo gerar dispnéia e insuficiência respiratória levando o paciente a morte (BRASIL, 2002). Por não ultrapassar a barreira hematoencefálica, não atingido, portanto, o sistema nervo central, o paciente se mantém consciente durante toda a evolução da doença (CERESER et al, 2008)

O diagnóstico laboratorial do botulismo é de extrema dificuldade, uma vez que apenas 13 % a 28% das amostras de sangue se mostram positivas e apenas 36% das coproculturas, sendo assim, seu o diagnóstico é praticamente baseado na anamnese, tendo esta bastante importância, visto que o tratamento com antitoxina só tem sucesso se a toxina não houver se ligado ao terminal pré-sináptico (ALMASQUÉ, 1998). O tratamento de suporte

consiste na internação do paciente em uma unidade de terapia intensiva (UTI), onde serão monitoradas suas funções cardiorrespiratórias (BRASIL, 2002).

3.2 BOTULISMO ANIMAL

O botulismo não se restringe apenas a espécie humana, outras espécies animais também são acometidas pela doença, tais como bovinos, equinos e aves. O mesmo é considerado importante causa de mortalidade bovina nos países do hemisfério sul (DÖBEREINER, 2004). As manifestações clínicas da doença nesses animais são similares as que ocorrem nos humanos: paralisia flácida decorrente da ação da toxina sobre o sistema nervoso periférico. No entanto, as toxinas responsáveis pela doença nos bovinos são C1 e D (DÖBEREINER, 2004).

Conhecida como doença da vaca caída à enfermidade é tida como uma das principais causas de mortalidade em rebanhos de corte e leite. Os animais adquirem a intoxicação após consumo de matéria orgânica vegetal e/ou restos de animais, contaminados (DÖBEREINER, 2004). Armazenamento inadequado da alimentação (milho, silagem, feno, ração), já foi descrito como veiculador da doença (COSTA, 2008), além de utilização de cama de frango para alimentação animal (DUTRA et al, 2005). O ato da osteofagia por deficiências nutricionais de fósforo levaria os animais a se contaminarem, uma vez que o micro-organismo é habitante normal da microbiota desses (DÖBEREINER, 2004). A veiculação hídrica também já esteve relacionada a surtos de botulismo em animais (DUTRA, 2001).

Os principais sintomas observados nos animais são: dificuldade de locomoção, como mostra a figura 10, diminuição do tônus da musculatura da língua e cauda. Com a evolução da doença o animal encontra-se em decúbito esternal e assim como em humanos, morrem por insuficiência respiratória (DUTRA et al, 2005).



Figura 11: Animal com botulismo apresentando dificuldade de locomoção.

<http://saude.culturamix.com/blog/wp-content/uploads/2012/03/sintomas-do-botulismo.jpg>

Considerado raro em humanos, o botulismo ganha destaque na pecuária por representar uma das principais causas de mortalidade animal, acarretando grande prejuízo para a economia nacional (estima-se que em um ano o prejuízo fique em torno de 10 milhões e 500 mil reais, segundo o site da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária- Embrapa) uma vez que o Brasil é um dos principais exportadores mundiais de carne. Entre 1985 e 1999, nas regiões Centro-Oeste e Sudeste, há uma estimativa de que seis milhões de animais morreram acometidos pela doença (DÖBEREINER, 2004). Isso revela que medidas preventivas devem ser tomadas pelos criadores a fim de minimizar os riscos de uma possível contaminação, uma vez que, apesar de existir, a vacinação não seria economicamente rentável.

Em 25/11/2004 saiu uma nota no site da Embrapa divulgando o lançamento de um medicamento produzindo no Brasil pela empresa Vencofarma, contra o botulismo: o soro Botulin C-D, destinado a tratar animais que já se encontram doentes com custo de R\$ 12,00 a dose, suficiente para um animal.

4 TRATAMENTO

Essa monografia se inicia com uma citação de MATURANA (2001) que resume todo o histórico das toxinas botulínicas no ramo médico. As pesquisas iniciais tinham como finalidade promover seu uso como arma biológica, porém as mesmas levaram às primeiras pesquisas dessa toxina como agente terapêutico.

Dr. Alan B. Scott é o primeiro a utilizar a toxina do tipo A com finalidade terapêutica, todavia, desde os estudos feitos por Justinus Kerner já se especulava essa possibilidade, sendo este o primeiro a propor o uso da toxina para essa finalidade (SPOSITO, 2004; BACHUR et al, 2009).

Nos primeiros estudos do Dr. Alan B. Scott a toxina do tipo A foi utilizada para tratamento do estrabismo Nas décadas seguintes a toxina do sorotipo A, é usada também no tratamento de hiperfunção muscular sendo posteriormente usada para tratamento de hipersecreção e até mesmo dor (ERBGUTH, 2008). Hoje é usada, inclusive, em medicina estética.

Segue abaixo uma tabela com todas as possíveis utilizações da BoNT/A:

Distonias	Outros movimentos	Contração muscular inapropriada	Outras aplicações
Blefaroespasmos	Espasmo hemifacial	Espasticidade (AVC, paralisia cerebral, trauma craniano, esclerose múltipla)	Cosmética: rugas, linhas platismais, assimetrias, remodelamento de contornos.
Distonia oromandibular, facial e lingual	Tremor de membros, cabeça, voz e queixo	Síndrome temporomandibular	Hiperlacrimação Ptose protetiva.
Distonia cervical	Mioclonia palatal	Estrabismo, nistagmo	Sialorréia
Distonia laríngea	Tics motores e vocais	Bruxismo	Hiperidrose
Distonia de membros	Nistagmo e osciloscopia	Rigidez dolorosa	Salivação gustatória
Distonias ocupacionais		Dor de cabeça tensional	Fissura anal Obesidade
		Espasmos lombares e lombosacrais	Cotovelo do tenista e lesões do esporte

Outras distonias focais e segmentares (primárias ou secundárias)		Radiculopatia decorrente de espasmo muscular	Constipação Rinorréia
--	--	--	-----------------------

Quadro 3: Relação de doenças que podem receber tratamento com BoNTs.

Fonte: SPOSITO, 2009.

Sendo assim, apesar das principais indicações terapêuticas da toxina estarem relacionadas a distúrbios do movimento e tônus muscular, sua utilização vem se expandindo cada vez mais, mostrando-se eficaz no tratamento de anomalias do sistema nervoso autônomo: como hiperatividade da musculatura lisa, além de ação sobre glândulas (sudoríparas, salivares e lacrimais); apresentando também ação antinociceptiva (SPOSITO, 2009).

SPOSITO (2009) defende o uso da toxina botulínica do tipo A, como um recurso terapêutico eficaz, seguro e consistente, tendo como fundamento para tal afirmação as evidências clínicas observadas, afirmando que esta afeta de forma significativa a qualidade de vida dos pacientes tratados, por favorecer os objetivos de tratamento e reabilitação de diferentes patologias.

Apesar de considerada segura, a administração de toxinas botulínicas deve ser feitas por profissionais habilitados que tenham total conhecimento da anatomia do local a ser tratado, além de domínio sobre a técnica do uso da substância usada, uma vez que se trata de uma substância potencialmente ativa (SPOSITO, 2009).

Doses da toxina variam de acordo com a doença a ser tratada, bem como o tempo entre uma aplicação e outra, devendo também, serem levados em conta, a fim de se evitar a possível formação de anticorpos neutralizantes, que inviabilizariam o tratamento (SPOSITO, 2009; COLHADO, BOEING E ORTEGA, 2009). Estudos indicam que a formação de anticorpos acontece quando as doses são superiores a 400 UI ou 100 UI em um intervalo inferior a um mês entre as aplicações (SPOSITO, 2009).

As diluições ideais para cada doença não foram estabelecidas até o momento, sabe-se, no entanto, que são importantes quando se fala em dispersão da toxina para áreas adjacentes às áreas tratadas, onde uma diluição aumentada aumentaria o raio de dispersão da toxina, tendo impacto tanto nos efeitos terapêuticos quanto na apresentação de reações adversas (SPOSITO, 2009).

Os efeitos do tratamento com toxina botulínica começam entre o segundo e quinto dia, tendo duração entre três e seis meses, quando há formação de brotamentos axonais, como

mostra a figura 11, que restabelecem a função da junção neuromuscular. Após o quarto mês o terminal original recupera totalmente sua função, os brotamentos regredem e este volta a sua forma original (COLHADO, BOEING E ORTEGA, 2009). A duração dos efeitos terapêuticos também estará relacionada com o tipo de toxina administrada (BACHUR et al, 2009).

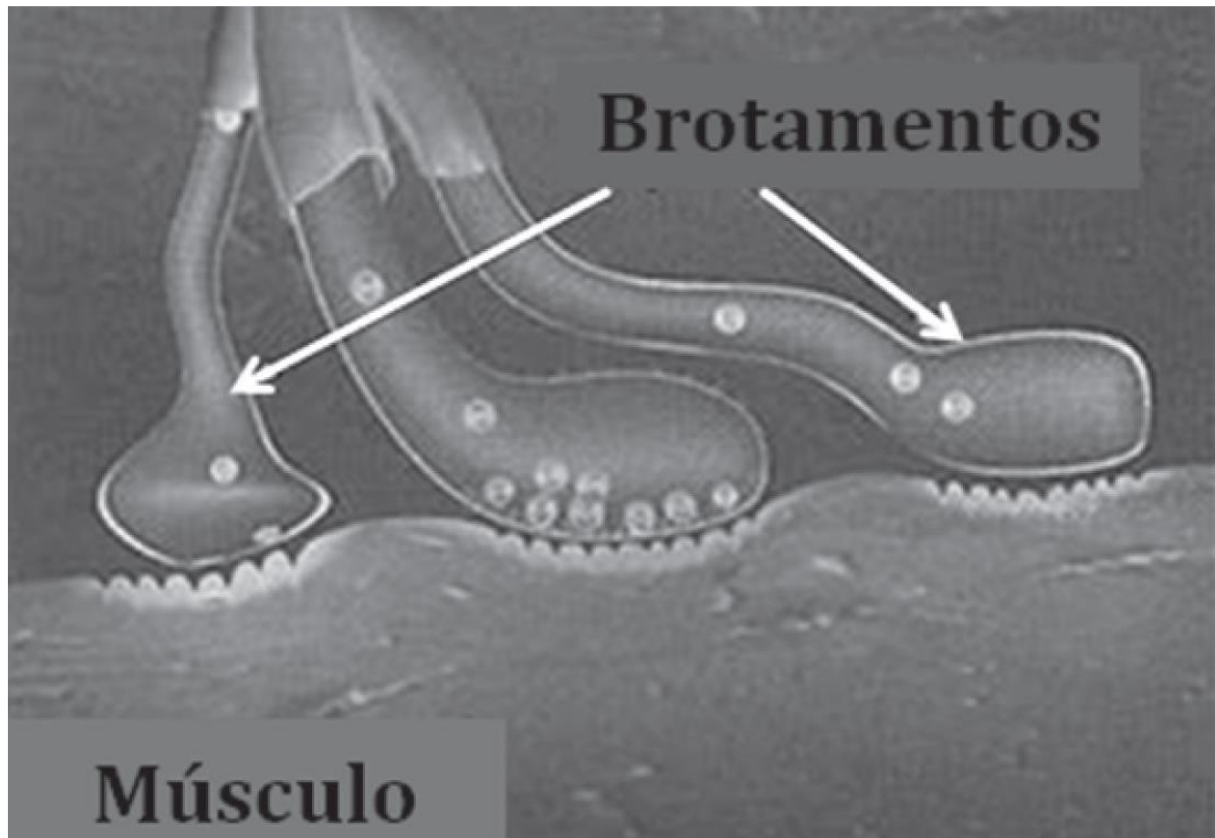


Figura 12: Brotamentos axonais restabelecendo a junção neuromuscular.

Fonte: SPOSITO, 2009

A toxina do tipo A por ser o mais potente e apresentar maior duração de efeitos, além de ser o primeiro tipo de toxina a ser purificado, é comercializado clinicamente pelos Estados Unidos (SPOSITO, 2004) com o nome BOTOX®, sendo este o nome mais conhecido aqui no Brasil, mas não o único nome comercial da toxina que também é fabricada em outros países. Na Europa, por exemplo, recebe o nome de DYSPORT®. O sorotipo B também já foi purificado e já vem sendo utilizado na terapêutica, recebendo nomes diferentes também na Europa e EUA: NEUROBLOC e MYOBLOC, respectivamente. Na Índia a toxina do tipo A também é fabricada e recebe o nome de BTX A (BACHUR *et al*, 2009). O laboratório Cristália também já disponibilizou no mercado brasileiro uma apresentação da toxina com nome comercial PROSIGNE® (COLHADO, BOEING E ORTEGA, 2009).

Em poucos mais de vinte anos as toxinas botulínicas vem sendo usada no tratamento de uma variedade de patologias (COLHADO, BOEING E ORTEGA, 2009) e esse numero de aplicações só tende a aumentar, uma vez que novas indicações para seu uso são realizadas a cada dia, em decorrência da infinidade de estudos feitos. Além dos estudos que exploram sua ação medico/terapêutica, há na literatura estudos que visam, por exemplo, o uso de fragmentos da toxina, tais como sua cadeia pesada, que tem a capacidade de transportar cadeias polipeptídicas através das membranas para o meio intracelular, podendo ser útil ao fazer fármacos chegarem aos seus alvos celulares (SPOSITO, 2009).

5 CONCLUSÃO

Foi possível concluir com este estudo que concomitantemente com os problemas que as toxinas botulínicas pode ocasionar aos seres humanos e aos animais, seu uso terapêutico também tem sido pesquisado com grande potencial e excelentes resultados, mostrando a dualidade que pode existir numa mesma substância, dependendo do objetivo de sua utilização.

REFERÊNCIAS

- ALMASQUÉ, I.. **Relembrar o botulismo**. *Medicina interna*, vol. 5 n° 1, 1998.
- BACHUR, T. P R; RODRIGUES, T. P.; PASCHOALETTE, T.; VERÍSSIMO, D. M.; SOUZA, M. M. C.; VASCONCELOS, S. M. M.; Souza, F. C. F. **Toxina botulínica: de veneno a tratamento**. *Revista Eletrônica Pesquisa Médica (Online)*, v. 3, p. 9-19, 2009.
- BRASIL. Ministério da saúde/ Secretaria de vigilância em saúde. **Manual integrado de vigilância epidemiológica do botulismo**. 1° edição, p.1- 88, Brasília, 2006.
- CAMARGO, E. A.. **Usos terapêuticos da toxina botulínica tipo A**. *RBM. Revista Brasileira de Medicina* (Rio de Janeiro), São Paulo, v. 58, n.10, p. 766-73, 2001.

- COSTA, G. M; SALVADOR, S. C; PEREIRA, M. N. **Botulismo em bovinos leiteiros no Sul de Minas Gerais, Brasil.** *Ciência Rural*, v.38, n.7, out, 2008.
- CERESER, N. D.; COSTA, F. M. R. ; ROSSI JÚNIOR, O. D.; SILVA, D. A. R.; SPEROTTO, V. R.. **Botulismo de origem alimentar.** *Ciência Rural (UFSC. Impresso)*, v. 38, p. 280-287, 2008.
- DÖBEREINER, Jürgen; DUTRA, Everaldo. **O botulismo dos bovinos e o seu controle.** Seropédica- RJ, Dezembro, 2004.
- DRESSLER, D.; SABERI, F. A.; BARBOSA, E. R. Botulinum toxin: mechanisms of action. *Arq. Neuropsiquiat*, 63(1):180-185, 2005.
- DUTRA, I. S; DÖBEREINER, J; SOUZA, A. M. **Botulismo em bovinos de corte e leite alimentados com cama de frango.** *Pesq. Vet. Bras.* 25(2):115-119, abr./jun. 2005.
- _____. **Surtos de botulismo em bovinos no Brasil associados à ingestão de água contaminada.** *Pesq. Vet. Bras.* 21(2):43-48, abr./jun. 2001.
- ERBGUTH, F. J. **From poison to remedy: the chequered history of botulinum toxin.** *Journal of Neural Transmission.* Volume 115, Issue 4, pp 559-565, 2008.
- GOMES, M. J. P. **Gênero *Clostridium* spp.** FAVET-UFRGS, 2013.
- JUNQUEIRA, V. C. A; SERRANO, A. M. ***Clostridium botulinum*: cronologia das descobertas, caracterização, manifestações clínicas, diagnóstico e controle.** *Colet. ITAL*, 24(1): 29-39, Campinas- SP, jan/ jun. 1994.
- LEANDRO, V. M. **Botulismo infantil e a importância do mel como fonte de infecção.** São Paulo, 2007.
- LENDERMANN, W.D. **Historia del *Clostridium botulinum*.** *Rev. Chilena infectologia* edição de aniversário. p. 39-41, 2003.

LENT, R.. **Cem bilhões de neurônios: conceitos fundamentais de neurociência.** São Paulo. ED. Atheneu, 2005.

LOBATO, F.C.F; SALVARANI, F.M; ASSIS, R.A.. **Clostridioses dos pequenos ruminantes.** *Rev. Portuguesa de ciências veterinárias.* 102 (561-562) 23-34, 2007.

_____. **Botulismo em ruminantes causado pela ingestão de cama-de-frango.** *Ciência Rural*, Santa Maria, v.38, n.4, p.1176-1178, jul, 2008

MATURANA, C. S.. **Usos terapêuticos da toxina botulínica tipo A.** *RBM. Revista Brasileira de Medicina.* 58 (10): 766- 773, out. 2001.

MONTECUCCO, C; SCHIAVO, G. **Mechanism of action of tetanus and botulinum neurotoxins.** *Molecular Microbiology*, 13(1), 1-8, 1994.

PARRILLI, C. C.. ***Clostridium botulinum* em alimentos.** 2008. 41 f. Monografia (10) - Curso de Medicina Veterinária, *Departamento de Medicina Veterinária, Faculdades Metropolitanas Unidas*, São Paulo, 2008.

PELLIZZARI, R.; ROSSETTO, O.; SCHIAVO, G.; MONTECUCCO, C.. **Tetanus and botulinum neurotoxins: mechanism of action and therapeutic uses.** *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* Fevereiro, 1999.

SPOSITO, M. M. M.. **Toxina botulínica do tipo A: mecanismo de ação.** *Acta Fisiátrica*, v. 16, p. 25-37, 2009.

_____. **Toxina botulínica tipo A - propriedades farmacológicas e uso clínico.** *Acta Fisiátr.* 11 (Supl.1), 2004.

TURTON, K; CHADDOCK, J. A; ACHARYA, K. R. **Botulinum and tetanus neurotoxin: structure, function and therapeutic utility.** *TRENDS in Biochemical Sciences.* Vol.27 No.11, Novembro 2002