

Avaliação do potencial analgésico de diferentes marcas comerciais de neurotoxina botulínica - A em modelo de dor orofacial induzida por formalina em camundongos

Aluno: Ana Claudia Gontijo Couto

Orientador: Cássia Regina da Silva

UBERLÂNDIA - MG

2022



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA

Avaliação do potencial analgésico de diferentes marcas comerciais de neurotoxina botulínica - A em modelo de dor orofacial induzida por formalina em camundongos

Aluno: Ana Claudia Gontijo Couto

Orientador: Cássia Regina da Silva

**Dissertação apresentada à
Universidade Federal de
Uberlândia como parte dos
requisitos para obtenção do
Título de Mestre em Genética e
Bioquímica**

UBERLÂNDIA - MG

2022



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

C871 Couto, Ana Claudia Gontijo, 1996-
2022 Avaliação do potencial analgésico de diferentes marcas comerciais de neurotoxina botulínica - A em modelo de dor orofacial induzida por formalina em camundongos [recurso eletrônico] / Ana Claudia Gontijo Couto. - 2022.

Orientadora: Cássia Regina da Silva.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-graduação em Genética e Bioquímica.
Modo de acesso: Internet.
Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2022.610>
Inclui bibliografia.
Inclui ilustrações.

1. Genética. I. Silva, Cássia Regina da, 1984-, (Orient.). II. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Genética e Bioquímica. III. Título.

CDU: 575

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:
Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA

Avaliação do potencial analgésico de diferentes marcas comerciais de neurotoxina botulínica - A em dor orofacial induzida por formalina em camundongos

ALUNO: Ana Claudia Gontijo Couto

COMISSÃO EXAMINADORA

Presidente: Cássia Regina da Silva

Examinadores: Juliana Trindade Clemente Napimoga
Celina Monteiro da Cruz Lotufo

Data da Defesa: 19 /12 /2022

As sugestões da Comissão Examinadora e as Normas do PGGB para o formato da Dissertação/Tese foram contempladas

Cássia Regina da Silva



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica
Av. Pará 1720, Bloco 2E, Sala 244 - Bairro Umuarama, Uberlândia-MG, CEP 38400-902
Telefone: +55 (34) 3225-8438 - www.ppggb.ibtec.ufu.br - ppggb@ufu.br



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Genética e Bioquímica				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico/PPGGB				
Data:	Dezenove de dezembro de dois mil e vinte e dois	Hora de início:	13:30h	Hora de encerramento:	14:00h
Matrícula do Discente:	12022GBI001				
Nome do Discente:	Ana Claudia Gontijo Couto				
Título do Trabalho:	Avaliação do potencial analgésico de diferentes marcas comerciais de neurotoxina botulínica - a em modelo de dor orofacial induzida por formalina em camundongos.				
Área de concentração:	Bioquímica				
Linha de pesquisa:	Biologia Molecular e Celular				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Investigação do possível efeito analgésico de diferentes marcas comerciais de neurotoxinas botulínicas.				

Aos dezenove dias do mês de dezembro de dois mil e vinte e dois, às 13:30 horas, reuniu-se via web conferência pela plataforma Cisco Webex, em conformidade com a Portaria nº 36, de 19 de março de 2020 da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES e Resolução de nº 06/2020 do Conselho de Pesquisa e Pós-graduação pela Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Genética e Bioquímica, assim composta: Professores Doutores: Cássia Regina da Silva (Orientador), Juliana Trindade Clemente Napimoga e Celina Monteiro da Cruz Lotufo. A participação dos dois últimos se deu por epístola. Iniciando os trabalhos o (a) presidente Dr (a). Cássia Regina da Silva apresentou a Comissão Examinadora e o candidato(a), agradeceu a presença dos participantes, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa. A seguir o senhor (a) presidente procedeu a leitura das epístolas enviadas pelos membros da banca. Em seguida os membros presentes, passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a leitura das epístolas e a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

(A) PROVADO.

Esta defesa de Dissertação de Mestrado é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre. O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU. Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Juliana Trindade Clemente Napimoga, Usuário Externo**, em 19/12/2022, às 20:35, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Celina Monteiro da Cruz Lotufo, Professor(a) do Magistério Superior**, em 20/12/2022, às 08:57, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Cassia Regina da Silva, Professor(a) do Magistério Superior**, em 26/12/2022, às 16:11, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4083414** e o código CRC **A2F50E94**.

DEDICATÓRIA

“It's the questions we can't answer that teach us the most. They teach us how to think. If you give a man an answer, all he gains is a little fact. But give him a question and he'll look for his own answers.”

Patrick Rothfuss, *The Wise Man's Fear*

Dedico esse trabalho à minha família e ao meu marido, sem eles nada seria possível. Também a todos os professores que contribuíram e incentivaram para que eu andasse até aqui. A todos os pesquisadores que lutam diariamente para manterem suas pesquisas.

AGRADECIMENTOS

A minha família, que estão sempre ao meu lado me incentivando e dando força para seguir. Em especial ao meu marido, Michel, por ser meu companheiro em todo tempo.

A Professora Cássia Regina da Silva, pela orientação e pela oportunidade de sempre poder trabalhar em novos projetos.

Aos colegas do Labitox, que ao longo dos anos tive a oportunidade de conhecer e conviver, e que sempre contribuem muito para a discussão científica e troca de ideias. Em especial, a Tamara, Sofia e Thiago, que estão sempre presentes.

Ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica, à Universidade Federal de Uberlândia, pela disponibilização de recursos para a realização deste trabalho.

Ao CNPq pelo auxílio financeiro.

ÍNDICE

APRESENTAÇÃO	1
CAPÍTULO I.....	2
1. Dor.....	2
2. Dor Orofacial.....	6
3. Neurotoxina Botulínica.....	12
3.1 Formulações comerciais de Neurotoxina Botulínica e suas diferenças	16
4. Referências	24
CAPÍTULO II.....	34

APRESENTAÇÃO

Vários estudos são feitos utilizando a neurotoxina botulínica – A como tratamento para diferentes condições dolorosas, porém poucos se dedicam a comparar se há diferenças entre os efeitos que as diferentes formulações de neurotoxina botulínica – A apresentam. Sabe-se que na prática clínica muitas vezes a diferença entre essas formulações é desconsiderada, o que pode resultar em tratamentos menos eficazes, e ainda levar ao aparecimento de efeitos colaterais.

A compreensão dos efeitos de cada produto de neurotoxina botulínica – A é de grande importância, pois permite que a escolha entre as diferentes opções comerciais de neurotoxina botulínica seja feita de forma mais consciente, apresentando melhores resultados do tratamento.

Estudos que comparam os efeitos das diferentes formulações disponíveis de neurotoxina botulínica – A em modelos animais de dor orofacial ainda são escassos. Sendo assim, buscamos nesse trabalho avaliar o efeito analgésico das principais formulações de neurotoxina em um modelo de dor orofacial aguda.

Essa dissertação foi preparada conforme as normas estabelecidas pelo Programa de Pós Graduação em Genética e Bioquímica da Universidade Federal de Uberlândia. A dissertação é composta pelo capítulo 1 e 2.

O capítulo 1 traz a fundamentação teórica, apresentada por uma revisão bibliográfica que aborda os temas de dor e emprego da neurotoxina como tratamento para condições dolorosas.

O capítulo 2 é composto pelo artigo resultante da pesquisa. O artigo já foi publicado em 2021 na revista *Toxicon:X*, que possui fator de impacto de 3,03.

CAPÍTULO I

1. Dor

Recentemente, a Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP) revisou o conceito de dor. Segundo o órgão, a dor é definida como uma experiência sensorial e emocional aversiva tipicamente causada, ou, semelhante a causada por um dano tecidual real ou potencial. O documento publicado pela IASP também traz notas que tratam da relevância da dor nos fatores psicológicos, biológicos e sociais, além da importância do acolhimento das pessoas que sofrem com a dor (RAJA et al., 2020).

A dor pode ser classificada de acordo com diversos parâmetros. Vale ressaltar a classificação quanto a patofisiologia e quanto ao tempo de duração. De acordo com a patofisiologia, a dor pode ser classificada em dois principais tipos: fisiológica e patológica.

A dor fisiológica, ou nociceptiva, tem função adaptativa e protetiva, sendo responsável por evitar que ocorram danos teciduais graves. Normalmente, ela é acompanhada por comportamento reflexivo; por exemplo, ao encostar em um objeto quente, ocorre um reflexo para a retirada do membro, sem causar graves danos ao tecido (STEIN, 2016). O estímulo danoso ativa os nociceptores, atuando em receptores e canais iônicos e promovendo potenciais de ação que são processados pelo sistema nervoso central para identificar a dor (Figura 1.A) (BASBAUM,2009).

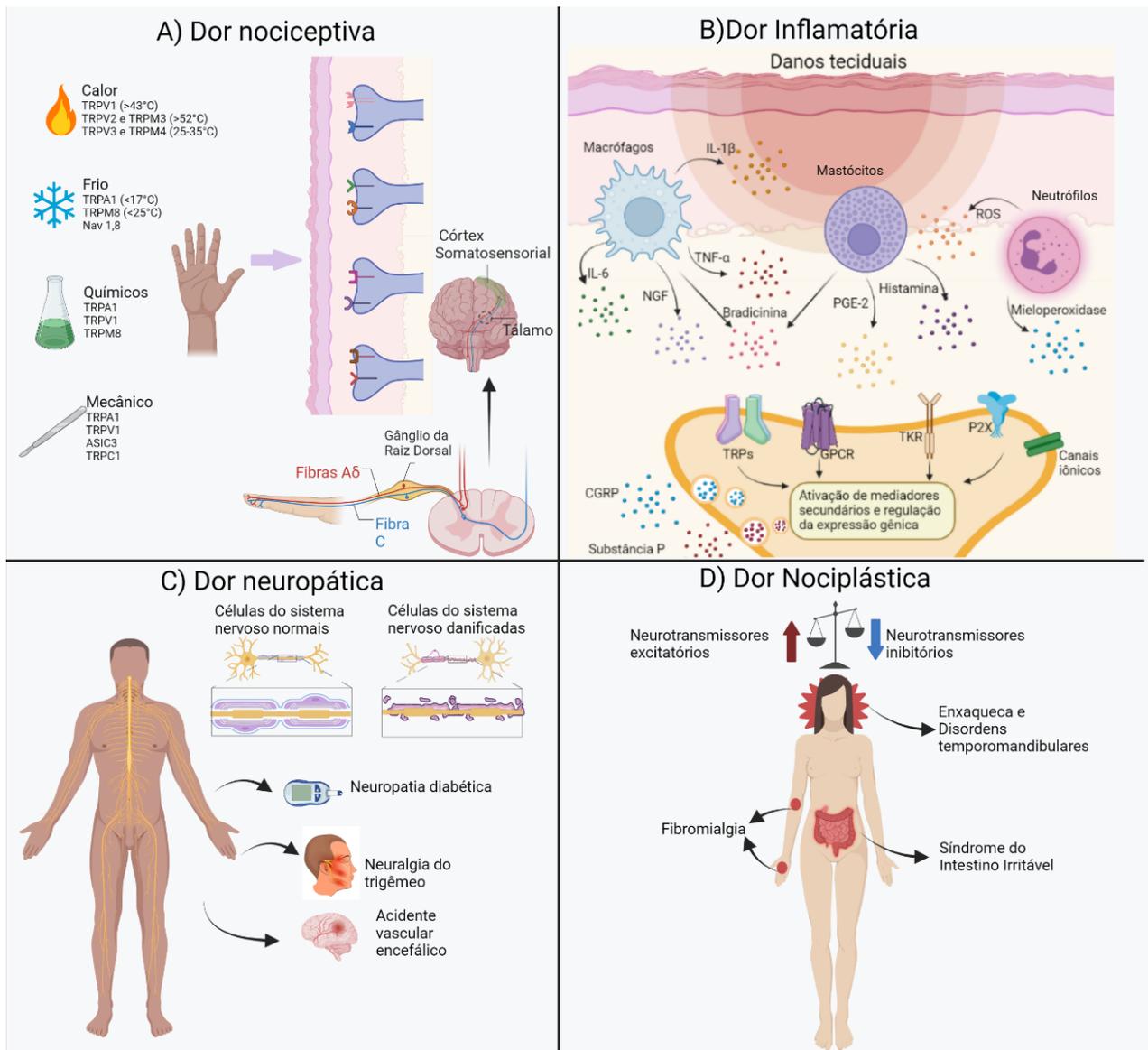


Figura 1 Classificação dos tipos de dor quanto a patofisiologia. A) Dor nociceptiva: estímulos agressivos, como calor e frio extremo, ativam receptores específicos encontrados nos terminais de nociceptores. B) Dor inflamatória: danos teciduais resultam na liberação de mediadores inflamatórios por células do sistema imune, neurônios, epitélio e plaquetas. Os mediadores se ligam aos seus receptores como TRPs (receptores de potencial transitório), GPCR (receptores acoplados à proteína G), TKR (receptores tirosina quinase), P2X (receptores purinérgicos) e canais iônicos. C) Dor neuropática: ocorre devido a lesões ou disfunções do sistema nervoso. É um tipo de dor mal adaptativa e persistente, e que pode ocorrer de forma espontânea. D) Dor nociplástica: é um tipo de dor crônica que ocorre sem que sejam detectados danos ao sistema nervoso ou processos inflamatórios. Pode ocorrer em diversos níveis das vias de processamento da dor, e é decorrente de uma disfunção entre os neurotransmissores inibitórios e excitatórios. Imagem feita utilizando os recursos disponíveis no Biorender.com

A dor patológica pode ser considerada resultante do funcionamento anormal do organismo, e é dividida em três tipos: inflamatória, neuropática e nociplástica.

A dor inflamatória é caracterizada pela ativação do sistema imune por um dano tecidual ou infecção. Os danos teciduais promovem a liberação de mediadores inflamatórios pelas células presentes no local da inflamação (SCHOLZ; WOOLF, 2002). Mediadores como fator de crescimento nervoso (NGF), interleucinas 6 e 1 β (IL-6 e IL-1 β), fator de necrose tumoral α (TNF- α) e bradicinina podem ser liberados por macrófagos e neutrófilos, que podem, ainda, liberar espécies reativas de oxigênio. Já os mastócitos podem liberar histamina, prostaglandina E2 (PGE2) e bradicinina. As células neuronais também contribuem para a inflamação liberando substância P (SP) e o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP). Esses mediadores inflamatórios agem em receptores como os Receptores Acoplados à Proteína G (GPCR), Receptores de Potencial Transitório (TRPs), Receptores de Tirosina Quinase (TRK), Receptores Purinérgicos (P2x) e canais iônicos (Figura 1.B) (BASBAUM, 2009). A ativação desses receptores é importante para a proteção do tecido danificado, porém a manutenção da inflamação pode contribuir para a instauração de dor crônica (MACINTYRE et al., 2010AC).

Segundo a IASP, a dor neuropática é definida como a dor causada por lesão ou alterações no sistema somatossensorial (Figura 1.C). A dor neuropática pode se estabelecer após lesões nervosas causadas por procedimentos cirúrgicos, infecções virais e por condições que afetam o sistema nervoso, como AVC ou diabetes. Pessoas que sofrem com dores neuropáticas podem ter a ocorrência de dor espontânea, ou seja, sentir dor sem que nenhum estímulo nocivo tenha sido feito. Também podem sofrer com alodinia, onde estímulos de baixa intensidade, como um toque, passam a desencadear dor, e sofrer com hiperalgesia, que é caracterizada pelo aumento do sentimento de dor à estímulos dolorosos (ANWAR, 2016; ORR; SHANK; BLACK, 2017; WOOLF, 2010).

A definição de dor nociplástica foi proposta para incorporar as dores crônicas que não possuem características neuropáticas ou inflamatórias. Em 2016, esse termo foi cunhado como um descritor para dores crônicas que não são caracterizadas pela ativação de nociceptores ou por neuropatias, mas, sim, por anormalidades no sistema nociceptivo. O processo mais comum envolvido na dor

nociplástica é associado com o aumento do processamento da dor, ou com a diminuição da inibição das vias da dor. Dentre as dores nociplásticas, as mais comuns são desordens crônicas da articulação temporomandibular (10 - 15%), síndrome do intestino irritável (5 - 10%) e fibromialgia (2 - 4%) (Figura 1.C) (FITZCHARLES et al., 2021).

Quanto ao tempo de duração, a dor pode ser classificada em aguda e crônica. A dor aguda é uma resposta fisiológica normal a estímulos aversivos, e normalmente aparece acompanhando procedimentos cirúrgicos, lesões teciduais e processos inflamatórios, tendo em geral uma resolução espontânea, desaparecendo em alguns dias ou semanas. Vale ressaltar que a ocorrência de dor após danos teciduais é um evento normal. Já a dor crônica tem duração mínima de três meses, e pode ocorrer de forma espontânea, prejudicando à qualidade de vida do indivíduo (CHOUDHURY et al., 2021; ORR; SHANK; BLACK, 2017).

Dentre os diversos tipos de dor que podem acometer um indivíduo, as dores orofaciais são de grande relevância, pois são uma das principais causas de dor crônica na população, ficando atrás somente das dores nas costas, pescoço e joelho (BREIVIK et al., 2006).

A dor orofacial é definida como a dor que acomete os tecidos moles e mineralizados da cabeça, pescoço e cavidade oral. Assim como os demais tipos de dor, as dores orofaciais também podem ser classificadas como aguda e crônica. As dores orofaciais agudas também afetam os indivíduos por um curto período de tempo e, normalmente, são associadas a problemas dentários. Devido a características únicas, para definir a dor orofacial como crônica é necessário que os episódios de dor ocorram por três meses e que tenham duração de 4 horas, por um período mínimo de 15 dias. Com essa definição, é possível excluir dores de curta duração que ocorrem frequentemente na face e na cabeça e que não são crônicas (ANANTHAN; BENOLIEL, 2020; BENOLIEL; PERTES; ELIAV, 2009).

A prevalência da dor orofacial na população é de 25%; 10% desses casos são de dor orofacial crônica (MACFARLANE et al., 2002; MCMILLAN et al., 2006). As condições orofaciais podem ter origem musculoesquelética, vascular, neurovascular, neuropática, idiopática ou psicogênica. As dores crônicas estão, majoritariamente, relacionadas a desordens musculoesqueléticas e desordens da articulação temporomandibular, que podem englobar disfunções dos músculos

mastigatórios, na articulação temporomandibular e nas estruturas associadas (SARLANI; BALCIUNAS; GRACE, 2005; SHAEFER; KHAWAJA; BAVIA, 2018). As dores orofaciais causam um grande impacto negativo na vida dos indivíduos afetados.

2. Dor Orofacial

Vale ressaltar as diferenças entre dor e nocicepção. Como previamente descrito, a dor é uma experiência subjetiva associada com a percepção de um estímulo que pode ser considerado doloroso, enquanto a nocicepção é a ativação de fibras neuronais periféricas por estímulos térmicos, mecânicos ou químicos (BASBAUM et al., 2009).

O processo de percepção da dor começa na periferia do organismo, onde os estímulos são recebidos por fibras aferentes primárias. Existem três tipos de fibras diferentes, que são classificados quanto à velocidade de condução do estímulo e quanto ao estímulo que originou a ativação da fibra. As fibras A β são altamente mielinizadas, o que torna a velocidade de condução do estímulo mais rápida (20 – 70 m/s), e possuem baixo limiar de ativação, ou seja, normalmente são ativadas por estímulos inócuos, como toque e outros estímulos táteis. As fibras A δ são levemente mielinizadas, possuindo menor velocidade de condução dos estímulos (12-30 m/s), o limiar de ativação é maior e essas fibras são responsivas a estímulos nocivos. O terceiro tipo, as fibras do tipo C, são desmielinizadas e apresentam baixa velocidade de condução de estímulo (0,5 – 2 m/s), além de serem responsivas a estímulos nocivos. Como a velocidade de condução de estímulo das fibras A δ é maior que a velocidade das fibras C, as fibras A δ são associadas à percepção da “primeira dor (dor rápida)”, enquanto as fibras C são associadas à percepção da “segunda dor (dor lenta)”. As fibras A δ e C são denominadas nociceptores, ou “fibras da dor”, pois são as responsáveis pela nocicepção. Tanto as fibras A δ quanto as C são encontradas na pele e em outros órgãos superficiais; as fibras C são as fibras principais a inervar os músculos e articulações (BASBAUM et al., 2009; JULIUS; BASBAUM, 2001; LEE; NEUMEISTER, 2020).

Os nociceptores são neurônios classificados como pseudo-unipolares. Isso significa que esses neurônios possuem um único axônio que se ramifica formando

um ramo periférico e um ramo central. O corpo celular dos neurônios que formam as fibras nervosas fica nos gânglios. Os gânglios da raiz dorsal (DRG) são formados pelo corpo celular de neurônios que inervam a pele, articulação, ossos e a medula espinhal; o gânglio trigeminal (TNG) possui o corpo celular de neurônios que inervam a face e o tronco encefálico, e o gânglio nodoso recebe os nociceptores que inerva os órgãos abdominais e torácicos (BASBAUM et al., 2009).

Para o estudo das dores orofaciais, o sistema trigeminal é o de maior relevância, uma vez que a maior parte da região orofacial é inervada pelo nervo trigêmeo (Figura 2. A). O nervo trigêmeo é o maior entre os nervos craniais, e recebe esse nome por ser dividido em três ramos periféricos: V1 – ramo oftálmico, V2 – ramo maxilar e V3 – ramo mandibular. O ramo oftálmico está presente em parte da meninge, a córnea, o nariz e a mucosa intranasal, e a pálpebra superior. O ramo maxilar inerva a pele infraorbital, o lábio superior, a porção lateral do nariz, a mucosa maxilar intraoral, e o dente maxilar. Por último, o ramo mandibular está presente na articulação temporomandibular, no lábio inferior, na mucosa intraoral mandibular, e nos dois terços anteriores da língua, o ramo mandibular, diferentemente dos outros dois ramos, possui fibras sensoriais e motoras. Os corpos celulares dos neurônios do sistema trigeminal são localizados no gânglio trigêmeo, com exceção dos corpos celulares dos neurônios responsáveis pela propriocepção, que se encontram no núcleo mesencefálico do trigêmeo (MesV) (TAL; VILLANUEVA; DEVOR, 2015; VILLANUEVA; NOSEDA, 2013).

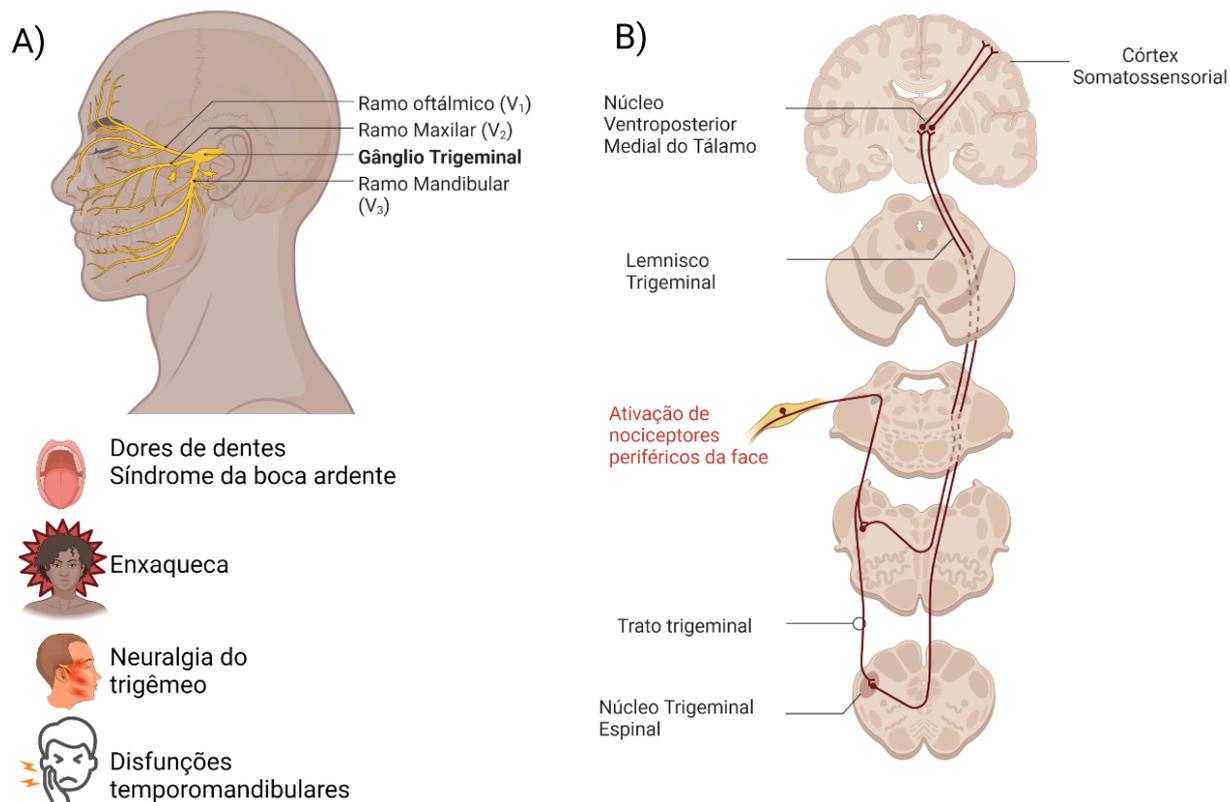


Figura 2 A) Estrutura do nervo trigêmeo. Após sair do gânglio trigêmeo, o nervo trigêmeo se divide em três ramificações: V1 - ramo oftálmico, V2 - ramo maxilar e V3 - ramo mandibular. As dores orofaciais podem acometer diversas estruturas da face. Dores de dente e a síndrome da boca ardente são disfunções que acometem a cavidade oral. A enxaqueca pode acometer toda a face e é considerada uma dor nociplástica. A neuralgia do trigêmeo ocorre devido a danos causados a uma ou mais ramificações do nervo trigêmeo, e as disfunções temporomandibulares que estão ligadas a danos que ocorrem na articulação temporomandibular. B) Via de processamento da dor orofacial. O estímulo doloroso entra no sistema nervoso central através do trato trigeminal, onde um interneurônio leva a informação do núcleo caudal ao tálamo. Do tálamo, um terceiro neurônio carrega às informações vindas da periferia até o córtex somatossensorial, onde o estímulo é processado e compreendido pelo organismo. Imagem feita utilizando os recursos disponíveis no Biorender.com

As fibras aferentes primárias entram no sistema nervoso central através do trato trigeminal, onde existem dois núcleos: núcleo primário e núcleo espinal. Algumas das terminações nervosas vindas do nervo trigêmeo dão origem a uma ramificação ascendente que chega ao núcleo principal, que, normalmente, não está envolvido em processos nociceptivos. O núcleo sensorial espinal do trigêmeo (Sp5) é dividido em três partes: núcleo caudal (Sp5C), núcleo interpolar (Sp5I) e núcleo

oral (Sp5O). O núcleo caudal (Sp5C) é a única estrutura laminada, com organização morfológica e função similar ao corno dorsal da medula, sendo responsável por receber os nociceptores aferentes. A maioria das fibras nociceptoras termina nas lâminas mais superficiais (I e II), e algumas fibras A δ terminam na lâmina V do Sp5C. No Sp5C, as fibras C e A δ fazem sinapse com neurônios de segunda ordem, que incluem neurônios nociceptivos específicos (NS) e neurônios de faixa dinâmica ampla (WDR). As células NS são majoritariamente encontradas nas lâminas I e II, porém, nessas lâminas, também é possível encontrar células WDR. A maior parte dos neurônios WDR presentes no Sp5C estão na lâmina V (CRAIG, 2003, 2004; VILLANUEVA; NOSEDA, 2013). Esses neurônios se projetam para o tálamo no núcleo ventroposterior medial, onde neurônios de terceira ordem direcionam a informação para o córtex somatossensorial. No córtex somatossensorial primário ocorre a interpretação da dor, permitindo a localização e determinação da intensidade do estímulo, no córtex somatossensorial secundário ocorre a identificação do tipo de estímulo e a percepção da dor (Figura 2. B) (VILLANUEVA; NOSEDA, 2013).

Dentre as diferentes condições orofaciais dolorosas, as mais relevantes são as disfunções da articulação temporomandibular (DTM), enxaquecas, e condições neuropáticas, como a neuralgia do trigêmeo (NTG). A Disfunção da Articulação Temporomandibular é um termo amplo que descreve um grupo de condições que afeta a articulação temporomandibular (ATM), suas estruturas e suas funções (AGGMAN-HENRIKSON et al., 2020). Em 2014, o National Institute of Health/National Institute of Dental and Craniofacial Research reportou que entre 5 e 12% da população sofre com DTM. A prevalência de casos de DTM já foi investigada na população adulta em geral, adultos entre 18 e 44 anos, e em adolescentes. A prevalência de DTM é maior entre as mulheres desde a adolescência, sendo que o número de casos entre as mulheres é o dobro em relação ao número de casos entre os homens (LÖVGREN et al., 2016). Os pacientes com DTM apresentam ainda altos níveis de catastrofização, ansiedade e depressão, além de apresentarem dificuldades para realização de atividades diárias como falar, mastigar e dormir (GIL-MART INEZ et al., 2017; REITER et al., 2018). Pacientes com DTM crônica ainda podem apresentar maiores alterações do estado mental quando expostos a situações de estresse (LOBBEZOO; VAN WIJK;

M G VAN DER HEIJDEN, 2016). Asquini et al (2021) avaliou o efeito do período de quarentena durante a pandemia de COVID-19 em pacientes previamente diagnosticados com DTM crônica e relatou que estes apresentaram maiores níveis de depressão e ansiedade, e maior severidade da dor durante o período de quarentena do que pacientes com DTM aguda (ASQUINI et al., 2021).

A enxaqueca é uma desordem neurovascular crônica que afeta cerca de 1 bilhão de pessoas ao redor do mundo, sendo mais frequente em mulheres; o pico de incidência ocorre entre 20 e 24 anos (STEWART et al., 2008; VOS et al., 2017). Pessoas que sofrem com enxaqueca têm a vida afetada em diversos níveis, dificultando a participação delas em atividades da família ou entre amigos. Estudos já mostram que entre 8 a 13% dos filhos de pais com enxaqueca tendem a ter rendimento escolar comprometido, e que cerca de 23% dos indivíduos com enxaqueca temem ficar desempregados (BUSE et al., 2018, 2019, 2020). Além disso, existe uma grande correlação entre a ocorrência de enxaqueca e o desenvolvimento de depressão e ansiedade, pois a ocorrência de depressão aumenta as chances da evolução da enxaqueca para um caso de dor crônica. Ainda é possível ressaltar que casos crônicos de enxaqueca também podem levar a ocorrência de ataques epiléticos e o desenvolvimento de obesidade (ASHINA et al., 2021; BUSE et al., 2020).

A neuralgia do trigêmeo, por sua vez, é uma síndrome de dor crônica grave caracterizada por uma breve e excruciante dor paroxística semelhante a um choque em uma ou mais divisões do nervo trigêmeo. Existem três categorias de diagnóstico da NTG que são identificadas conforme a recente classificação de desordens de cefaléia: clássica (sem nenhuma causa aparente que não seja compressão neurovascular), secundária (causada por uma desordem neurológica) e idiopática (sem causa aparente). Os ataques de dor podem ocorrer de forma espontânea, ou após algum estímulo inócuo como lavar o rosto, escovar os dentes ou falar (ARAYA et al., 2020; OLESEN, 2018). Normalmente, as mulheres são mais afetadas pela neuralgia do trigêmeo, chegando em uma proporção de 3:1 em relação aos homens. Os sintomas surgem, majoritariamente, aos 40 anos (DE TOLEDO et al., 2016). Os pacientes que sofrem com NTG apresentam dificuldades na realização de atividades diárias, evitam interações sociais, apresentam altas taxas de

catastrofização, ansiedade e depressão, o que causa redução da qualidade de vida dessas pessoas (MELEK et al., 2019; WU et al., 2015).

Existem diversos modelos que permitem o estudo das dores orofaciais agudas e crônicas (MIGUELÁÑEZ-MEDRÁN; GOICOECHEA, 2019). Os modelos de dor baseados na injeção de algum composto químico irritante já são bem descritos, e a maior vantagem de utilizá-los é a facilidade na observação do comportamento de dor e o efeito imediato causado pela injeção do irritante. Esses compostos irritantes agem diretamente ativando os nociceptores, ou induzindo inflamação no local da injeção. Entre os compostos comumente utilizados estão capsaicina, cinamaldeído, alil isotiocianato e a formalina, que é o composto mais utilizado entre os citados. O modelo de dor orofacial utilizando formalina consiste na injeção subcutânea do composto na região vibrissal. O teste já é bem descrito e é de grande relevância para os estudos da dor (CLAVELOU et al., 1995; LUCCARINI et al., 2006).

O modelo de dor induzido por formalina é caracterizado por ser bifásico, e é considerado um modelo de dor aguda. A primeira fase do modelo acontece nos primeiros cinco minutos, e ocorre devido a estimulação química e ativação de fibras A δ , A β e C, sendo que as fibras A δ e A β são mais ativadas que as fibras C. A segunda fase do modelo acontece a partir de 15 minutos após a injeção. A duração dessa fase depende da dose utilizada e das condições ambientais. A segunda fase está associada à ativação de fibras A δ e C pela inflamação iniciada após a injeção e às mudanças no processamento pelo SNC (TJØLSEN et al., 1992). A liberação de histamina e bradicinina estão associadas aos efeitos observados durante a primeira fase do modelo, enquanto a bradicinina, a histamina e a serotonina estão associadas à segunda fase (SHIBATA et al., 1989). As duas fases do modelo possuem propriedades diferentes, o que torna esse modelo interessante para o estudo de mecanismos de dor e analgesia.

Apesar da importância da dor orofacial, o tratamento para essas condições ainda é bastante difícil. As diferenças de sexo, idade e etnia podem afetar o tratamento da dor, fazendo com que o especialista precise ter diversas opções de tratamento disponíveis. O tratamento tradicional baseado em farmacoterapia engloba o uso de anti-inflamatórios não-esteroidais (AINES), relaxantes musculares, antidepressivos e antiepiléticos e, em alguns casos, pode exigir

procedimentos cirúrgicos. Apesar das opções disponíveis para o tratamento de indivíduos acometidos por dores orofaciais, muitos pacientes não sentem o alívio da dor. Entre os pacientes com NTG, apenas 30% sentem melhora dos sintomas, e muitos ainda são refratários ou resistentes aos tratamentos convencionais (ROMERO-REYES; UYANIK, 2014). Sendo assim, é necessário que novas opções terapêuticas sejam estudadas, e disponibilizadas para os pacientes. Entre elas está a neurotoxina botulínica.

3. Neurotoxina Botulínica

A neurotoxina botulínica é uma das substâncias mais letais do mundo. A primeira descrição da neurotoxina botulínica aconteceu no início século XIX, quando algumas pessoas ingeriram salsichas contaminadas com neurotoxina botulínica e, conseqüentemente, desenvolveram botulismo, doença que causa vômito, paralisia flácida, falência respiratória e, por último, morte (RAY; HUTTON; MATHARU, 2021; WHITCUP, 2021). Apesar da grande ocorrência de casos de botulismo, a neurotoxina botulínica foi isolada apenas no final do século XIX, por Emile Pierre-Marie van Ermengem. A primeira aplicação terapêutica da neurotoxina aconteceu em 1977, pelo médico Dr. Alan Scott, que injetou a toxina no músculo extraocular para tratar estrabismo. Desde então, a neurotoxina botulínica tem sido utilizada como tratamento para diversas condições clínicas.

A neurotoxina botulínica (NTBos) é uma proteína produzida pela bactéria *Clostridium botulinum*. Oito subtipos de neurotoxina já foram descritos, e suas nomenclaturas vão de A à H. A NTBos-A é mais utilizada para fins terapêuticos. A NTBos-A é produzida na forma de um complexo proteico com 900kDa, que consiste na neurotoxina botulínica (150kDa) e quatro proteínas acessórias, sendo três proteínas hemaglutininas e uma proteína hemaglutinina não tóxica (AOKI; RANOUX; WISSEL, 2006; DRESSLER; BENECKE, 2007).

As proteínas acessórias são importantes para a proteção da neurotoxina contra a degradação em ambientes ácidos, como o estômago, e também são responsáveis pela translocação da neurotoxina do epitélio intestinal para o sistema

linfático e sanguíneo (GHOSAL et al., 2018). O efeito terapêutico da neurotoxina botulínica é causado pela proteína de 150 kDa (Figura 3.).

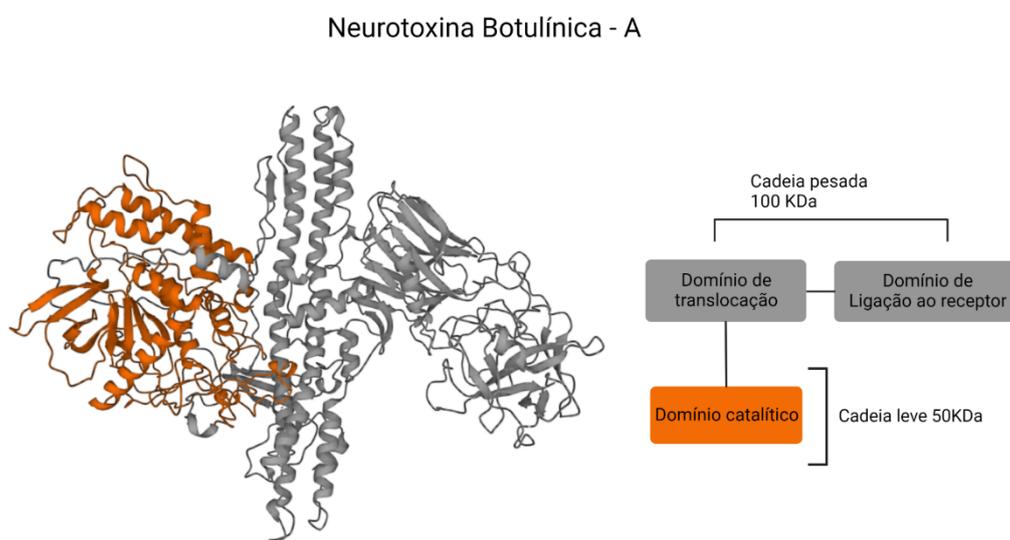


Figura 3 Estrutura da Neurotoxina Botulínica - A. A cor cinza indica a cadeia pesada da neurotoxina botulínica A, que é composta pelos domínios de ligação ao receptor e pelo domínio de translocação. A cor laranja marca a cadeia leve, que é responsável pela clivagem da proteína SNAP-25. A estrutura foi retirada do PDB e está disponível através do código 3BTA (Lacy, D., Tepp, W., Cohen, A. et al. Crystal structure of botulinum neurotoxin type A and implications for toxicity. *Nat Struct Mol Biol* 5, 898–902 (1998). <https://doi.org/10.1038/2338>)

A neurotoxina de 150 kDa apresenta estrutura típica de uma toxina A-B, formada por uma cadeia pesada (100kDa) e uma cadeia leve (50kDa) interligadas por uma ligação dissulfeto. A cadeia pesada é responsável pela endocitose da neurotoxina pelo neurônio. A extremidade C-terminal da cadeia pesada consegue interagir com os gangliosídeos e com a proteína SV2, presente nas vesículas sinápticas, que estão na membrana externa dos neurônios. A ligação aos gangliosídeos e às proteínas SV2 promove a endocitose da neurotoxina através da formação de endossomos. Durante o processo de endocitose, a cadeia leve da neurotoxina é separada da cadeia pesada pela redução da ligação dissulfeto e é translocada para o citosol (MATAK et al., 2019; MURARO et al., 2009; PIRAZZINI et al., 2017).

A cadeia leve, que possui 50 kDa, é classificada como uma metaloprotease zinco dependente e é responsável pela ação da neurotoxina. No citosol, a cadeia leve age clivando nove aminoácidos da extremidade N terminal da proteína SNAP-25 (Proteína 25 Associada a Sinaptossoma), formando a SNAP-25(1-197). A SNAP-25(1-197), interage com mais duas proteínas: a sintaxina e a VAMP2/sinaptobrevina, formando o heterotrímero SNARE disfuncional. O heterotrímero SNARE é essencial para a fusão de vesículas à membrana do neurônio pré-sináptico, promovendo a liberação do conteúdo vesicular na fenda sináptica. O complexo SNARE composto com a proteína SNAP-25(1-197) compete com o complexo SNARE normal na zona de liberação de vesículas, inibindo a liberação de neurotransmissores na fenda sináptica (BAJOHRS et al., 2004; HUANG et al., 1998) (Figura 4).

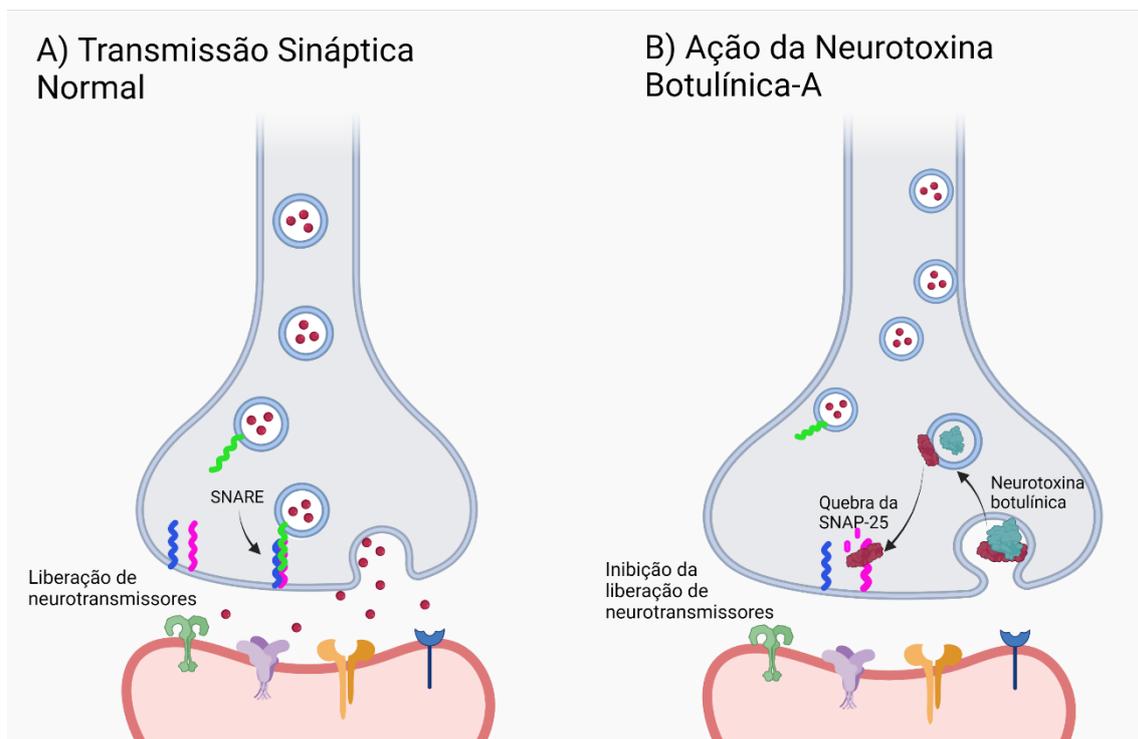


Figura 4 Mecanismo de ação da neurotoxina botulínica. A) Transmissão sináptica normal. Há a formação do heterotrímero de SNARE pela junção das proteínas SNAP-25 (rosa), Sintaxina (azul) e Sinaptobrevina (verde), promovendo a liberação dos neurotransmissores na fenda sináptica. B) Após a entrada da neurotoxina botulínica-A na célula, ocorre a separação da cadeia leve (vermelho) e cadeia pesada (verde-água). A cadeia leve age quebrando parte da proteína SNAP-25, inibindo a formação de complexos SNARES. Sem a formação dos complexos SNARES, não há a liberação de neurotransmissores pela célula. Imagem feita utilizando os recursos disponíveis no Biorender.com

Os primeiros estudos sobre mecanismo de ação da NTBos-A foram sobre o efeito de paralisia muscular, que é causada pelo bloqueio da liberação de acetilcolina na junção neuromuscular, e resultou no emprego da neurotoxina como tratamento de distúrbios de hiperatividade muscular (KAO; DRACHMAN; PRICE, 1976). Com novos estudos, observou-se que a toxina age afetando a neurotransmissão de diversos neurotransmissores e em vários locais do sistema nervoso, contribuindo para novas aplicações da NTBos-A; entre elas, a utilização para o tratamento de condições dolorosas.

Diversos estudos, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, mostram o bloqueio de neurotransmissores e receptores associados à nocicepção após o tratamento com a neurotoxina botulínica-A. Em uma cultura de neurônios sensoriais primários, a NTBos-A foi capaz de bloquear a liberação de Substância P (SP) e do peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP) (DURHAM et al., 2004; PURKISS et al., 2000). Os efeitos da neurotoxina sobre a SP e CGRP também foram vistos em modelos animais de cistite, prostatite (CHUANG et al., 2004, 2008). Em um modelo de disfunção temporomandibular induzida por Adjuvante Completo de Freund (CFA), a injeção de NTBos-A reduziu a expressão das citocinas pró-inflamatórias IL-1 β , TNF- α , CGRP e SP (LORA et al., 2017). Em modelo de dor crônica causado por constrição do nervo infraorbital, o tratamento com a neurotoxina reduziu os níveis de IL-6, IL-1 β e TNF- α , e, também, alterou os níveis de receptores do tipo toll-2 (TLR-2) (CHEN et al., 2021). A neurotoxina botulínica também foi capaz de reduzir a translocação dos receptores de potencial transitório vanilóide tipo 1 (TRPV-1) e dos receptores de potencial transitório anquirina tipo 1 (TRPA-1) para a membrana extracelular, regulando a atividade desses receptores (MORENILLA-PALAO et al., 2004; SHIMIZU et al., 2012).

O tratamento de condições dolorosas utilizando a neurotoxina botulínica - A possui algumas vantagens, o que contribui para que a NTBos-A seja cada vez mais utilizada como opção terapêutica. Dentre essas vantagens, vale ressaltar o tempo de duração do efeito. O alívio da dor ocorre entre 2 e 5 dias após a injeção, e o efeito pode durar por até 6 meses (SIM, 2011). O uso da NTBos-A também é interessante devido aos custos. O custo da aplicação de neurotoxina é muito menor do que o valor gasto para manter visitas periódicas aos médicos e o custo para a

compra dos medicamentos prescritos (PATIL et al., 2016). Sendo assim, a neurotoxina botulínica é cada vez mais empregada para o tratamento de condições dolorosas, emergindo como uma alternativa para o tratamento de dores neuropáticas, dores articulares, dores nas costas, dores miofasciais, enxaquecas e outras dores de cabeça (AOKI, 2003; DODICK et al., 2010; JANKOVIC, 2018; SAFARPOUR; JABBARI, 2018). O emprego da neurotoxina para o tratamento de condições dolorosas foi aprovado, pelo FDA, para o tratamento de enxaqueca crônica, e a única marca que possui essa aprovação é a Botox (DODICK et al., 2010). No entanto, mesmo sem a devida aprovação, as diferentes marcas de neurotoxina botulínica são utilizadas como tratamento de condições dolorosas. Até mesmo a Botox é utilizada em condições para as quais não foi autorizada, o que configura a utilização *Off Label* (ABRAMS; HALLET, 2013). Para que o emprego das diferentes marcas comerciais de NTBos-A seja feito de forma eficaz, é necessário o estudo das diferenças entre cada formulação de neurotoxina disponível, e de como cada processo de manufatura pode gerar um produto final diferente dos demais. A compreensão dos efeitos de cada formulação de neurotoxina botulínica permite que sejam estabelecidos protocolos individualizados de diluição, dose, tempo e técnica de aplicação.

3.1 Formulações comerciais de Neurotoxina Botulínica e suas diferenças

No Brasil, temos cinco principais marcas de neurotoxina botulínica sendo comercializadas: Botox (Allergan Inc.), Dysport (Ipsen Pharmaceuticals), Xeomin (Merz Pharmaceuticals), Botulift (Meditox) e Prosigne (Lanzhou Institute). Apesar de todas essas marcas serem registradas na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e poderem ser comercializadas, apenas a Botox, a Dysport e a Xeomin possuem aprovação do FDA.

As diferenças no processo de manufatura entre formulações de neurotoxina botulínica são evidentes desde o início. A neurotoxina botulínica é classificada como um produto biológico, e sua manufatura começa com a produção da toxina pela bactéria *Clostridium botulinum*; cada fabricante possui a própria cepa de bactéria que irá originar a proteína diferente. O peso molecular da proteína

produzida varia entre 300 e 900 kDa, conforme a composição de proteínas acessórias presentes no produto (DRESSLER; BENECKE, 2007). Após a produção da neurotoxina, ocorre o isolamento e purificação da proteína. Durante a purificação, a neurotoxina pode ser completamente isolada, resultando apenas no núcleo de 150 kDa, como é o caso da Xeomin, ou pode permanecer associada a frações diferentes das proteínas acessórias, como a Dysport, ou ainda estar ligada a todas as proteínas acessórias formando o complexo de 900 kDa, como ocorre com a Botox. Como a ação da neurotoxina botulínica está associada à disponibilidade do núcleo proteico de 150 kDa, cada formulação precisa passar por testes para definir a atividade biológica do produto (BRIN; JAMES; MALTMAN, 2014; FREVERT, 2010, 2015).

A Organização Mundial de Saúde (WHO) já tem estabelecido ensaios padrões para avaliação da atividade biológica de vários produtos biológicos, porém, nenhum desses ensaios são definidos para produtos de neurotoxina botulínica. A falta de padronização em ensaios de potência faz com que cada fabricante avalie seu produto de forma individualizada e com protocolos próprios, tornando difícil a comparação entre a potência e outras características de diferentes formulações. A avaliação da potência determina a dose letal mediana (LD50), na qual 1 LD50 equivale a 1 U, através de metodologias diferentes. Os ensaios utilizando animais variam entre a linhagem utilizada, sexo e idade dos animais, condições de manutenção dos animais, além de vias de administração, local da injeção, entre outros (BRIN; JAMES; MALTMAN, 2014; PICKETT, 2014; PIRAZZINI et al., 2017).

Para a análise de potência, a neurotoxina botulínica purificada é diluída, e o reagente de diluição influencia diretamente nos resultados de cada teste. Para a realização dos testes, a Allergan (Botox) utiliza salina como diluente, a Ipsen (Dysport) utiliza tampão fosfato e a Merz (Xeomin) utiliza uma solução desconhecida com albumina sérica humana (HSA). Para fins de comparação, a toxinas da marca Botox e Xeomin foram submetidas ao ensaio padronizado pela Allergan, no qual as duas toxinas foram diluídas em salina e comparadas com o padrão de 100 U da Allergan. Os resultados mostraram que, pelo protocolo de LD50 utilizado, a atividade da Xeomin foi menor que o padrão de 100 U da Allergan para três lotes de produtos diferentes. Já com o protocolo padronizado pela Merz para definição da LD50, no qual as toxinas da Botox e da Xeomin foram diluídas em

solução com HSA, e os resultados comparados com o padrão Merz, a potência obtida para as duas formulações foram comparáveis (DRESSLER; PAN; BIGALKE, 2018; HUNT; CLARKE, 2009; PANJWANI; O'KEEFFE; PICKETT, 2008; SESARDIC; LEUNG; DAS, 2003). A diferença no resultado obtido pelos ensaios descritos pela Allergan e pela Merz mostram que a utilização de diferentes reagentes e protocolos experimentais pode influenciar na potência encontrada para cada formulação de neurotoxina e, também, que os resultados de potência obtidos por testes diferentes não podem ser comparáveis.

Após os testes, a neurotoxina botulínica é utilizada para fazer preparações farmacológicas, nas quais são utilizadas diferentes excipientes para garantir a estabilidade do produto até o momento da diluição para uso clínico. O excipiente utilizado na maioria das formulações é o HSA, porém cada formulação utiliza quantidades diferentes. A formulação da Xeomin utiliza oito vezes mais HSA do que a formulação de Dysport, e duas vezes mais que a formulação de Botox. A presença de maiores quantidades de HSA na formulação da Xeomin é associada a maior estabilidade do produto a temperaturas de até 25°C, que é uma característica que facilita o transporte e armazenamento do produto (PICKETT, 2014; PIRAZZINI et al., 2017). A finalização do processo ocorre com a utilização de processos de secagem da formulação. A neurotoxina da marca Botox passa por processo de secagem à vácuo, enquanto as marcas Xeomin e Dysport usam o processo de liofilização (BRIN; JAMES; MALTMAN, 2014).

Os produtos de neurotoxina botulínica-A formados diferem entre si, e os efeitos observados após o uso de cada um deles podem não ser semelhantes. Os efeitos da neurotoxina botulínica são devidos à ação do núcleo proteico de 150 KDa, portanto, a quantidade da proteína de 150 KDa disponível pode ser relacionada aos efeitos observados em cada produto. Em 2010, Jürgen Frevert, dosou a presença desse núcleo proteico de 150 KDa em quatro lotes de Botox, dois de Dysport e três de Xeomin, e notou que existe diferença na constituição dessa proteína nesses produtos. Utilizando o teste de ELISA ele observou que no vial de 100 U de Botox havia 0,73 ng de proteína, no vial de 500 U de Dysport havia 3,24 ng e, no de Xeomin, 0,65 ng (FREVERT, 2010). Corroborando para esses resultados, Field e colaboradores (2018), também utilizando teste de ELISA, quantificou a presença desse núcleo proteico nas mesmas marcas de NTBos-A.

Eles concluíram que no vial de 100 Unidades de Botox há 0,9 ng de proteína, enquanto no vial de 500 U de Dysport há 2,9 ng, e 0,4 ng no de Xeomin (FIELD et al., 2018). Como a quantidade da unidade catalítica da neurotoxina botulínica é diferente entre esses produtos, espera-se que eles também apresentem efeitos diferentes.

As principais diferenças observadas nas formulações de neurotoxina botulínica estão descritas na tabela 1.

Tabela 1. Diferenças entre as principais marcas comerciais de neurotoxina botulínica disponíveis no Brasil

	Fabricante	Constituição e peso molecular	Indicações (ANVISA)	Excipientes
Botox	Allergan Inc.	NTBos-A complexo de 900 kDa	Espasmo muscular, estrabismo, blefaroespasmo, distonia cervical, espasmo hemifacial, hiperidrose, rugas, incontinência urinária e bexiga hiperativa, e migrânea crônica	HSA (500µg) e NaCl
Dysport	Ipsen Pharmaceuticals	NTBos-A com proteínas acessórias 500-900 kDa	Blefaroespasmo, distonia cervical, espasmo hemifacial, rugas e hiperidrose	HSA (125 µg) e lactose
Xeomin	Merz Pharmaceuticals	NTBos-A 150 kDa	Blefaroespasmo e distonia cervical	HSA (1mg) e sucrose
Botulift	Meditox	NTBos-A complexo de 900 kDa	Blefaroespasmo, espasmo hemifacial, espaticidade e linhas faciais hiperkinéticas	HSA e NaCl
Prosigne	Lanzhou Institute	NTBos-A complexo de 900 kDa	Estrabismo, blefaroespasmo, espasmo hemifacial, torcicolo espasmódico, distonia cervical, rugas e hiperidrose	Gelatina (5 mg), Dextrana (25 mg) e Sucrose (25 mg)

Assim, fica claro que, apesar de se tratar de um produto farmacológico baseado em uma mesma proteína, cada um desses produtos de neurotoxina botulínica é formulado diferentemente, resultando em produtos finais distintos e com características próprias. Pensando nessas diferenças de manufatura, e em

como elas podem afetar a eficácia do produto final, estudos tentam estabelecer formas para o melhor emprego das formulações de NTBos-A.

Estudos pré-clínicos e clínicos descrevem que as doses de Botox e Xeomin são equivalentes, portanto, a proporção seguida para aplicação clínica é de 1:1 (DRESSLER; PAN; BIGALKE, 2018; FIELD et al., 2018; WANG et al., 2014). A eficácia do tratamento com Xeomin foi comparada com a eficácia do tratamento com Botox em alguns estudos. Em um estudo de 16 semanas, duplo cego e randomizado, 463 pacientes com distonia cervical receberam as mesmas doses de Xeomin e Botox. Ao final do período de análise, observou-se que os pacientes tratados com Xeomin e com Botox apresentaram melhoras nos sintomas de forma semelhante (BENECKE et al., 2005). Em outro estudo, as duas marcas foram utilizadas para o tratamento de blefaroespasma. Nesse estudo, 300 pacientes receberam as mesmas doses de Xeomin e Botox. Ao final do período de análise, observou-se que os tratamentos possuem eficácia similar, e que não havia diferença relevante no aparecimento de efeitos adversos nos dois grupos (JANKOVIC, 2009). Esses estudos fortalecem a utilização da proporção de 1:1 entre as doses de Botox e Xeomin, mostrando que elas podem ter eficácia similar.

Existem poucos estudos comparativos utilizando a Prosigne como tratamento; dois estudos feitos por pesquisadores brasileiros estão entre eles. Qualigato (2010) avaliou os efeitos do tratamento com Botox e Prosigne, respeitando uma proporção de 1:1 em 21 pacientes com blefaroespasma e 36 com espasmo hemifacial. O estudo foi feito em duplo cego e randomizado. Neste estudo, foi observado que os dois tratamentos foram capazes de tratar os pacientes de forma similar, indicando que ambos possuem a mesma eficácia e tolerabilidade, sendo que a proporção de 1:1 (Botox : Prosigne) deve ser considerada ao tratar pacientes com blefaroespasma e espasmo hemifacial (BARASNEVICIUS QUAGLIATO; CARELLI; VIANA, 2010). Noutro estudo, realizado por Barbosa (2015), o tratamento foi comparado utilizando Prosigne e Dysport, em proporção de 1:3, em 34 pacientes com distonia cervical. Ao final do período experimental, observou-se que os tratamentos com Prosigne e Dysport (1:3) apresentaram segurança e eficácia similares, indicando que essa proporção entre Prosigne e Dysport pode ser considerada ao tratar pacientes com distonia cervical (BARBOSA

et al., 2015). Na prática clínica, a dose utilizada para tratamentos com Prosigne respeita a proporção de 1:1 em relação ao Botox.

A neurotoxina botulínica-A da marca Botulift é conhecida internacionalmente como Neuronox, e também existem poucos estudos comparativos utilizando essa formulação. Seo (2014) avaliou o tratamento de espasmos de membros superiores, causados após acidente vascular cerebral, utilizando Botox e Botulift na mesma proporção de dose (1:1). O estudo foi randomizado e contou com 196 participantes. Após o período de tratamento, concluíram que o tratamento com Botulift apresenta eficácia e segurança equivalentes às do Botox (SEO et al., 2015). Sane (2019) utilizou Botox e Botulift (1:1) para o tratamento de 24 pacientes com blefaroespasma, e concluiu que não há diferenças na análise comparativa entre os grupos que receberam Botox ou Botulift, indicando que as formulações são comparáveis quanto à eficácia (SANE; ALI; NAIK, 2019). Para o tratamento utilizando a Botulift, é seguida a proporção de 1:1 (Botox) na prática clínica.

A maior divergência de conversão de doses é em relação aos tratamentos utilizando a Dysport; as taxas de conversão descritas variam de 1:1 à 1:11 em relação ao Botox (FAVRE-GUILMARD; AUGUET; CHABRIER, 2009; MARCHETTI et al., 2005; SIDEBOTTOM; PATEL; AMIN, 2013). Os estudos mais relevantes sobre a equivalência de dose entre Dysport e Botox utilizam um fator de conversão $\leq 1:3$ para tratamento de espasmos, distonia cervical, blefaroespasma e espasmo hemifacial. Doses maiores de Dysport podem ser excessivas e ocasionar efeitos adversos (SCAGLIONE, 2016). Ranoux (2002) comparou o tratamento de 54 pacientes com distonia cervical utilizando Botox e Dysport. Nesse estudo, ele utilizou Dysport em duas proporções diferentes, sendo 1:3 e 1:4 (Botox:Dysport). O estudo mostrou que o tratamento com Dysport foi mais eficiente que o Botox para o tratamento dos sintomas causados pela distonia, porém, os grupos tratados com Dysport apresentaram mais ocorrência de efeitos colaterais, e a prevalência desses efeitos foi maior no grupo que foi tratado com Dysport em proporção de 1:4 (RANOUX et al., 2002). Em outro estudo, também com pacientes com distonia cervical, foi visto que o tratamento com Dysport em proporção de 1:2,5 (Botox:Dysport) apresenta resultados comparáveis ao tratamento com Botox, porém, sem que haja aumento dos efeitos adversos (YUN et al., 2015).

A compreensão do potencial terapêutico de cada formulação tem implicações diretas na segurança e nos resultados do tratamento com a NTBos. O emprego de uma formulação menos potente, em doses iguais a de uma formulação mais potente, pode não tratar os sintomas do paciente, assim como o emprego de uma formulação mais potente, em doses iguais a de uma formulação menos potente, pode acarretar no aparecimento de efeitos adversos. Kazerooni (2018) descreve que os efeitos adversos relatados no Adverse Events Reporting System (FAERS), sistema associado ao FDA, estão, majoritariamente, presentes no tratamento utilizando Dysport, totalizando 20% dos relatos. O efeito adverso mais listado é a ptose ocular e, segundo o autor, a ocorrência pode ser devida a confusão com o emprego da dose correta de Dysport. Conforme mencionado, os estudos de conversão de doses entre Botox e Dysport variam de 1:1 à 1:11 (KAZEROONI; ARMSTRONG, 2018). Ozer (2021) analisou os efeitos da conversão de doses usando uma proporção média de 1:4,7 entre Botox e Dysport, sobre a eficácia e efeitos adversos após a troca das formulações de neurotoxina em pacientes com condições neurológicas. Para determinar o fator de conversão de dose entre os tratamentos, o grupo analisou individualmente a necessidade de cada participante e, ao final do experimento, relatou que após a troca das formulações de neurotoxina surgiram efeitos colaterais como ptose, fraqueza muscular e dor severa (OZER et al., 2021).

Sendo assim, apesar de as formulações de neurotoxina botulínica se originarem de um mesmo produto biológico, elas geram produtos comerciais diferentes. Esses produtos podem agir de forma discrepante no organismo, apresentando efeitos terapêuticos divergentes. Com isso, as formulações podem apresentar resultados diferentes no tratamento de uma mesma condição e causar efeitos adversos. Para o emprego apropriado de cada formulação de NTBos-A no tratamento da dor, faz-se necessário o estudo individualizado de cada produto, para saber se ele apresenta, ou não, efeito terapêutico para cada condição clínica e qual seria o melhor protocolo de administração quanto à dose e o intervalo entre as administrações. Neste sentido, estudos pré-clínicos que utilizam as doses conforme empregado na clínica médica se mostram como boas alternativas para iniciarmos maiores discussões acerca destas possíveis diferenças terapêuticas. É preciso observar se as diferentes marcas comerciais possuem efeitos iguais em um mesmo

modelo de dor, avaliando o potencial analgésico e, também, os efeitos adversos de cada uma. Portanto, nosso objetivo foi avaliar o potencial analgésico de diferentes formulações de neurotoxina botulínica A, utilizando a conversão de doses conforme já estabelecido na clínica, em modelo de dor orofacial aguda induzida por formalina.

4. Referências

ABRAMS, S. B.; HALLET, M. Clinical utility of different botulinum neurotoxin preparations. **Toxicon**, v. 67, p. 81–86, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2012.11.024>

AGGMAN-HENRIKSON, B. H. et al. Increasing gender differences in the prevalence and chronification of orofacial pain in the population. 2020. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001872>

ANANTHAN, S.; BENOLIEL, · RAFAEL. Chronic orofacial pain. **Journal of Neural Transmission**, v. 127, p. 575–588, 2020. <https://doi.org/10.1007/s00702-020-02157-3>

ANWAR, K. Pathophysiology of pain. **Disease-a-Month**, v. 62, n. 9, p. 324–329, 1 set. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.disamonth.2016.05.015>

AOKI, K. R. Evidence for Antinociceptive Activity of Botulinum Toxin Type A in Pain Management. **Headache: The Journal of Head and Face Pain**, v. 43, n. s1, p. 9–15, 2003. <https://doi.org/10.1046/j.1526-4610.43.7s.3.x>

AOKI, K. R.; RANOUX, D.; WISSEL, J. Using translational medicine to understand clinical differences between botulinum toxin formulations. v. 13, p. 10–19, 2006. <https://doi.org/10.1111/j.1468-1331.2006.01649.x>

ARAYA, E. I. et al. Trigeminal Neuralgia: Basic and Clinical Aspects. **Current Neuropharmacology**, v. 18, p. 109–119, 2020. [10.2174/1570159X17666191010094350](https://doi.org/10.2174/1570159X17666191010094350)

ASHINA, M. et al. Migraine: epidemiology and systems of care. **The Lancet**, v. 397, n. 10283, p. 1485–1495, 2021. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32160-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32160-7)

ASQUINI, G. et al. The impact of Covid-19-related distress on general health, oral behaviour, psychosocial features, disability and pain intensity in a cohort of Italian patients with temporomandibular disorders. 2021. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0245999>

BAJOHRS, M. et al. A molecular basis underlying differences in the toxicity of botulinum serotypes A and E. **EMBO Reports**, v. 5, n. 11, p. 1090–1095, 2004. <https://doi.org/10.1038/sj.embor.7400278>

BARASNEVICIUS QUAGLIATO, E. M. A.; CARELLI, E. F.; VIANA, M. A. Prospective, randomized, double-blind study, comparing botulinum toxins type a botox and prosigne for blepharospasm and hemifacial spasm treatment. **Clinical Neuropharmacology**, v. 33, n. 1, p. 27–31, 2010. <https://doi.org/10.1097/WNF.0b013e3181c46f61>

BARBOSA, P. M. et al. Comparison Between Dysport and Prosigne in the Treatment of Cervical Dystonia. v. 38, n. 6, p. 221–226, 2015. <https://doi.org/10.1097/WNF.000000000000107>

BASBAUM, A. I. et al. Review Cellular and Molecular Mechanisms of Pain. p. 267–284, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.09.028>

BENECKE, R. et al. A new botulinum toxin type A free of complexing proteins for treatment of cervical dystonia. **Neurology**, v. 64, p. 1949–1951, 2005. <https://doi.org/10.1212/01.WNL.0000163767.99354.C3>

BENOLIEL, R.; PERTES, R. A.; ELIAV, E. **Orofacial pain**. First Edit ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2009. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-4836-7.00017-1>

BREIVIK, H. et al. Survey of chronic pain in Europe: Prevalence, impact on daily life, and treatment. **European Journal of Pain**, v. 10, n. 4, p. 287–287, 1 maio 2006. <https://doi.org/10.1016/j.ejpain.2005.06.009>

BRIN, M. F.; JAMES, C.; MALTMAN, J. Botulinum toxin type A products are not interchangeable: A review of the evidence. **Biologics: Targets and Therapy**, v. 8, p. 227–241, 2014. <https://doi.org/10.2147/BTT.S65603>

BUSE, D. C. et al. Adolescent Perspectives on the Burden of a Parent's Migraine: Results from the CaMEO Study. **Headache**, v. 58, n. 4, p. 512–524, 1 abr. 2018. <https://doi.org/10.1111/head.13254>

BUSE, D. C. et al. Life With Migraine: Effects on Relationships, Career, and Finances From the Chronic Migraine Epidemiology and Outcomes (CaMEO) Study. **Headache**, v. 59, n. 8, p. 1286, 1 set. 2019. <https://doi.org/10.1111/head.13613>

BUSE, D. C. et al. Comorbid and co-occurring conditions in migraine and associated risk of increasing headache pain intensity and headache frequency: results of the migraine in America symptoms and treatment (MAST) study. **The**

journal of headache and pain, v. 21, n. 1, 2 mar. 2020.
<https://doi.org/10.1186/s10194-020-1084-y>

CHEN, W. J. et al. Unilateral facial injection of Botulinum neurotoxin A attenuates bilateral trigeminal neuropathic pain and anxiety-like behaviors through inhibition of TLR2-mediated neuroinflammation in mice. **Journal of Headache and Pain**, v. 22, n. 1, p. 1–18, 2021. <https://doi.org/10.1186/s10194-021-01254-2>

CHOUDHURY, S. et al. Botulinum toxin: An update on pharmacology and newer products in development. **Toxins**, v. 13, n. 1, p. 1–15, 2021. <https://doi.org/10.3390/toxins13010058>

CHUANG, Y. C. et al. Intravesical botulinum toxin a administration produces analgesia against acetic acid induced bladder pain responses in rats. **Journal of Urology**, v. 172, n. 4 I, p. 1529–1532, 2004. <https://doi.org/10.1097/01.ju.0000137844.77524.97>

CHUANG, Y. C. et al. Intraprostatic Botulinum Toxin A Injection Inhibits Cyclooxygenase-2 Expression and Suppresses Prostatic Pain on Capsaicin Induced Prostatitis Model in Rat. **The Journal of Urology**, v. 180, n. 2, p. 742–748, ago. 2008. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2007.07.120>

CLAVELOU, P. et al. The orofacial formalin test in rats: effects of different formalin concentrations. **Pain**, v. 62, n. 3, p. 295–301, 1995. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(94\)00273-H](https://doi.org/10.1016/0304-3959(94)00273-H)

CRAIG, A. D. A new view of pain as a homeostatic emotion. **Trends in Neurosciences**, v. 26, n. 6, p. 303–307, 1 jun. 2003. [https://doi.org/10.1016/S0166-2236\(03\)00123-1](https://doi.org/10.1016/S0166-2236(03)00123-1)

CRAIG, A. D. Distribution of trigeminothalamic and spinothalamic lamina I terminations in the macaque monkey. **The Journal of comparative neurology**, v. 477, n. 2, p. 119–148, 13 set. 2004. <https://doi.org/10.1002/cne.20240>

DE TOLEDO, I. P. et al. Prevalence of trigeminal neuralgia: A systematic review. **Journal of the American Dental Association**, v. 147, n. 7, p. 570- 576.e2, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.adaj.2016.02.014>

DODICK, D. W. et al. OnabotulinumtoxinA for treatment of chronic migraine: Pooled results from the double-blind, randomized, placebo-controlled phases of the PREEMPT clinical program. **Headache**, v. 50, n. 6, p. 921–936, 2010. <https://doi.org/10.1111/j.1526-4610.2010.01678.x>

DRESSLER, D.; BENECKE, R. Pharmacology of therapeutic botulinum toxin preparations. **Disability and Rehabilitation**, v. 29, n. 23, p. 1761–1768, 2007. <https://doi.org/10.1080/09638280701568296>

DRESSLER, D.; PAN, L.; BIGALKE, H. Comparing incobotulinumtoxinA (Xeomin®) and onabotulinumtoxinA (Botox®): identical potency labelling in the hemidiaphragm assay. **Journal of Neural Transmission**, v. 125, n. 9, p. 1351–1354, 2018. <https://doi.org/10.1007/s00702-018-1897-x>

DURHAM, P. L. et al. Regulation of Calcitonin Gene-Related Peptide Secretion from Trigeminal Nerve Cells by Botulinum Toxin Type A: Implications for Migraine Therapy. **Headache**, v. 44, n. 1, p. 35–43, 2004. <https://doi.org/10.1111/j.1526-4610.2004.04007.x>

FAVRE-GUILMARD, C.; AUGUET, M.; CHABRIER, P. E. Different antinociceptive effects of botulinum toxin type A in inflammatory and peripheral polyneuropathic rat models. **European Journal of Pharmacology**, v. 617, n. 1–3, p. 48–53, 1 set. 2009. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2009.06.047>

FIELD, M. et al. AbobotulinumtoxinA (Dysport®), OnabotulinumtoxinA (Botox®), and IncobotulinumtoxinA (Xeomin®) Neurotoxin Content and Potential Implications for Duration of Response in Patient. **Toxins**, v. 10, p. 1–14, 2018. <https://doi.org/10.3390/toxins10120535>

FITZCHARLES, M.-A. et al. Nociceptive pain: towards an understanding of prevalent pain conditions. **Chronic pain**, v. 397, n. 10289, p. 2098–2110, 29 maio 2021. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00392-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00392-5)

FREVERT, J. Content of botulinum neurotoxin in botox®vistabel®, dysport®azzalure®, and xeomin®bocouture. **Drugs in R and D**, v. 10, n. 2, p. 67–73, 2010. <https://doi.org/10.2165/11584780-000000000-00000>

FREVERT, J. Pharmaceutical, Biological, and Clinical Properties of Botulinum Neurotoxin Type A Products. **Drugs in R and D**, v. 15, n. 1, p. 1–9, 2015. <https://doi.org/10.1007/s40268-014-0077-1>

GHOSAL, K. J. et al. Role of critical elements in botulinum neurotoxin complex in toxin routing across intestinal and bronchial barriers. **PLoS ONE**, v. 13, 2018. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199524>

GIL-MARTINEZ, A. et al. Comparison Between Chronic Migraine and Temporomandibular Disorders in Pain-Related Disability and Fear-Avoidance

Behaviors. **Pain Medicine**, v. 18, p. 2214–2223, 2017. <https://doi.org/10.1093/pm/pnx127>

HUANG, X. et al. Truncated SNAP-25 (1-197), like botulinum neurotoxin A, can inhibit insulin secretion from HIT-T15 insulinoma cells. **Molecular Endocrinology**, v. 12, n. 7, p. 1060–1070, 1998. <https://doi.org/10.1210/me.12.7.1060>

HUNT, T.; CLARKE, K. Potency evaluation of a formulated drug product containing 150-kd botulinum neurotoxin type a. **Clinical Neuropharmacology**, v. 32, n. 1, p. 28–31, jan. 2009. <https://doi.org/10.1097/WNF.0b013e3181692735>

JANKOVIC, J. Clinical efficacy and tolerability of Xeomin® in the treatment of blepharospasm. **European Journal of Neurology**, v. 16, p. 14–18, 2009. <https://doi.org/10.1111/j.1468-1331.2009.02880.x>

JANKOVIC, J. An update on new and unique uses of botulinum toxin in movement disorders. **Toxicon**, v. 147, p. 84–88, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2017.09.003>

JULIUS, D.; BASBAUM, A. I. Molecular mechanisms of nociception. v. 413, n. September, p. 203–210, 2001. <https://doi.org/10.1038/35093019>

KAO, I.; DRACHMAN, D. B.; PRICE, D. L. Botulinum Toxin: Mechanism of Presynaptic Blockade. **Science**, v. 193, n. 4259, p. 1256–1258, 1976. <https://doi.org/10.1126/science.785600>

KAZEROONI, R.; ARMSTRONG, E. P. Botulinum Toxin Type A Overdoses: Analysis of the FDA Adverse Event Reporting System Database. **Clinical Drug Investigation**, v. 38, n. 9, p. 867–872, 2018. <https://doi.org/10.1007/s40261-018-0668-7>

LEE, G. I.; NEUMEISTER, M. W. **Pain: Pathways and Physiology. Clinics in Plastic Surgery** W.B. Saunders, 1 abr. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.cps.2019.11.001>.

LOBBEZOO, F.; VAN WIJK, A.; M G VAN DER HEIJDEN, G. J. Associations of pain intensity and pain-related disability with psychological and socio-demographic factors in patients with temporomandibular disorders: a cross-sectional study at a specialised dental clinic. 2016. <http://doi.org/10.1111/joor.12479>

LORA, V. R. M. M. et al. Botulinum toxin type A reduces inflammatory hypernociception induced by arthritis in the temporomandibular joint of rats. **Toxicon**, v. 129, p. 52–57, 1 abr. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2017.02.010>

LÖVGREN, A. et al. Temporomandibular pain and jaw dysfunction at different ages covering the lifespan – A population based study. **European Journal of Pain**, v. 20, n. 4, p. 532–540, 1 abr. 2016. <https://doi.org/10.1002/ejp.755>

LUCCARINI, P. et al. The Orofacial Formalin Test in the Mouse: A Behavioral Model for Studying Physiology and Modulation of Trigeminal Nociception. **Journal of Pain**, v. 7, n. 12, p. 908–914, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2006.04.010>

MACFARLANE, T. V et al. Oro-facial pain in the community : prevalence and associated impact. **Community Dentistry Oral Epidemiology**, v. 30, n. 11, p. 52–60, 2002. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0528.2002.300108.x>

MACINTYRE, P. et al. **Acute pain management: scientific evidence**. 3. ed. Melbourne: ANZCA & FPM, 2010AC. <http://doi.org/10.1097/ACO.0b013e32833c33ed>

MARCHETTI, A. et al. Retrospective evaluation of the dose of Dysport and BOTOX in the management of cervical dystonia and blepharospasm: The REAL DOSE study. **Movement Disorders**, v. 20, n. 8, p. 937–944, ago. 2005. <https://doi.org/10.1002/mds.20468>

MATAK, I. et al. Mechanisms of botulinum toxin type A action on pain. **Toxins**, v. 11, n. 8, 2019. <https://doi.org/10.3390/toxins11080459>

MCMILLAN, A. S. et al. Prevalence of orofacial pain and treatment seeking in Hong Kong Chinese. **Journal of orofacial pain**, v. 20, n. 3, p. 218–225, jun. 2006.

MELEK, L. et al. Comparison of the Neuropathic Pain Symptoms and Psychosocial Impacts of Trigeminal Neuralgia and Painful Posttraumatic Trigeminal Neuropathy. **Journal of oral & facial pain and headache**, v. 33, n. 1, p. 77–88, jan. 2019. <https://doi.org/10.11607/ofph.2157>

MIGUELÁÑEZ-MEDRÁN, B. C.; GOICOECHEA, C. Animal models in the study and treatment of orofacial pain. v. 11, n. 5, 2019. <https://doi.org/10.4317/jced.55429>

MORENILLA-PALAO, C. et al. Regulated exocytosis contributes to protein kinase C potentiation of vanilloid receptor activity. **Journal of Biological Chemistry**, v. 279, n. 24, p. 25665–25672, 11 jun. 2004. <https://doi.org/10.1074/jbc.M311515200>

MURARO, L. et al. The N-terminal half of the receptor domain of botulinum neurotoxin A binds to microdomains of the plasma membrane. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 380, n. 1, p. 76–80, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.01.037>

OLESEN, J. Headache Classification Committee of the International Headache Society (IHS) The International Classification of Headache Disorders, 3rd edition. **Cephalalgia : an international journal of headache**, v. 38, n. 1, p. 1–211, 1 jan. 2018. <https://doi.org/10.1177/0333102417738202>

ORR, P. M.; SHANK, B. C.; BLACK, A. C. The Role of Pain Classification Systems in Pain Management. **Critical Care Nursing Clinics of North America**, v. 29, n. 4, p. 407–418, 1 dez. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.cnc.2017.08.002>

OZER, I. S. et al. Dose conversion ratio, comparative efficacy, and adverse events after switching from onabotulinum toxin A to abobotulinum toxin A for neurological conditions. **Clinical Neurology and Neurosurgery**, v. 209, 13 ago. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2021.106889>

PANJWANI, N.; O'KEEFFE, R.; PICKETT, A. Biochemical, functional and potency characteristics of type A botulinum toxin in clinical use. **The Botulinum J.**, v. 1, n. 1, p. 153, 2008. <https://doi.org/10.1504/TBJ.2008.018956>

PATIL, S. et al. Botulinum Toxin : Pharmacology and Therapeutic Roles in Pain States. **Current Pain and Headache Reports**, v. 20, n. 3, p. 1–8, 2016. <https://doi.org/10.1007/s11916-016-0545-0>

PICKETT, A. **Clinical applications of botulinum neurotoxin**. New York: Springer, 2014. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0261-3>

PIRAZZINI, M. et al. Botulinum neurotoxins: Biology, pharmacology, and toxicology. **Pharmacological Reviews**, v. 69, n. 2, p. 200–235, 2017. <https://doi.org/10.1124/pr.116.012658>

PURKISS, J. et al. Capsaicin-stimulated release of substance P from cultured dorsal root ganglion neurons: Involvement of two distinct mechanisms.

Biochemical Pharmacology, v. 59, n. 11, p. 1403–1406, 2000. [https://doi.org/10.1016/S0006-2952\(00\)00260-4](https://doi.org/10.1016/S0006-2952(00)00260-4)

RAJA, S. N. et al. The Revised IASP definition of pain: concepts, challenges, and compromises HHS Public Access. **Pain**, v. 161, n. 9, p. 1976–1982, 2020. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001939>

RANOUX, D. et al. Respective potencies of Botox and Dysport: a double blind, randomised, crossover study in cervical dystonia. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 72, p. 459–462, 2002. <https://doi.org/10.1136/jnnp.72.4.459>

RAY, J. C.; HUTTON, E. J.; MATHARU, M. Onabotulinumtoxin in migraine: A review of the literature and factors associated with efficacy. **Journal of Clinical Medicine**, v. 10, n. 13, 2021. <https://doi.org/10.3390/jcm10132898>

REITER, S. et al. Pain Catastrophizing and Pain Persistence in Temporomandibular Disorder Patients. **Journal of oral & facial pain and headache**, v. 32, n. 3, p. 309–320, jul. 2018. <https://doi.org/10.11607/ofph.1968>

ROMERO-REYES, M.; UYANIK, J. M. Orofacial pain management: Current perspectives. **Journal of Pain Research**, v. 7, p. 99–115, 2014. <https://doi.org/10.2147/JPR.S37593>

SAFARPOUR, Y.; JABBARI, B. Botulinum Toxin Treatment of Movement Disorders. **Current Treatment Options in Neurology**, v. 20, n. 2, 2018. <https://doi.org/10.1007/s11940-018-0488-3>

SANE, S.; ALI, M. J.; NAIK, M. N. Comparison of Safety and Efficacy of Botox and Neuronox in the Management of Benign Essential Blepharospasm: A Split-face Study. **Korean Journal of Ophthalmology**, v. 33, n. 5, p. 430–435, 2019. <https://doi.org/10.3341/kjo.2016.0123>

SARLANI, E.; BALCIUNAS, B. A.; GRACE, E. G. **Orofacial pain--Part I: Assessment and management of musculoskeletal and neuropathic causes. AACN clinical issues** AACN Clin Issues, 2005. <https://doi.org/10.1097/00044067-200507000-00007>

SCAGLIONE, F. Conversion ratio between botox®, dysport®, and xeomin® in clinical practice. **Toxins**, v. 8, n. 3, 2016. <https://doi.org/10.3390/toxins8030065>

SCHOLZ, J.; WOOLF, C. J. Can we conquer pain? **Nature Neuroscience** **2002 5:11**, v. 5, n. 11, p. 1062–1067, 28 out. 2002. <https://doi.org/10.1038/nn942>

SEO, H. G. et al. Neuronox versus BOTOX in the treatment of post-stroke upper limb spasticity: A multicenter randomized controlled trial. **PLoS ONE**, v. 10, n. 6, p. 1–13, 2015. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128633>

SESARDIC, D.; LEUNG, T.; DAS, R. G. Role for standards in assays of botulinum toxins: international collaborative study of three preparations of botulinum type A toxin. **Biologicals**, v. 31, n. 4, p. 265–276, 1 dez. 2003. <https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2003.08.001>

SHAEFER, J. R.; KHAWAJA, S. N.; BAVIA, P. F. **Sex, Gender, and Orofacial Pain. Dental Clinics of North America** W.B. Saunders, 1 out. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2018.06.001>

SHIBATA, M. et al. Modified formalin test: Characteristic biphasic pain response. **Pain**, v. 38, n. 3, p. 347–352, 1989. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(89\)90222-4](https://doi.org/10.1016/0304-3959(89)90222-4)

SHIMIZU, T. et al. Reduction of TRPV1 expression in the trigeminal system by botulinum neurotoxin type-A. **Neurobiology of Disease**, v. 48, n. 3, p. 367–378, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2012.07.010>

SIDEBOTTOM, A. J.; PATEL, A. A.; AMIN, J. Botulinum injection for the management of myofascial pain in the masticatory muscles. A prospective outcome study. **British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 51, n. 3, p. 199–205, abr. 2013. <https://doi.org/10.1016/j.bjoms.2012.07.002>

SIM, W. S. Application of botulinum toxin in pain management. **Korean Journal of Pain**, v. 24, n. 1, p. 1–6, 2011. <https://doi.org/10.3344/kjp.2011.24.1.1>

STEIN, C. Opioid Receptors. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-062613-093100>, v. 67, p. 433–451, 14 jan. 2016

STEWART, W. F. et al. Cumulative lifetime migraine incidence in women and men. **Cephalalgia**, v. 28, n. 11, p. 1170–1178, 1 nov. 2008. <https://doi.org/10.1111/j.1468-2982.2008.01666.x>

TAL, M.; VILLANUEVA, L.; DEVOR, M. Anatomy and Neurophysiology of Orofacial Pain. Em: SHARAV YAIR; BENOLIEL RAFAEL (Eds.). **Orofacial Pain and Headache**. 2. ed. [s.l.] Quintessence, 2015. p. 31–69.

TJØLSEN, A. et al. Review Article The formalin test: an evaluation of the method. **Pain**, v. 51, n. 1, p. 5–17, 1992. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(92\)90003-T](https://doi.org/10.1016/0304-3959(92)90003-T)

VILLANUEVA, L.; NOSEDA, R. Trigeminal Mechanisms of Nociception. Em: MCMAHON, S. et al. (Eds.). **Wall and Melzack's Textbook of Pain**. 6. ed. [s.l.] Elsevier Saunders, 2013. p. 793–802.

VOS, T. et al. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. **Lancet (London, England)**, v. 390, n. 10100, p. 1211–1259, 16 set. 2017. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)32154-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)32154-2)

WANG, L. et al. Type A botulinum neurotoxin complex proteins differentially modulate host response of neuronal cells. **Toxicon**, v. 82, p. 52–60, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2014.02.004>

WHITCUP, S. M. The History of Botulinum Toxins in Medicine: A Thousand Year Journey. **Handbook of Experimental Pharmacology**, v. 263, p. 3–10, 2021. https://doi.org/10.1007/164_2019_271

WOOLF, C. J. What is this thing called pain? **Journal of Clinical Investigation**, v. 120, n. 11, p. 3742–3744, 1 nov. 2010. <https://doi.org/10.1172/JCI45178>

WU, T. H. et al. Risk of psychiatric disorders following trigeminal neuralgia: a nationwide population-based retrospective cohort study. **The journal of headache and pain**, v. 16, n. 1, 25 dez. 2015. <https://doi.org/10.1186/s10194-015-0548-y>

YUN, J. Y. et al. Dysport and Botox at a Ratio of 2.5:1 Units in Cervical Dystonia: A Double-Blind, Randomized Study. **Movement Disorders**, v. 30, n. 2, 2015. <https://doi.org/10.1002/mds.26085>

CAPÍTULO II

ARTIGO

Toxicon: X 12 (2021) 100083



Contents lists available at ScienceDirect

Toxicon: X

journal homepage: www.journals.elsevier.com/toxicon-x



Analgesic potential of different available commercial brands of botulinum neurotoxin-A in formalin-induced orofacial pain in mice

Thays Crosara Abrahão Cunha^{a,1}, Ana Claudia Gontijo Couto^{a,1}, Eduardo Januzzi^{b,c}, Rafael Tardin Rosa Ferraz Gonçalves^{b,c}, Graziella Silva^{b,c}, Cassia Regina Silva^{a,*}

^a Post-Graduated Program Genetics and Biochemistry, Institute of Biotechnology, Federal University of Uberlândia, Uberlândia, MG, Brazil

^b Post-Graduated Program Orofacial Pain, CIODONTO, Belo Horizonte, MG, Brazil

^c Orofacial Pain Department, Mater Dei Hospital, Belo Horizonte, MG, Brazil

ARTICLE INFO

Handling Editor: Dr. Glenn King

Keywords:

Pain
BoNT-A treatment
Migraine
BOTOX
Orofacial pain

ABSTRACT

The use of botulinum neurotoxin-A (BoNT-A) is an alternative for the management of orofacial pain disorders. Although only Botox has labeled, there are other commercial brands available for use, among them: Dysport, Botulift, Prosigne, and Xeomin. The objective of the present study was to evaluate the possible differences in the antinociceptive effect evoked by different commercially available formulations of BoNT-A in an animal model of inflammatory orofacial pain induced by formalin injection. Male C57/BL6 mice (20–25 g) were submitted to the pre-treatment with five different commercial brands of BoNT-A (Botox, Botulift, Xeomin, Dysport, or Prosigne; with doses between 0.02 and 0.2 Units of Botulinum Toxin, in 20 µL of 0.9% saline) three days prior the 2% formalin injection. All injections were made subcutaneously into the right perinasal area. After formalin injections, nociceptive behaviors like rubbing the place of injection were quantified during the neurogenic (0–5 min) and inflammatory (15–30 min) phases. The treatment using Botox, Botulift, and Xeomin were able to induce antinociceptive effects in both phases of the formalin-induced pain animal model, however, Dysport and Prosigne reduced the response in neither of them. Our data suggest that the treatment using different formulations of BoNT-A is not similar in efficacy as analgesics when evaluated in formalin-induced orofacial pain in mice.

1. Introduction

Pain is a common experience that has profound societal effects, with a greater prevalence in women that increases with age (Johannes et al., 2010). Orofacial pain (OFP) is extremely debilitating and refers to pain associated with the hard and soft tissues of the head, face, and neck (Groenewegen e Uylings, 2000), affecting about 26% of the population (Macfarlane et al., 2002). Anamnesis should be detailed, individualized, and comprehensive. Usually, the clinical approach is multidisciplinary, proportional to the degree and level of involvement and chronicization, always starting from less to more invasive interventions. The treatment for OFP conditions is a significant issue and a challenge for the health care services and pharmaceutical industry. Ruling out the possibility of toothache, management of OFP consists of stabilizing plaque, pharmacotherapy, physiotherapy, in addition to thermotherapy, laser, needling, or anesthetic trigger point infiltration are recommended and efficient

(Groenewegen e Uylings, 2000). However, some individuals are resistant and/or refractory to conventional approaches, motivating research in search of new therapeutic options, including the use of botulinum neurotoxin A (BoNT-A) (Chaurand et al., 2017; Schwartz e Freund, 2002; Scott et al., 2009; Sim, 2011).

Botulinum toxin is a neurotoxin produced by *Clostridium botulinum*, and there are seven (A – G) serotypes of botulinum toxin (Patil et al., 2016). The BoNT-A, initially intended to treat hyperactive movement disorders such as dystonia and blepharospasms, also demonstrated being effective to reduce dystonia-related pain and emerged as an alternative to treat chronic pain states as neuropathic pain, joint pain, back pain myofascial pain syndromes, migraine, and other headache types (Aoki, 2003; Dodick et al., 2010; Jankovic, 2018; Safarpour e Jabbari, 2018). The Food and Drug Administration approved the use of BoNT-A and BoNT-B for treatment in a variety of clinical and cosmetic conditions (Brin et al., 1989; Carruthers et al., 2002). In 2011, through the PREEMPT protocol, the BoNT-A onabotulinum toxin A from Botox® (Allergan,

* Corresponding author. Post-Graduated Program in Genetics and Biochemistry, Biotechnology Institute, Labitox Federal University of Uberlândia, Av. Pará 1720 - Campus Umuarama, Jardim Umuarama - Bloco 2E, Office room 224, 38408-100, Uberlândia, MG, Brazil.

E-mail address: cassia.regina@ufu.br (C.R. Silva).

¹ These authors equally contributed to this paper.

<https://doi.org/10.1016/j.toxcx.2021.100083>

Received 7 December 2020; Received in revised form 29 March 2021; Accepted 26 August 2021

Available online 2 September 2021

2590-1710/© 2021 The Authors. Published by Elsevier Ltd. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).