

Reconstituição da toxina botulínica: Impacto da temperatura sobre a eficiência e interação com a proteína snap-25 - revisão de literatura

Reconstitution of botulinum toxin: Impact of temperature on efficiency and interaction with snap-25 protein - literature review

Recebido: 15/07/2025 | Revisado: 11/08/2025 | Aceitado: 12/08/2025 | Publicado: 14/08/2025

Christopher Anderson de Oliveira¹

Faculdade São Leopoldo Mandic, Brasil

E-mail: cchrisoliveira@gmail.com

Roger Kirschner²

Faculdade São Leopoldo Mandic, Brasil

E-mail: kirschner.roger@uol.com.br

Pierangelo Angeletti³

Faculdade São Leopoldo Mandic, Brasil

E-mail: ethikaforense@gmail.com

Resumo

Este estudo objetiva fornecer uma análise sobre a reconstituição da toxina botulínica, por meio de um estudo de revisão bibliográfica integrativa. A toxina botulínica, amplamente utilizada em harmonização orofacial e outras aplicações clínicas, atua inibindo a liberação de acetilcolina através da clivagem da proteína, resultando em paralisia muscular temporária. Para maximizar a eficácia, é fundamental garantir condições ideais de reconstituição e armazenamento, com destaque para o uso de solução salina estéril entre 2°C-8°C. A metodologia empregada foi uma revisão integrativa baseada na estratégia PICO, com análise de publicações científicas relevantes entre 2018 e 2024. Os resultados confirmam que a estabilidade da toxina botulínica tipo A é sensível à temperatura e ao pH, sendo o intervalo refrigerado essencial para preservar sua estrutura e funcionalidade. Além disso, a interação com cofatores como o zinco influencia diretamente a eficácia na clivagem da SNAP-25. Os achados reforçam a necessidade de rigor técnico no manuseio da toxina botulínica tipo A, destacando lacunas na literatura sobre o impacto direto da temperatura na eficiência clínica. Sugere-se a realização de estudos experimentais adicionais para otimizar práticas de reconstituição e ampliar a compreensão sobre os efeitos bioquímicos da toxina em aplicações terapêuticas e estéticas.

Palavras-chave: Toxina Botulínica; Reconstituição; SNAP-25; Harmonização Orofacial.

Abstract

This study aims to provide an analysis of the reconstitution of botulinum toxin, through an integrative literature review. Botulinum toxin, widely used in orofacial harmonization and other clinical applications, acts by inhibiting the release of acetylcholine through the cleavage of the protein, resulting in temporary muscle paralysis. To maximize efficacy, it is essential to ensure optimal reconstitution and storage conditions, with emphasis on the use of sterile saline between 2°C-8°C. The methodology used was an integrative review based on the PICO strategy, with analysis of relevant scientific publications between 2018 and 2024. The results confirm that the stability of botulinum toxin type A is sensitive to temperature and pH, and the refrigerated interval is essential to preserve its structure and functionality. In addition, the interaction with cofactors such as zinc directly influences the cleavage efficacy of SNAP-25. The findings reinforce the need for technical rigor in the handling of botulinum toxin type A, highlighting gaps in the literature on the direct impact of temperature on clinical efficiency. It is suggested that additional experimental studies be carried out to optimize reconstitution practices and broaden the understanding of the biochemical effects of the toxin in therapeutic and aesthetic applications.

Keywords: Botulinum Toxin; Reconstitution; SNAP-25; Orofacial Harmonization.

¹ Especialista em implantodontia pela Universidade de Mogi das Cruzes e harmonização orofacial pela Faculdade SLMandic, Brasil.

² Pós-graduado em estética facial pelo Ibeco; especialista em harmonização orofacial; MBA em Visagismo pela Estácio de Sá; Mestre em odontologia pela SLMandic; Doutorando em clínicas odontológicas pela SLMandic e Coordenador de Pós Graduação em harmonização orofacial da SLMandic, Brasil.

³ Doutor pela Escola Paulista de Medicina – UNIFESP, Mestre em Odontologia Legal USP, Pesquisador Clínico e Orientador em harmonização orofacial SLMandic, Brasil.

1. Introdução

Este estudo tem como tema principal a reconstituição da toxina botulínica tipo A (BoNT/A), com ênfase no impacto da temperatura sobre a eficiência e interação com a *proteína Synaptosome-associated Protein de 25 kDa* (Snap-25), para tanto, é significativa uma breve apresentação da toxina botulínica, uma neurotoxina produzida pela bactéria *Clostridium botulinum*, que tem sido amplamente utilizada na harmonização orofacial (HOF) devido à sua capacidade de promover relaxamento muscular temporário (Andrade & Júnior, 2023).

Além dos benefícios estéticos, Gutierre, Suguihara e Muknicka (2023) ressaltam que a toxina botulínica desempenha um papel terapêutico significativo na odontologia. Sua aplicação tem mostrado eficácia no tratamento de condições como bruxismo e disfunções temporomandibulares, aliviando a tensão muscular excessiva na região facial e melhorando a qualidade de vida dos pacientes.

Cabe ressaltar ainda que a BoNT/A é fornecida em forma liofilizada e requer reconstituição com solução salina estéril antes do uso para sua aplicação clínica. E a precisão na reconstituição é fundamental para garantir a eficácia e segurança do tratamento, pois concentrações inadequadas podem comprometer os resultados desejados (Moreto, 2024).

Dessa forma, a relação entre a diluição da BoNT/A e seu mecanismo de ação envolve considerações sobre a dispersão da toxina nos tecidos e a área de efeito clínico. Embora a diluição não altere o mecanismo molecular intrínseco da BoNT/A, ou seja, a clivagem da proteína SNAP-25, impedindo a liberação de acetilcolina, resultando em paralisia muscular temporária, ela influencia a extensão e a intensidade dos efeitos clínicos. Diluições menores (maior concentração) tendem a limitar a difusão da toxina, permitindo uma ação mais localizada, enquanto diluições maiores (menor concentração) podem resultar em uma dispersão mais ampla, afetando áreas maiores. Portanto, a escolha da diluição deve ser cuidadosamente considerada pelo profissional de saúde para alinhar os resultados clínicos desejados com a segurança do paciente (Dressler; Saberi & Barbosa 2005).

O mecanismo de ação da BoNT/A envolve a inibição da liberação de acetilcolina nas terminações nervosas, resultando em paralisia muscular temporária. Especificamente, a toxina cliva a proteína SNAP-25, que é essencial para a fusão das vesículas sinápticas com a membrana plasmática neuronal. Essa clivagem impede a exocitose de neurotransmissores, bloqueando a transmissão neuromuscular (Dressler; Saberi & Barbosa 2005).

Estudos, como os de Aversa, Hassunuma e Garcia (2022) utilizando bioinformática têm aprofundado a compreensão da interação entre a BoNT/A e a SNAP-25. Essas análises estruturais revelam detalhes sobre regiões de interação e os mecanismos moleculares envolvidos na clivagem da SNAP-25 pela toxina, contribuindo para o desenvolvimento de inibidores específicos ou antídotos.

A aplicação clínica da BoNT/A, portanto, requer que os profissionais de saúde possuam conhecimento detalhado sobre sua reconstituição, dosagem e mecanismo de ação. A compreensão da interação específica entre a toxina e a SNAP-25 é crucial para otimizar os resultados terapêuticos e minimizar potenciais efeitos adversos, garantindo a segurança e eficácia dos procedimentos realizados (Miranda, 2024).

Este estudo objetiva fornecer uma análise sobre a reconstituição da toxina botulínica, por meio de um estudo de revisão bibliográfica. Buscamos comprovar, nos estudos já publicados, se a hipótese de que a reconstituição da toxina botulínica com soro fisiológico na temperatura de 2°C a 8°C, ou seja, gelado quando comparado à temperatura ambiente de 15°C a 30°C, pode otimizar sua estabilidade e eficácia terapêutica ao interagir com a proteína SNAP-25, promovendo resultados clínicos mais seguros e duradouros.

2. Metodologia

Realizou-se uma pesquisa de natureza quantitativa em relação à quantidade de artigos selecionados e, de natureza qualitativa em relação à discussão realizada em relação aos artigos selecionados (Pereira et al., 2018; Gil, 2017)

A presente revisão integrativa foi iniciada com o uso estratégia de formulação da questão clínica: PICO (Santos; Pimenta & Nobre, 2007). Sendo que, P remete aos pacientes ou população de interesse, no caso deste estudo, profissionais da área médica e estética que utilizam a toxina botulínica para tratamentos terapêuticos e cosméticos, bem como pacientes que se beneficiam desses tratamentos; I à intervenção clínica, ou seja, a reconstituição da toxina botulínica, considerando o impacto da temperatura sobre sua estabilidade e interação com a proteína SNAP-25; C engloba a comparação com uma situação anterior ou diferente, assim, a Comparação entre a reconstituição da toxina com soro fisiológico gelado versus outras condições de armazenamento e reconstituição (como soro fisiológico em temperatura ambiente ou quente) e os efeitos sobre a estabilidade, eficácia e segurança da toxina; e O de *outcomes*, ou resultados esperados, avaliação da eficácia terapêutica, estabilidade da toxina botulínica e a qualidade dos resultados clínicos, com ênfase na interação com a proteína SNAP-25 e os efeitos na harmonização orofacial.

Tais objetivos visam comprovar a hipótese deste trabalho de que a reconstituição da toxina botulínica com soro fisiológico gelado pode otimizar sua estabilidade e eficácia terapêutica ao interagir com a proteína SNAP-25, promovendo resultados clínicos mais seguros e duradouros.

O levantamento bibliográfico foi realizado nas bases de dados: Biblioteca Virtual em Saúde; *Scientific Electronic Library Online* (SciELO); Biblioteca Digital Brasileira de Teses e Dissertações (BDTD); e PubMed. Os descritores utilizados foram: Toxina Botulínica. Reconstituição. Temperatura. SNAP-25. Harmonização Orofacial.

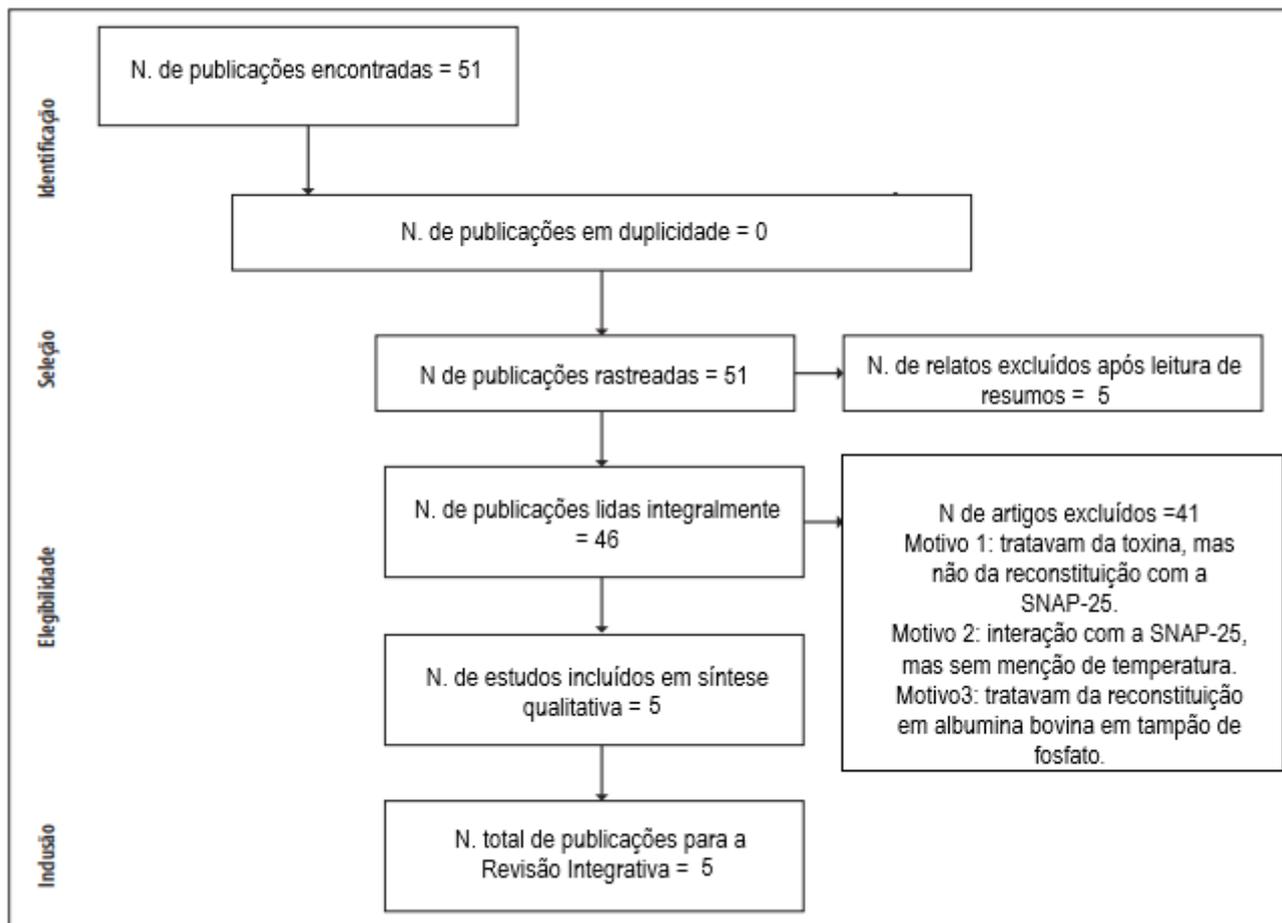
Os critérios de inclusão foram: publicações redigidas nas línguas portuguesa e inglesa; publicadas entre janeiro de 2018 e outubro de 2024; com texto completo disponível de forma gratuita.

Os critérios de exclusão foram: pré-projetos de pesquisa; material publicado sem rigor acadêmico científico; publicações anteriores ao período destacado; e que não respondem à questão norteadora do trabalho.

3. Resultados

Os resultados das buscas foram expostos no diagrama abaixo, de acordo com o *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses of Individual Participant Data* (PRISMA-IPD). A seguir, a Figura 1 apresenta o diagrama de fluxo PRISMA-IPD.

Figura 1 - Diagrama de fluxo PRISMA-IPD.



Fonte: Elaborado pelos Autores, com base no PRISMA-IPD (2025).

A busca nas bases de dados foi iniciada com o filtro de periodicidade, a fim de pré-selecionar publicações de 2018 a 2024. A Scielo não retornou nenhum resultado para os descritores: Toxina Botulínica AND Reconstituição AND Temperatura AND SNAP-25 AND Harmonização Orofacial, foram utilizados ainda os termos em inglês e a redução para dois termos: Toxina Botulínica AND SNAP-25, que também não reportou resultados. A pesquisa na PubMed retornou apenas 23 resultados, e estes não abrangeram todos os descritores. O uso combinado dos descritores com operador booleano não gerou resultados positivos. Ou seja, os resultados foram encontrados exclusivamente ao utilizar a combinação de Toxina Botulínica AND SNAP-25. Diante disso, optou-se por uma base mais ampla, o Google Acadêmico, que foi a única base de dados que retornou publicações com a utilização de todos os descritores e o operador booleano AND, reportando 28 resultados. Assim, chegamos ao total de 51 publicações elegíveis para esta revisão integrativa.

Após essa etapa, foram excluídas as publicações em duplicidade. Foram lidos os títulos e resumos e excluídas 05 publicações. Foram lidas 46 publicações completas e destas foram excluídas 41, pois ou tratavam da toxina, mas não de sua reconstituição e interação com a SNAP-25, ou não mencionavam nenhuma relação com a temperatura, ou ainda tratavam de reconstituição da toxina com albumina bovina em tampão de fosfato não utilizada clinicamente em humanos.

É preciso ressaltar que, os resultados não tratavam especificamente da reconstituição da toxina botulínica e do impacto da temperatura sobre a eficiência e interação com a proteína SNAP-25, há uma lacuna de estudos científicos específicos sobre essa temática e mesmo nos poucos estudos encontrados esta foi uma temática secundária, embora de grande importância para o uso eficaz da toxina botulínica.

As informações referentes à identificação dos estudos selecionados estão apresentadas no Quadro 1, abaixo e, trazem as seguintes informações: título do artigo autores, ano, língua original, objetivo do estudo, método científico e resultados.

Quadro 1 – Dados resultantes da revisão integrativa.

	Título/ autores/ ano/ idioma	Objetivo	Metodologia	Resultados
1	O farmacêutico e suas contribuições com saúde estética Bruna Sant Anna Soares 2022 Língua Portuguesa	Descrever como o profissional farmacêutico pode atuar no ramo de estética.	Revisão não sistemática	O papel do farmacêutico na estética foi enfatizado, com abordagem da aplicação da BoNT/A. Esta deve ser reconstituída com soro fisiológico 0,9% e seu armazenamento foi considerado adequado entre 2°C e 8°C. A ação da toxina na clivagem da proteína SNAP-25 foi constatada, bloqueando a liberação de acetilcolina para paralisia muscular temporária, essencial em tratamentos estéticos, como redução de rugas.
2	A otimização dos resultados da denervação muscular química através da reconstituição da toxina botulínica do tipo A em veículo fisiológico estéril injetável enriquecido com Zinco Marco Antonio Matrone; Marcia Maria Gomes da Costa; Marília Capelli Barca; Taynan Rodrigues Matrone; Kiroit Ikeoka 2022 Língua Portuguesa	Melhorar a eficácia da toxina botulínica tipo A (TBA) em tratamentos de denervação muscular química, propondo um veículo injetável enriquecido com zinco e pH ajustado (~5,0) como alternativa ao soro fisiológico convencional (pH 6,2), além de identificar e corrigir lacunas técnicas relacionadas ao pH e ao zinco.	Estudo Teórico e Experimental	A solução salina enriquecida com zinco (pH ~5,0) aumentou a eficácia e estabilidade da TBA, corrigindo lacunas técnicas de pH e zinco, essenciais para a clivagem da SNAP-25. A temperatura controlada (2°C a 8°C) foi crucial para preservar a eficácia, prolongar os efeitos terapêuticos e reduzir a frequência de aplicações.
3	O uso de toxina botulínica tipo A no tratamento de rugas dinâmicas periorbitais Nathália Laboissière Cardoso 2020 Língua Portuguesa	Analisar a eficácia do tratamento estético com a toxina botulínica tipo A para rugas dinâmicas periorbitais, abordando os processos de preparação, os potenciais riscos envolvidos e os mecanismos de ação envolvidos na sua aplicação.	Revisão Narrativa	A toxina apresenta um avanço na estética por sua eficácia e segurança, entretanto, seguir os protocolos e o conhecimento anatômico são cruciais para realizar o melhor tratamento.
4	OnabotulinumtoxinA effects on trigeminal nociceptors Ashley A Moore; Mariana Nelson; Christopher Wickware; Shinbe Choi; Gene Moon; Emma Xiong; Lily Orta; Amy Brideau-Andersen; Mitchell F Brin; Ron S Broide; Wolfgang Liedtke; Carlene Moore 2023 Língua Inglesa	Investigar os efeitos do onabotulinumtoxinA (onabotA) sobre os neurônios sensoriais do gânglio trigeminal em condições sensibilizadas, especialmente sua capacidade de modular os canais TRPV1 e TRPA1 e a clivagem da proteína SNAP-25.	Estudo Experimental	Os resultados destacam que a reconstituição e manipulação adequada do onabotA são cruciais para sua eficácia, especialmente em condições sensibilizadas. A toxina demonstrou capacidade de clivar a proteína SNAP-25 de forma significativa, com maior impacto em condições de inflamação simulada (sopa inflamatória). A temperatura de armazenamento adequada (2°C a 8°C) foi essencial para preservar a estrutura e funcionalidade da toxina, garantindo sua interação eficiente com o complexo SNARE e a SNAP-25. Além disso, o onabotA modulou os canais TRPV1 e TRPA1 ao inibir o tráfego dependente de SNAP-25, reduzindo a liberação de mediadores inflamatórios como CGRP e PGE2.
5	Toxina botulínica: mecanismos de ação e aplicações estéticas Miriã Thrinya Madeira	Compreender os mecanismos de ação da BoNT/A, quando utilizada em aplicações estéticas nos músculos faciais.	Revisão Bibliográfica Descritiva	A BoNT/A é amplamente utilizada em procedimentos estéticos para suavizar rugas dinâmicas e estáticas, proporcionando paralisia muscular temporária com efeitos que duram de 3

	Miranda 2022 Língua Portuguesa	Aborda aspectos complementares essenciais, como reconstituição, armazenamento, imunogenicidade, técnicas de aplicação, e suas indicações e contraindicações	a 6 meses. Sua reconstituição deve ser realizada com solução salina 0,9% estéril, sendo essencial o armazenamento entre 2°C e 8°C e o uso em até 24 horas para preservar sua eficácia. O mecanismo de ação envolve a clivagem da proteína SNAP-25, bloqueando a liberação de acetilcolina e reduzindo a atividade muscular. A toxina é eficaz no tratamento de rugas glabellares, frontais e periorbitais, desde que aplicada com técnicas precisas para evitar complicações, como ptose palpebral, que podem ocorrer devido à dosagem ou manipulação inadequada. Profissionais capacitados são fundamentais para assegurar segurança e resultados satisfatórios.
--	--	---	---

Fonte: Elaborado pelos Autores.

4. Reconstituição e Armazenamento

Os achados foram unânimes em demonstrar que, a toxina botulínica tipo A (BoNT/A), mais utilizada em procedimentos de harmonização orofacial é, predominantemente, fornecida em pó e precisa ser reconstituída antes do uso com solução de cloreto de sódio a 0,9% sem conservantes. A solução salina convencional apresenta um pH em torno de 6,2, enquanto a toxina botulínica é mais estável em pH 5,0, que melhora sua ação proteolítica e a manipulação deve evitar agitação excessiva para não danificar a estrutura da toxina (Moore et al., 2023; Soares, 2022; Matrone et al., 2022; Cardoso, 2020).

A pesquisa de Soares (2022) indica que, apesar de ser considerada frágil após a reconstituição, sua potência pode ser mantida por até seis semanas com armazenamento adequado, mesmo sob agitação. Matrone et al. (2022) complementa ainda que há propostas de reconstituição com o uso de soluções enriquecidas com zinco para aumentar a estabilidade e eficácia.

Assim, a pesquisa de Matrone et al. (2022) está em concordância com a de Cardoso (2020), que destaca o papel do zinco como um cofator essencial para a atividade proteolítica da cadeia leve (Lc) da BoNT/A, que cliva a proteína SNAP-25. Essa clivagem é fundamental para o bloqueio da liberação de acetilcolina na junção neuromuscular.

A Lc da BoNT/A é uma metaloendopeptidase que depende do zinco para sua função catalítica. A ausência ou perda do zinco pode comprometer a eficiência da toxina na clivagem da SNAP-25. O papel do zinco na estrutura e função da Lc da BoNT/A é, portanto, indispensável para sua ação enzimática (Cardoso, 2020).

Dessa forma, a eficácia da toxina botulínica é mantida quando esta é manipulada e armazenada em condições controladas de temperatura, ou seja, 2°C a 8°C e em solução isotônica com pH próximo ao fisiológico. Essas alterações nesses parâmetros podem comprometer a estabilidade da toxina, sua capacidade de reconhecer a SNAP-25 e sua ação terapêutica (Moore et al., 2023; Soares, 2022).

Moore et al. (2023) complementa ainda que, após a reconstituição onabotA, uma forma farmacêutica específica do BoNT/A, aprovada para uso clínico e estético, o tempo ideal para uso da toxina não deve ultrapassar as recomendações do fabricante, uma vez que a estabilidade da proteína diminui rapidamente fora dessas condições. Cardoso (2020) complementa e justifica o armazenamento nas temperaturas acima indicadas, pois a BoNT/A é termolábil, ou seja, perde suas propriedades em temperaturas inadequadas, devendo ainda ser utilizada dentro de 4 horas após a reconstituição para garantir sua eficácia.

5. Impacto da Temperatura

Os achados também mostraram unanimidade ao destacar que em temperaturas extremas a eficácia da BoNT/A pode ser reduzida significativamente. A desnaturação ocorre em temperaturas acima de 80 °C, o que torna crucial o armazenamento

sob condições refrigeradas, entre 2°C e 8°C, para manter sua potência (Moore et al., 2023; Soares, 2022; Matrone et al., 2022, Miranda; 2024; Cardoso 2020).

Convém acrescentar que a estabilidade da Lc, que realiza a clivagem da SNAP-25, é particularmente sensível a variações de temperatura, com alterações observadas em experimentos realizados fora do intervalo de temperatura recomendado (2°C a 8°C). Mesmo exposições breves devem ser evitadas, isto, pois, temperaturas elevadas causam desnaturação da Lc, tornando-a inativa e temperaturas muito baixas podem alterar irreversivelmente a estrutura tridimensional da onabotA, tornando-a incapaz de clivar a proteína-alvo, no caso a SNAP-25 (Moore et al., 2023; Miranda, 2024).

Em concordância com Soares (2022), a pesquisa de Matrone et al. (2022) destaca que quando o soro fisiológico for enriquecido de Zinco, a molécula de toxina fica dependente do zinco para sua função proteolítica. Durante o manuseio, a perda do átomo de zinco pode inativar a toxina, tornando-a incapaz de clivar a SNAP-25. E a proporção de moléculas ativas (com zinco) e inativas (sem zinco) depende da temperatura e do tempo de armazenamento, pois temperaturas inadequadas podem acelerar a perda do zinco, tornando a toxina inativa antes de atingir seu alvo terapêutico.

6. Interação com a Proteína SNAP-25

De acordo com Soares (2022), a BoNT/A exerce seu efeito ao clivar a proteína SNAP-25, essencial para o processo de exocitose sináptica. Isto, pois, a SNAP-25 faz parte de um complexo de proteínas chamado *Soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor Attachment Protein Receptor* (SNARE), que é responsável pela fusão de vesículas sinápticas com a membrana pré-sináptica.

Essa fusão é necessária para a liberação do neurotransmissor acetilcolina, que sinaliza a contração muscular, uma vez que a BoNT/A é composta por duas cadeias principais: a pesada, que permite a entrada da toxina no interior dos neurônios; e a leve, que atua como uma enzima que cliva especificamente a SNAP-25 (Soares, 2022).

A toxina botulínica cliva a SNAP-25 através da ação de sua Lc, que funciona como uma endopeptidase dependente de zinco. Assim, a clivagem é altamente específica e ocorre dentro do complexo SNARE, impedindo a liberação de acetilcolina e resultando em paralisia muscular (Matrone, 2022).

Quando a SNAP-25 é clivada pela toxina, o complexo SNARE é desativado. Isso impede a liberação de acetilcolina na junção neuromuscular, resultando em paralisia muscular temporária. A toxina reconhece e interage com a SNAP-25 de maneira altamente específica devido à complementaridade estrutural. Pequenas alterações na estrutura da toxina ou da proteína-alvo podem comprometer essa interação (Soares, 2022).

As citadas alterações envolvem a exposição a temperaturas elevadas, que podem desnaturar a toxina, alterando sua estrutura tridimensional e, conseqüentemente, sua capacidade de clivar a SNAP-25. Já as temperaturas extremamente baixas podem retardar ou interromper a atividade catalítica da cadeia leve, prejudicando a ação da toxina (Soares, 2022).

O exposto segue em conformidade com a pesquisa de Moore et al. (2023), pois essas exposições inadequadas de temperatura, mesmo que muito breves, reduzem a eficácia terapêutica da toxina bem como sua clivagem com a proteína SNAP-25, que é crucial para a liberação de neurotransmissores como a acetilcolina. Esse efeito resulta na interrupção da transmissão sináptica, causando a paralisia muscular temporária, objetivo clínico da Harmonização Orofacial.

O pH também pode afetar a carga das moléculas envolvidas e pode modificar a interação entre a BoNT/A e a proteína SNAP-25. Um ambiente fora do pH fisiológico (aproximadamente 7,4) pode alterar a eficiência da clivagem (Soares, 2022).

A pesquisa de Moore et al. (2023) ainda se faz significativa por detalhar a capacidade modulatória da onabotA sobre *Transient Receptor Potential Vanilloid 1* (TRPV1), um receptor que responde a estímulos térmicos (calor acima de 42°C), químicos (como capsaicina, encontrada em pimentas) e condições ácidas (pH baixo) e está associado à percepção de dor aguda

e inflamação crônica. E a capacidade modular da toxina com relação ao *Transient Receptor Potential Ankyrin 1* (TRPA1), um receptor ativado por estímulos químicos irritantes (como compostos pungentes encontrados no alho, mostarda, e fumaça de cigarro) e por estímulos mecânicos e térmicos, que desempenha um papel importante em condições de dor crônica e inflamação, especialmente em situações de hiperalgesia (Moore, 2023).

Assim, o onabotA reduz a expressão funcional dos canais TRPV1 e TRPA1 na membrana neuronal ao inibir o transporte mediado pelo complexo SNARE, do qual a proteína SNAP-25 é uma parte crucial. O onabotA atenua o influxo de cálcio nesses canais, reduzindo a ativação dos neurônios sensoriais e a consequente liberação de neuropeptídeos como o *Calcitonin Gene-Related Peptide* (CGRP) e a Prostaglandina E2 (PGE2). Isso resulta na diminuição da transmissão de sinais de dor e no alívio dos sintomas de condições como enxaqueca crônica. Ao modular os canais TRPV1 e TRPA1 na periferia, o BoNT/A também reduz a sensibilização central, que ocorre devido ao aumento contínuo da sinalização dolorosa (Moore, 2023).

7. Discussão

Com base nos resultados foi possível ter um panorama mais amplo sobre a reconstituição adequada da toxina botulínica tipo A (BoNT/A) e sua eficácia terapêutica, especialmente em tratamentos estéticos e neurológicos, uma vez que a estabilidade e a interação com a proteína SNAP-25, essencial para a ação da toxina, são altamente dependentes das condições de manuseio. Nesse sentido, a pesquisa evidenciou que a reconstituição em soro fisiológico a 0,9%, sem conservantes, é um procedimento padrão adotado por diversos autores (Moore et al., 2023; Soares, 2022).

Contudo, é preciso considerar que o pH da solução e as condições de temperatura durante a reconstituição são fatores críticos para a manutenção da potência da toxina. Estudos como os de Matrone et al. (2022) e Cardoso (2020) apontam que a BoNT/A é mais estável em soluções com pH próximo a 5,0, sendo sensível a mudanças tanto em pH quanto em temperatura. A estabilidade da toxina pode ser comprometida se armazenada ou manipulada fora das condições ideais, como temperaturas inadequadas (entre 2°C e 8°C), que podem comprometer a sua estrutura e, conseqüentemente, a sua capacidade de clivar a SNAP-25, afetando a eficácia clínica (Moore et al., 2023).

A temperatura, de fato, desempenha um papel crucial na estabilidade da toxina, com os estudos de Moore et al. (2023) e Soares (2022) concordando que temperaturas extremas, seja altas ou baixas, podem prejudicar a estrutura da toxina. A exposição a temperaturas acima de 80°C pode desnaturar a toxina botulínica, enquanto temperaturas muito baixas podem comprometer a estrutura tridimensional da proteína, tornando-a incapaz de interagir de forma eficaz com a SNAP-25 (Moore et al., 2023).

A perda de zinco, essencial para a atividade da cadeia leve (Lc) da toxina, também pode ocorrer devido ao armazenamento inadequado, diminuindo ainda mais a capacidade da toxina de clivar a SNAP-25 (Matrone et al., 2022). Esse efeito é particularmente relevante para a aplicação clínica, onde a toxina precisa manter sua atividade por um período prolongado após a reconstituição. A literatura sugere que, mesmo pequenas variações de temperatura podem alterar a eficácia do tratamento, reforçando a importância do controle rigoroso das condições de armazenamento e manuseio da toxina (Moore et al., 2023; Soares, 2022).

A interação da toxina botulínica com a proteína SNAP-25 é o mecanismo central que permite a BoNT/A exercer seu efeito de paralisia muscular. A clivagem da SNAP-25 impede a liberação de acetilcolina na junção neuromuscular, resultando na paralisia temporária, que é o efeito terapêutico desejado, especialmente em tratamentos estéticos (Soares, 2022; Moore et al. 2023).

A cadeia leve da BoNT/A, que possui a função de clivar a SNAP-25, é uma metaloendopeptidase que depende de zinco para sua ação catalítica. A importância desse cofator é destacada por Cardoso (2020), que afirma que a perda do zinco pode comprometer a eficiência da toxina, tornando-a ineficaz no bloqueio da liberação de acetilcolina. Assim, tanto a temperatura quanto o tempo de armazenamento afetam diretamente a estabilidade do zinco e, conseqüentemente, a interação da toxina com a SNAP-25 (Matrone et al., 2022).

Além disso, a pesquisa de Moore et al. (2023) corrobora a ideia de que o impacto da temperatura não se limita à estabilidade da toxina, mas também interfere na eficiência da clivagem da SNAP-25. Temperaturas elevadas podem desnaturar a toxina e alterar sua estrutura, tornando-a incapaz de clivar a proteína alvo, enquanto temperaturas baixas podem desacelerar a atividade catalítica da cadeia leve da toxina, prejudicando a eficácia terapêutica (Moore et al., 2023; Soares, 2022). Portanto, o controle rigoroso da temperatura, como recomendado pelos estudos revisados, é essencial para garantir que a toxina botulínica continue eficaz no tratamento de condições como a hipercinesia facial e a distonia muscular.

Em relação à eficácia terapêutica, é relevante observar que a manipulação adequada da toxina botulínica, especialmente em condições controladas de temperatura, é um fator que pode otimizar os resultados clínicos. As evidências indicam que, ao manter a toxina em soluções com pH equilibrado e em temperaturas apropriadas, é possível maximizar sua interação com a SNAP-25, resultando em uma clivagem eficaz e, conseqüentemente, em uma melhor resposta terapêutica (Moore et al., 2023; Soares, 2022).

A revisão da literatura e os achados dos estudos indicam que, embora os resultados sobre a reconstituição da toxina botulínica e o impacto da temperatura sejam, em grande parte consensuais, as variáveis de diluição, tipo de diluente e tempo de armazenamento ainda são temas de debate. A temperatura e o pH são parâmetros críticos que influenciam diretamente a estabilidade da toxina e sua capacidade de interação com a proteína SNAP-25, e devem ser controlados rigorosamente durante os procedimentos terapêuticos e cosméticos (Moore et al., 2023; Cardoso, 2020).

8. Conclusão

O objetivo geral de analisar como as condições de reconstituição, com ênfase na temperatura, influenciam a eficiência e estabilidade da toxina botulínica tipo A (BoNT/A) e sua interação com a proteína SNAP-25, bem como os objetivos específicos de demonstrar os mecanismos bioquímicos que envolvem a interação da toxina botulínica com a SNAP-25 e como esses mecanismos impactam sua ação terapêutica; avaliando as condições ideais de reconstituição e armazenamento, considerando o impacto da temperatura sobre sua estabilidade foram atendidos pela presente pesquisa. A hipótese inicial, de que a reconstituição com soro fisiológico gelado (2°C a 8°C) melhora a estabilidade e eficácia da toxina ao interagir com a SNAP-25, foi explorada em detalhes e parcialmente confirmada pelas evidências.

Os resultados confirmam que a reconstituição em temperaturas controladas (2°C a 8°C) é fundamental para preservar a estrutura e a função da BoNT/A. A toxina demonstra maior estabilidade em pH próximo a 5,0, e o uso de diluentes adequados é crucial para sua eficácia. Foi identificado que a temperatura de reconstituição e armazenamento afeta diretamente a funcionalidade da cadeia leve (Lc) da toxina, responsável pela clivagem da SNAP-25. Além disso, condições inadequadas de temperatura podem comprometer a interação entre a toxina e a proteína, reduzindo sua eficácia terapêutica e o tempo de ação.

Embora tenha sido possível consolidar uma base teórica robusta sobre o impacto da temperatura na reconstituição e estabilidade da BoNT/A, houve uma escassez de estudos experimentais específicos que tratassem diretamente da influência da temperatura sobre a clivagem da SNAP-25 em diferentes condições. Muitos estudos tratam do tema de maneira indireta, o que limita a análise mais aprofundada de variáveis importantes, como a duração ideal de uso após a reconstituição e os impactos de pequenos desvios de temperatura.

Recomenda-se que estudos futuros sejam conduzidos com foco experimental para avaliar diretamente a interação entre a BoNT/A e a SNAP-25 sob diferentes condições de temperatura e diluição. Pesquisas que explorem novas formulações estabilizadas da toxina, bem como diluentes com propriedades otimizadas, também podem contribuir significativamente para avanços terapêuticos. Além disso, o desenvolvimento de protocolos específicos para situações clínicas que exijam armazenamento prolongado ou múltiplas aplicações da toxina seria uma contribuição relevante para a área.

Este trabalho reforça a importância de condições controladas de manipulação e armazenamento para a eficácia clínica da BoNT/A, contribuindo para práticas mais seguras e eficazes no campo da HOF.

Referências

- Andrade, D. C. M. & Junior, J. P. M. (2023). O uso de toxina botulínica tipo A na harmonização orofacial: revisão de literatura. *FACSETE Health Sciences*. 2(2). <https://facsete.com.br/revista/index.php/FACSETEHealthSciences/article/view/36/48>.
- Aversa, F. P. C., Hassunuma, R. M. & Garcia, P. C. (2022). Usando a bioinformática para compreender a inibição da proteína SNAP-25 pela toxina botulínica do sorotipo A. *Revista Multidisciplinar de Educação e Meio Ambiente*. <https://ime.events/iii-conbracib/pdf/6533>.
- Bardin L. (1977). *Análise de conteúdo*. Edições 70.
- Cardoso, N. L. (2020). O uso de toxina botulínica tipo A no tratamento de rugas dinâmicas periorbitais. [Trabalho de Conclusão de Curso]. <https://repositorio.uniceub.br/jspui/handle/prefix/15042>.
- Crossetti, M. O. (2012). Revisão integrativa de pesquisa na enfermagem: o rigor científico que lhe é exigido. *Revista Gaúcha de Enfermagem*. 33(2):8-9. <https://www.scielo.br/j/rgenf/a/9TrSVHTDtDGhcP5pLvGnt5n/?lang=pt&format=pdf>.
- Dressler, D., Saberi, F. A. & Barbosa, E. R. (2005). Botulinum Toxin Mechanisms of Action. *Arq Neuropsiquiatr*. 63(1):180-5. <https://www.scielo.br/j/anp/a/W8GxPmf8mkb7cz4tXb3bWMt/?format=pdf&utm>.
- Gil, A. C. (2017). *Como elaborar projetos de pesquisa*. (6ed). Editora Atlas.
- Gutierrez, T. C. M., Suguihara, R. T. & Muknicka, D. P. (2023). Toxina botulínica terapêutica na harmonização orofacial. 12(12). <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/44066>.
- Matrone, M. A., Costa, M. M. G., Barca, M. C., Matrone, T. R. & Ikeoka, K. (2022). A otimização dos resultados da denervação muscular química através da reconstituição da toxina botulínica do tipo A em veículo fisiológico estéril injetável enriquecido com zinco. *Health & Society*. 2(01), 38-63.
- Miranda, M. T. M. (2024). Toxina botulínica: mecanismos de ação e aplicações estéticas. [Trabalho de Conclusão de Curso]. <https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/67d3096c-a08a-4b20-9137-f23dee9ca7f5/content>.
- Moore, A. A., Nelson, M., Wickware, C., Choi, S., Moon, G., Xiong, E., Orta, L., Brideau-Andersen, A., Brin, M. F., Broide, R. S., Liedtke, W. & Moore, C. (2023). OnabotulinumtoxinA effects on trigeminal nociceptors. *Cephalalgia*;43(2):3331024221141683. doi: 10.1177/03331024221141683. PMID: 36751871; PMCID: PMC10652784. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36751871/>
- Moreto, M. E. G. (2024). Efeitos Adversos da Toxina Botulínica na Harmonização Orofacial: Revisão narrativa de literatura. [Trabalho de Conclusão de Curso]. https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/261890/ilovepdf_merged%20%281%29%20%282%29.pdf?sequence=3&isAllowed=y.
- Oermann, M. F. (2020). *A Step-by-Step Guide to Conducting an Integrative Review*. Springer Nature Switzerland AG; 2020. 106 p. In: Toronto CE, Remington R, editors. <https://dl.uswr.ac.ir/bitstream/Hannan/141158/1/9783030375034.pdf>.
- Pereira A. S. et al. (2018). *Metodologia da pesquisa científica*. [free e-book]. Editora da UAB/NTE/UFSM.
- Santos, C. C., Pimenta, C. A. M. & Nobre, M. R. C. (2007). A estratégia PICO para a construção da pergunta de pesquisa e busca de evidências. *Revista Latino-americana de Enfermagem*. 15(3), 508-11. <https://www.revistas.usp.br/rlae/article/view/2463/2851>.
- Soares, B. S. (2022). O farmacêutico e suas contribuições com a saúde estética. [Trabalho de Conclusão de Curso]. *Anhanguera de Rio Grande, Rio Grande*. <https://repositorio.pgsscogna.com.br/bitstream/123456789/64993/1/Bruna.pdf>.
- Souza, L. M., Marques-Vieira, C. M. A., Severino, S. S. P. & Antunes, A. V. (2017). A metodologia de revisão integrativa da literatura em enfermagem. *Revista Investigação em Enfermagem*. 2(21): 17-26. https://www.researchgate.net/publication/321319742_Metodologia_de_Revisao_Integrativa_da_Literatura_em_Enfermagem
- Torraco, R. J. (2016). Writing Integrative Reviews of the Literature: Methods and Purposes. *Human Resource Development Review*. 7(3), 62–70. Doi: <http://doi.org/10.4018/IJAVET.2016070106>. <https://sageprofessor.com/wp-content/uploads/2017/10/writing-integrative-reviews-of-the-literature-methods-and-purposes.pdf>. 1