



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

TRABAJO FIN DE GRADO

TÍTULO:

**ASPECTOS GENERALES Y APLICACIONES
TERAPÉUTICAS DE LA TOXINA BOTULÍNICA.**

Autor: Lucía Aguiar Marina

Fecha: Julio 2019

Tutor: Rebeca María del Mar Alonso Monge

Índice

1	RESUMEN	3
2	ABSTRACT.....	3
3	INTRODUCCIÓN.....	4
3.1	Endotoxinas.....	4
3.2	Exotoxinas	4
3.3	Clostridium botulinum.....	5
3.4	Botulismo.....	6
4	OBJETIVOS	9
5	METODOLOGÍA	9
6	RESULTADO Y DISCUSIÓN.....	10
7	CONCLUSIONES	19
8	BIBLIOGRAFÍA.....	20

1 RESUMEN

La toxina botulínica, producida por un bacilo Gram positivo conocido como *Clostridium botulinum*, es una de las toxinas más potentes existentes en la actualidad, de modo que una mínima cantidad podrá desencadenar la aparición de la enfermedad, e incluso la muerte del afectado. Su fuerte efecto neurotóxico está basado en la inhibición de la propagación del impulso nervioso a la placa motora debido al bloqueo de la liberación de acetilcolina al espacio sináptico, dando lugar así a una parálisis flácida generalizada, conocida con el nombre de botulismo. Dicha enfermedad podrá producirse como consecuencia de la entrada de la toxina en el organismo por diferentes vías, siendo la más habitual la alimentaria.

A pesar de su elevada toxicidad, el potencial de la toxina para inducir una parálisis muscular ha resultado ser de gran utilidad en varias enfermedades, especialmente en aquellas que cursan con hipersecreciones glandulares, hiperexcitabilidad o espasticidad muscular. Además, aunque el mecanismo de acción ha sido menos estudiado, también ha demostrado tener cierto efecto contra el dolor.

Es por ello que la toxina botulínica cuenta en la actualidad con numerosas aplicaciones terapéuticas, constituyendo un tratamiento seguro y eficaz en varias enfermedades para las que su uso ya ha sido aprobado. De ahí la importancia de promover una mayor investigación sobre su posible utilidad en muchas otras afecciones, con vistas a ampliar el abanico terapéutico de la toxina.

Palabras clave: toxina botulínica, botulismo, neurotoxina.

2 ABSTRACT

Botulinum toxin is one of the most potent toxins known nowadays, this implies that the smallest quantity can lead to the development of the disease and in extreme cases the patient's death. It is produced by *Clostridium botulinum*, a gram-positive bacillus. Its strong neurotoxic effect is based on the inhibition of the nerve impulse propagation to the motor plate due to the blockade of the release of acetylcholine to the synaptic space. As a result, the organism experiences a general flaccid paralysis, known as botulism. This pathology can emerge through different exposure ways to the toxin, being food intake the most common one.

Despite the high toxicity of the Botulinum toxin, its large potential for inducing muscle paralysis has been exploited for treating various diseases, especially for the ones that are accompanied by glandular hypersecretions, hyperexcitability or muscle spasticity. Besides, it has been proved certain effect of the compound against pain, although the mechanism has not yet been elucidated.

For this reason, the Botulinum toxin has numerous therapeutic applications in different pathologies where it constitutes a safe, effective and, therefore, approved treatment. Hence the importance of promoting further research of this toxin within new disorders, in order to broaden its therapeutic use.

Key words: botulinum toxin, botulism, neurotoxin.

3 INTRODUCCIÓN

Muchos microorganismos son capaces de producir proteínas de elevado peso molecular con un potencial efecto venenoso para los seres humanos, conocidas como toxinas.

La posibilidad de producir toxinas por parte de un organismo se denomina toxigenicidad, y constituye un factor importante a la hora de estudiar la patogenicidad de un organismo.

Estas moléculas van a ser causantes de numerosas enfermedades de importante repercusión en la actualidad, actuando mediante distintos mecanismos, ya sea dañando los tejidos, provocando una alteración del metabolismo celular o efectuando otros cambios destructivos.

Pueden ser excretadas al medio en que se encuentren, o acumuladas en el interior del microorganismo, dando lugar a dos grandes grupos: el de las exotoxinas y el de las endotoxinas, respectivamente (1, 2).

A continuación, se presenta una breve descripción de las principales características de cada uno de estos grupos:

3.1. *Endotoxinas*

Se trata de toxinas de naturaleza lipopolisacáridica, relativamente termoestables, pudiendo incluso llegar a resistir la esterilización mediante autoclave, que forman parte de la pared celular de bacterias Gram negativas y que son liberadas al exterior al producirse la lisis de éstas, habitualmente por la acción de antibióticos o del propio sistema inmune, mediante fagocitosis.

La pared bacteriana de las Gram negativas se diferencia fundamentalmente por la presencia de la membrana externa, una bicapa lipídica constituida por fosfolípidos, proteínas y el lipopolisacárido (LPS) o endotoxina. El LPS es una molécula anfipática, formada a su vez por tres elementos: la cadena o antígeno O, el polisacárido central o *core* y el lípido A, siendo este último el responsable de la acción tóxica, al ser liberado tras la rotura de la bacteria (4,5).

Habitualmente, van a dar lugar a una respuesta generalizada, común para todas las endotoxinas, ya que no se unen a receptores específicos. Producen la activación del complemento por la vía alternativa, inducen la liberación de IL-1 y TNF, la activación de macrófagos y la estimulación de linfocitos B. Todo ello dará lugar a un cuadro general de fiebre e inflamación, considerándose moléculas de moderada toxicidad, a pesar de que la gravedad del cuadro clínico dependerá de la cantidad de sustancia liberada, pudiendo llegar a provocar shocks endotóxicos, coagulación intravascular diseminada (CID) e incluso la muerte en caso de encontrarse en muy elevadas dosis (2, 6).

3.2. *Exotoxinas*

Son un conjunto de moléculas de estructura proteica, solubles, que son secretadas al medio exterior tanto por bacterias Gram positivas como negativas y que actúan como enzimas en las células diana del organismo que las ingiere. Poseen una elevada antigenicidad, provocando la activación del sistema inmunitario y la secreción de antitoxinas específicas por parte de éste, con el fin de neutralizar dichas moléculas y, con ello, su acción tóxica.

En este caso, a diferencia de las endotoxinas, se trata de moléculas relativamente inestables, que pueden ser fácilmente destruidas por la acción de temperaturas mayores a 60° C, pero

también poseen una mayor toxicidad que las anteriores, pudiendo causar la muerte del individuo incluso en muy pequeñas cantidades (microgramos o menores) (3, 6).

Se unen a receptores específicos, dando lugar a enfermedades típicas de cada toxina, como pueden ser el tétanos, el botulismo o la difteria.

Al ser sometidas a la acción del calor o del ácido, van a ser desactivadas, dando lugar a unas moléculas denominadas toxoides. Éstas, al igual que las exotoxinas, tendrán capacidad para inducir la liberación de antitoxinas por parte del SI, pero no poseerán la acción patógena, por lo que van a ser utilizadas como elemento fundamental para el desarrollo de vacunas.

En función de su estructura y mecanismo de acción, éstas pueden dividirse en tres grupos (5):

- **Toxinas A-B:** a este grupo pertenecen la mayor parte de las exotoxinas bacterianas, incluida nuestra principal molécula de estudio, la toxina botulínica (TB). Se trata de moléculas compuestas por dos dominios o subunidades polipeptídicas: A y B, siendo este segundo el encargado de la unión de la toxina a la célula diana, y el primero el responsable de la acción tóxica debido a su actividad enzimática. La subunidad B va a unirse a los receptores específicos que se encuentran en la superficie de las células blanco, tratándose en su mayoría de estructuras glicolípídicas o glicoproteicas. Dicha unión va a permitir la entrada de la subunidad A al citoplasma que, una vez internalizada, podrá ejercer su efecto tóxico en la célula (2).
- **Superantígenos:** se trata de antígenos que van a estimular una respuesta inmunitaria exacerbada por no acceder por la ruta habitual de presentación, pudiendo llegar a activar hasta un 20% de los linfocitos T totales del cuerpo. Esta excesiva activación de LT conlleva una elevada producción de citoquinas, que provocará la aparición de síntomas como vómitos o diarrea, pudiendo llegar a ocasionar un síndrome de shock tóxico, caracterizado por la presencia de fiebre e inflamación, o incluso la muerte. *Staphylococcus aureus* es la principal bacteria productora de toxinas de este tipo (4).
- **Toxinas citolíticas:** también denominadas “alteradoras de la membrana”. Su mecanismo de acción se basa en causar una gran destrucción tisular sobre las membranas de sus células diana, provocando así su muerte. Un ejemplo de este tipo de toxinas son las hemolisinas, producidas por *Streptococcus pyogenes*, causantes de la lisis de glóbulos rojos mediante la formación de poros en éstos (3).

3.3. *Clostridium botulinum*

En 1820, Justinus Kerner llevó a cabo las primeras investigaciones sobre este bacilo tras varios casos de envenenamientos producidos por el consumo de alimentos contaminados. Observó que dichos productos eran, en su mayoría, embutidos, *botulus* en latín, de donde se obtuvo el nombre de botulismo. No fue sin embargo hasta los años 1895-1897, cuando el microbiólogo belga Emile Pierre van Ermengem consiguió cultivar esta bacteria, nombrándola como *Clostridium botulinum* y el alemán Wilhelm Kempner logró producir una antitoxina neutralizante (11, 8).

Clostridium botulinum es un bacilo Gram positivo, anaerobio estricto, móvil y acapsulado, cuyas esporas se encuentran mundialmente distribuidas en suelos y aguas. Pertenece a la familia de los Clostridios, junto con otras bacterias como *Clostridium tetani* o *Clostridium difficile*, responsables de la enfermedad del tétanos y de gran parte de las colitis tras tratamiento con antibióticos, respectivamente. Nuestro microorganismo de interés va a ser el agente etiológico del botulismo (10).

El botulismo es una severa forma de intoxicación alimentaria que se produce cuando se ingieren alimentos que contienen bacterias que han sobrevivido en ellos y que van a producir “in situ” una potente neurotoxina, siendo ésta la responsable de la patología.

La contaminación también puede producirse mediante la liberación de la toxina al exterior por parte del microorganismo, de modo que no es necesario que éste se encuentre presente en el momento de la ingestión para dar lugar a la enfermedad.

Además, *Clostridium botulinum*, como otros clostridios, forma esporas para sobrevivir en su hábitat. Estas esporas son relativamente resistentes al calor, por lo que pueden sobrevivir al procesado de los alimentos cuando éste no se lleva a cabo a temperaturas muy elevadas. Si se establecen unas condiciones favorables para el desarrollo de la bacteria, es decir, una atmósfera anaerobia, dichas esporas germinarán, dando lugar al crecimiento de la bacteria y a la consiguiente liberación de la potente toxina, que será la causante directa del desarrollo de la enfermedad (7).

Debido a su amplia distribución, podemos encontrarla en múltiples alimentos como productos cárnicos, vegetales, frutas o miel, aunque la mayor fuente en la actualidad son las conservas, especialmente las caseras, en las que el proceso de enlatado puede no haberse llevado a cabo correctamente, dando lugar a unas condiciones favorables para el desarrollo de la bacteria y la consecuente producción de toxina (9).

3.4. Botulismo

A pesar de que en la actualidad el botulismo no es un problema realmente significativo debido a la modernización de los métodos de esterilización y la mejora e incremento de los controles de calidad realizados en la industria alimentaria, así como el mayor conocimiento sobre la enfermedad y la bacteria gracias al avance científico; en el pasado, la prevalencia y repercusión del botulismo en la salud pública fue importante, produciendo epidemias en los siglos XIX y XX.

El botulismo es una enfermedad causada por la acción en nuestro organismo de la toxina producida por la bacteria *Clostridium botulinum*.

Supone una parálisis progresiva descendente de inicio en los nervios craneales y posterior extensión a las extremidades, produciendo efectos como disartria, disfagia o diplopía, aunque la principal causa de muerte asociada a ésta suele ser la parada respiratoria (15).

Dentro de esta enfermedad podemos diferenciar cuatro tipos diferentes en función del mecanismo de entrada:

- **Botulismo transmitido por los alimentos:** es el más común en la actualidad. Causado por la ingesta de la toxina, previamente formada por la bacteria en alimentos contaminados con ésta. La toxina se absorbe en el intestino y, vía torrente sanguíneo, alcanza los nervios motores, donde impedirá la liberación de acetilcolina en la sinapsis de las uniones neuromusculares. Suprime así la contracción muscular, dando lugar a la parálisis.

La TB es una de las toxinas más letales que se conocen, y la causa más seria de envenenamientos por alimentos, pudiendo ser fatal si la dosis ingerida es elevada o no es tratado a tiempo (9,10).

En la actualidad se conocen perfectamente las condiciones necesarias que deben establecerse en los alimentos para que pueda producirse el crecimiento y supervivencia de la bacteria en ellos, así como de sus esporas; siendo necesario un medio anaerobio, no muy ácido, con elevada actividad de agua, sin conservantes, y que satisfaga sus necesidades nutricionales.

Gracias a ello, la FDA ha emitido una serie de recomendaciones para impedir la aparición de la enfermedad. Estas medidas incluyen la disminución del nivel de contaminación microbiológica, la reducción de los niveles de humedad, la destrucción de las esporas cuando sea posible, y la acidificación del producto, ya que éstas no son capaces de crecer a pH menores de 4,6. La toxina es termosensible, por lo que será eliminada con un calentamiento rutinario mientras que, para conseguir la eliminación de las esporas habrá que someter al producto a una esterilización por autoclave (14,17).

Debido a la especificidad de las condiciones necesarias para el crecimiento de la bacteria, éstas raramente van a desarrollarse en los alimentos habitualmente comercializados. Sin embargo, hoy en día todavía se detectan casos, normalmente en forma de brotes producidos por una misma fuente de contagio. Por ejemplo:

El 29 de julio de 2017, la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición, fue informada por las autoridades sanitarias de Cataluña a través del Sistema Coordinado de Intercambio Rápido de Información (SCIRI) de la existencia de una posible intoxicación botulínica, asociada al consumo de ensalada de bacalao con alubias blancas, confirmada posteriormente por la presencia de TB en el producto.

Hubo dos afectados, ambos hospitalizados en la UCI en estado grave con una sintomatología de vómitos, malestar general, visión doble y dificultad al hablar. Fueron tratados con la antitoxina botulínica y, finalmente, tras 37 días, salieron de la unidad de cuidados intensivos.

La AECOSAN difundió la información a las Autoridades competentes de cada Comunidad Autónoma y se procedió a la retirada del producto del mercado.

En 2017 en Canadá se produjo otro caso de dos afectados por un té de hierbas contaminado con toxina TB tipo A, en el cual uno de ellos murió (12).

Debido a que una única misma fuente de contaminación puede llegar a afectar a muchas personas, y al peligro añadido que supone la posibilidad de distribución a otros países, cada caso de botulismo debe ser tratado como una emergencia sanitaria, informando de inmediato a las autoridades sanitarias competentes. Es por ello que el botulismo fue incluido en la lista de enfermedades de declaración obligatoria incluida en la orden SSI/445/2015, por la que se modifica el Real Decreto 2210/1995, del 28 de diciembre, por el que se crea la red nacional de vigilancia epidemiológica (13).

En el botulismo alimentario, la enfermedad se manifiesta entre las 24 horas y 4 días posteriores a la ingestión del alimento contaminado, pudiendo variar desde cuadros leves que no requieran atención médica hasta formas letales para el sujeto. Supone una parálisis progresiva de inicio en los nervios craneales y posterior extensión a las extremidades, dando lugar a una debilidad motora en cuello, que pasará a los brazos, el tórax y las piernas, produciendo efectos como disartria, disfagia o diplopía. Suele estar precedida por la aparición de efectos gastrointestinales como náuseas, vómitos y dolor abdominal o diarrea.

Debido a que la toxina va a inhibir la secreción de acetilcolina por parte de las neuronas, va a producirse un síndrome anticolinérgico, caracterizado por midriasis, visión borrosa, retención urinaria, íleo paralítico, etc. La principal causa de muerte asociada a esta enfermedad suele ser la parada respiratoria (7,15,19).

- **Botulismo de las heridas:** es la forma más rara de presentación del botulismo humano. Se da en casos de heridas infectadas por *Clostridium botulinum*, que va a producir la toxina “in situ”, pudiendo ésta migrar a otras partes del cuerpo vía torrente sanguíneo. Va a tener un cuadro clínico muy similar al botulismo alimentario, diferenciándose solamente en la ausencia de trastornos digestivos y en la presencia de fiebre, aparte de la lesión local.

Su periodo de incubación se ampliará hasta los 10 días, y la sospecha temprana suele ser complicada, especialmente si las heridas no tienen aspecto tóxico, pudiendo confundirse con otras patologías.

La confirmación del diagnóstico podrá llevarse a cabo mediante la detección de la toxina en suero humano o en cultivo realizado a partir de la herida infectada, o bien a través de la inoculación de la muestra en ratones, corroborando su presencia si éstos mueren tras presentar una sintomatología de parálisis progresiva (7,10,18).

- **Botulismo infantil:** también conocido como botulismo del lactante, es en la actualidad la forma más habitual de esta enfermedad en EEUU. Se presenta como causa de la proliferación de la bacteria y la producción de toxina en el intestino de niños de entre 2 y 8 meses de edad. Su sintomatología puede variar desde cuadros leves con pérdida de peso por parte del niño, hasta formas letales que cursan con parálisis, insuficiencia respiratoria y muerte.

Recientemente, se ha relacionado el botulismo infantil con el síndrome de muerte súbita, estimándose que entre un 3 y un 5% de los casos de niños que mueren con ese diagnóstico pueden tratarse en realidad de casos de botulismo.

Se cree que el intestino de los niños, por no haber desarrollado todavía una microbiota madura, puede ser más propenso a ser colonizado por la bacteria que el de los adultos.

A pesar de que no se le puede atribuir esta enfermedad a ningún alimento en concreto, se sabe que la miel puede ser una fuente de esporas de *C.botulinum*, por lo que se desaconseja su uso en menores de 6 meses (7,15).

- **Indeterminado:** en este tipo se incluyen los casos de botulismo adulto e infantil que no se encuentran dentro de los 3 anteriores, y son de causa desconocida. La toxina se va a producir en el intestino en personas colonizadas por la bacteria, por lo que también es conocido como “botulismo infantil del adulto” (7, 18).

El tratamiento principal va a consistir en la administración con la mayor brevedad posible de la antitoxina botulínica, comercializada bajo el nombre de “Botulism Antitoxin Behring®”. Se trata de una antitoxina trivalente, en forma de vial de 250 mL que contiene 750 UI de antitoxina frente a *Clostridium botulinum* tipo A, 500 UI frente al tipo B y 50 UI frente a E, ya que éstos

van a ser, respectivamente, los serotipos causantes de la mayor parte de los casos de botulismo en humanos. Los anticuerpos que la componen van a actuar contra las dos cadenas que conforman la toxina, bloqueando la acción de la porción circulante de ésta, lo que provocará una mejora de la sintomatología, pero sin ser capaz de revertir completamente su acción, ya que la fijación a las terminaciones nerviosas será permanente (15-17).

Habitualmente, también será necesario soporte ventilatorio mecánico, por la posibilidad de parada respiratoria, así como medidas generales de sostén.

4. OBJETIVOS

El principal objetivo de este trabajo es profundizar en el conocimiento de la estructura de la TB, conocer el mecanismo por el cual lleva a cabo su acción neurotóxica y describir las principales aplicaciones terapéuticas con las que cuenta en la clínica actual. Todo ello a través de una revisión bibliográfica llevada a cabo sobre dicha molécula, así como de la enfermedad que provoca.

5. METODOLOGÍA

Para la realización de este trabajo se ha llevado a cabo una búsqueda bibliográfica, fundamentalmente a través de internet, utilizando como principales fuentes de datos los buscadores “PubMed” y “Google académico”. También se han consultado varios libros de microbiología como referencias para obtener información general sobre la bacteria de estudio. A partir de estos buscadores, se ha llevado a cabo una criba de artículos científicos para seleccionar aquellos de nuestro interés, utilizando como filtro que éstos estuvieran escritos en inglés o en español y que hubieran sido publicados en los últimos 10 años.

De estos artículos hemos obtenido especialmente información sobre el uso terapéutico de la toxina en distintas afecciones, realizando una lectura crítica, y análisis de dichos artículos, extrayendo de ellos la información relevante para nuestro trabajo.

Además, también se han efectuado búsquedas en las páginas oficiales de la AEMPS (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios), utilizando el servicio CIMA para recabar información acerca de las principales formas farmacéuticas comercializadas de la TB, de la FDA (Food and Drugs Administration), de donde se obtuvieron una serie de recomendaciones para evitar el botulismo alimentario en la actualidad y, finalmente, la información relativa a los casos de botulismo en Cataluña se extrajo de la web de AECOSAN.

6. RESULTADO Y DISCUSIÓN

6.1. Toxina botulínica

La TB fue identificada en 1897 y su uso terapéutico aprobado por la FDA por primera vez en 1989 para el tratamiento de diversas situaciones clínicas como el blefaroespasmio. Desde entonces, sus aplicaciones en el mundo médico y estético no han dejado de aumentar, constituyendo hoy en día el tratamiento de referencia de diversas patologías.

- Estructura:

Podemos distinguir 8 isoformas de la toxina, inmunológicamente diferentes (A, B, C α , C β , D, E, F Y G), si bien sólo van a afectar al sistema nervioso humano de manera significativa los serotipos A, B, E y, raramente, el F; y las únicas utilizadas en terapéutica van a ser la A y, de forma excepcional, la B.

La mayoría de los aislamientos bacterianos producirán un solo tipo de toxina, aunque se han observado algunas cepas capaces de sintetizar más de un serotipo diferente (22-25).

Se trata de un conjunto de metaloproteasas dependientes de zinc, sintetizadas como proteínas inactivas de 150-165 kDa que, tras la lisis por parte de una proteasa bacteriana, darán lugar a dos cadenas definitivas, unidas entre sí por uno (TB tipo A) o dos (TB tipo B) puentes disulfuro (2). La cadena ligera (L), de unos 50 kDa, va a ser la verdadera responsable de la acción tóxica, mientras que la pesada (H), de unos 100 kDa, será la que permita la fijación de la toxina a los receptores presinápticos mediante el extremo C-terminal y, posteriormente, la internalización de ésta en la neurona, a través del N terminal.

La cadena pesada tendrá una estructura similar en todos los serotipos, mientras que la ligera, responsable de la acción proteolítica, variará más de unos a otros, dotándoles de una cierta especificidad que está siendo estudiada por sus posibles implicaciones terapéuticas.

Además, suelen estar asociadas a otras proteínas sin acción terapéutica, como la hemaglutinina, formando complejos cuya función principal será protegerlas de la degradación por parte del sistema digestivo (7,14,18).

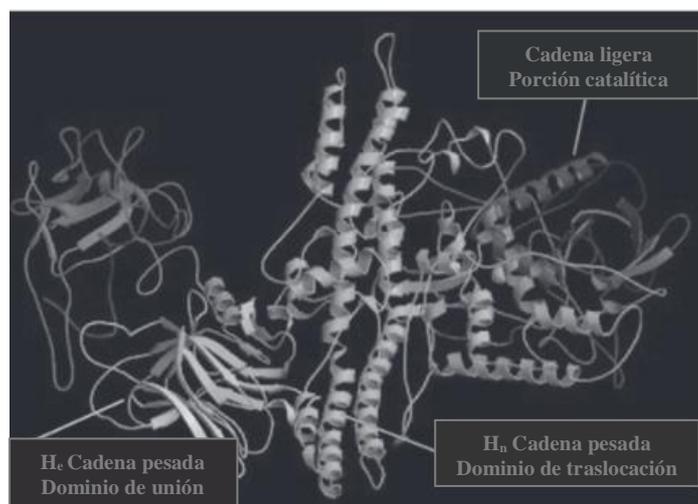


Figura 1: Representación tridimensional de la estructura de la TB. Tomado de Sposito M. Toxina Botulínica de Tipo A: mecanismo de acción. Actafisiatrica [Internet]; 16(1):25-7.

- Mecanismo de acción:

Hablamos de una neurotoxina, lo que quiere decir que su acción va a estar dirigida específicamente sobre el sistema nervioso. Va a ser el SN autónomo el que se vea particularmente afectado, ya que la toxina actúa inhibiendo la secreción de acetilcolina, principal neurotransmisor de dicho sistema.

Su mecanismo de acción va a consistir en el bloqueo de la transmisión nerviosa, mediante la inhibición de la liberación de acetilcolina presináptica en el SN periférico.

Ésta afectará tanto a nervios autónomos, que controlan funciones corporales involuntarias como la respiración o las secreciones glandulares, como a las uniones neuromusculares, dando lugar a una parálisis flácida muscular.

Dicha inhibición va a ser consecuencia de la degradación de las proteínas que intervienen en la exocitosis de la acetilcolina a nivel de la unión neuromuscular, conocidas como proteínas SNARE (receptor de proteínas solubles de unión al factor N-etilmaleimida)

En condiciones normales, las vesículas que contienen el neurotransmisor se unen a la membrana, dando lugar a la liberación de la acetilcolina al espacio sináptico a través de unos complejos proteicos denominados SNARE. Estos complejos están constituidos por distintas proteínas como la sintaxina, la SNAP-25 o la sinaptobrevina, y van a ser los responsables de la fusión de la vesícula contenedora del neurotransmisor con la membrana neuronal. La acetilcolina, una vez liberada, va a atravesar el espacio sináptico, unirse a los receptores nicotínicos, y dar lugar a la contracción del músculo (2,14,18).

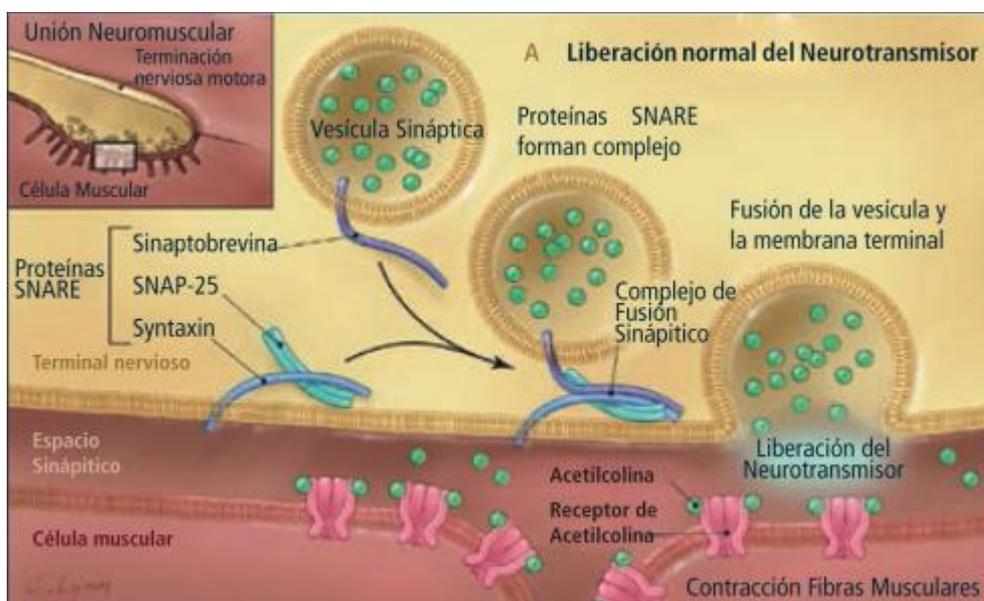


Figura 2: Mecanismo de liberación de acetilcolina en la unión neuromuscular en condiciones normales. Tomado de Cortés-Monroy, Soza S. Usos prácticos de la TB en adultos en medicina física y rehabilitación. Revista Médica Clínica Las Condes - 2014; 25(2) 225-236

Sin embargo, cuando la toxina se encuentra presente, esta exocitosis va a ser inhibida, debido a la degradación de dichos complejos.

En primer lugar, la cadena pesada va a unirse irreversiblemente a los receptores colinérgicos presinápticos por el extremo C terminal, lo que mediará la endocitosis de la toxina, formando vesículas llenas de ésta en el interior de la neurona. Estas vesículas van a tener en su interior un pH ácido, lo que provocará un cambio conformacional en la estructura proteica de la bicapa lipídica, permitiendo la formación de canales iónicos en ésta y, con ello, la liberación de la cadena ligera al citoplasma neuronal. Una vez allí, ejercerá la acción tóxica, basada en su actividad catalítica. A través de endopeptidasas dependientes de zinc, van a escindir las diferentes proteínas SNARE en función del tipo de toxina, de modo que las toxinas botulínicas A y E van a actuar sobre SNAP-25, las B, D, F y G, sobre la sinaptobrevina, y la C sobre la syntaxina. Debido a dicha escisión, no podrá formarse correctamente el complejo de fusión a la membrana, por lo que tampoco tendrá lugar la exocitosis de la acetilcolina desde las vesículas situadas en el citoplasma, ni la transmisión del impulso nervioso a la placa motora. Finalmente, esto se manifestará en una imposibilidad por parte del músculo para contraerse, dando lugar a una parálisis flácida (2,18).

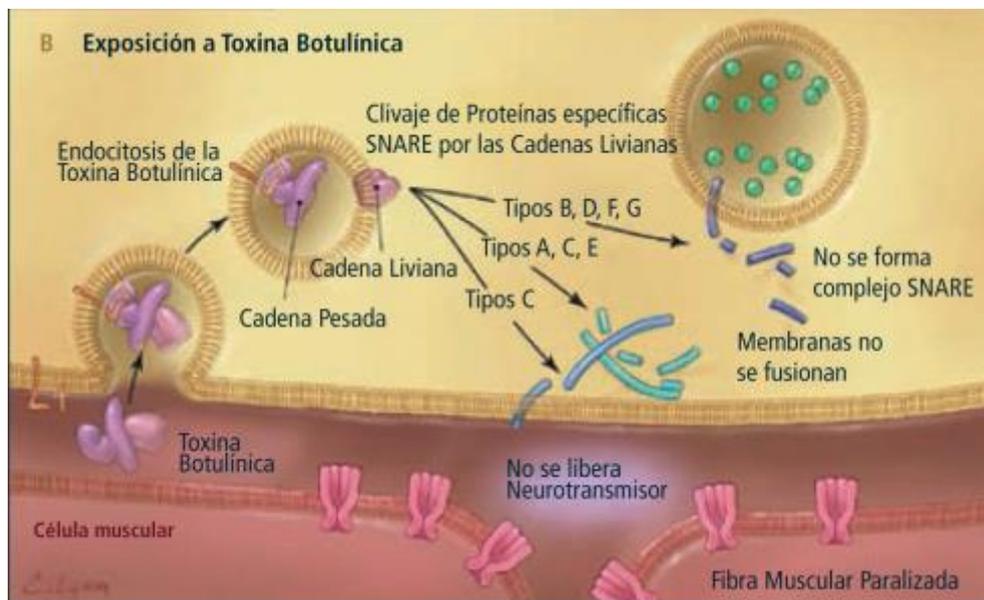


Figura 3: Mecanismo de acción de la TB en la unión neuromuscular.

Modificado de Cortés-Monroy, Soza S. Usos prácticos de la TB en adultos en medicina física y rehabilitación. Revista Médica Clínica Las Condes - 2014; 25(2) 225-236

A partir de varios casos de pacientes con migrañas en los que se inyectó TB con fines estéticos y presentaron tras ello una mejoría de la enfermedad, comenzó a estudiarse el posible potencial antinociceptivo de esta molécula, de donde se obtuvo la siguiente hipótesis acerca de su mecanismo de inhibición del dolor.

La percepción del dolor va a transmitirse desde los nervios periféricos al sistema nervioso central, de modo que cuando existe inflamación, lesión del nervio o estimulación repetida de éste, se va a producir una sensibilización de las terminaciones nerviosas periféricas. Esto quiere decir que va a haber una disminución de la energía necesaria para activar los nociceptores, de modo que estímulos habituales van a ser percibidos como dolorosos.

La sensibilización periférica va a llevar también a una sensibilización central, provocando una excesiva estimulación del SNC, y, con ello, la aparición del dolor.

La TB también es capaz de inhibir la liberación de otras sustancias que utilicen el mismo mecanismo de secreción que la acetilcolina. Éste va a ser el caso de algunos mediadores de la inflamación como el glutamato, la sustancia P o el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (PRGC), lo que evitará la sensibilización central, dando lugar a una mejora en la sintomatología del dolor (14,21).

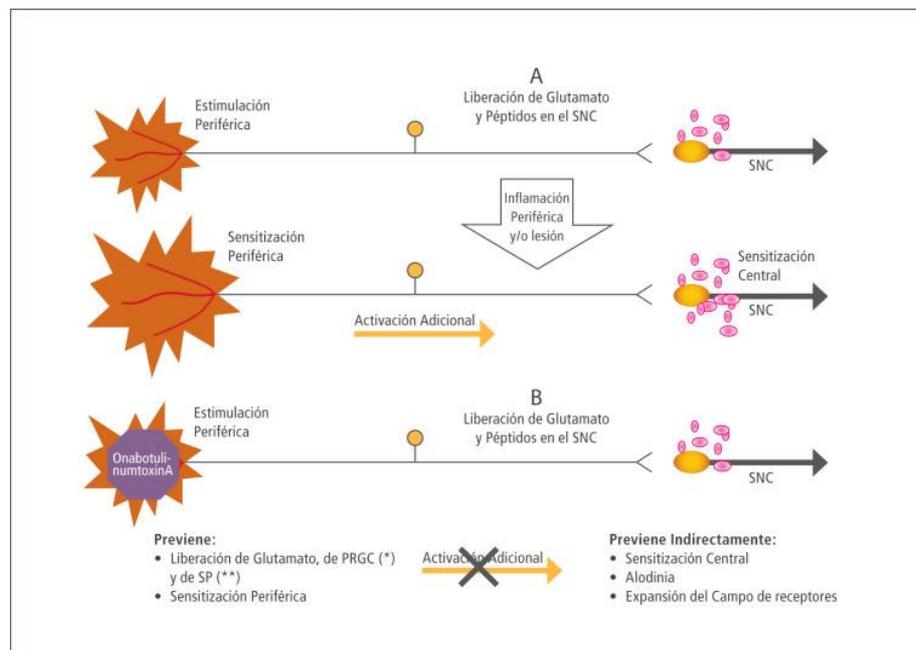


Figura 4: Mecanismo anti nociceptivo de la TB. Modificado de Aoki R, Francis J. Updates on the antinociceptive mechanism hypothesis of botulinum toxin A. Parkinsonism and Related Disorders 17 2011; S28-S33.

6.2. Formas farmacéuticas

A pesar de tratarse de una de las más potentes toxinas conocidas y ser capaz de causar la muerte de aquel que la ingiera en cuestión de días, el elevado potencial neuro-paralítico de esta toxina también puede ser utilizado en beneficio del hombre. Es por ello que cuenta, ya en la actualidad, con numerosas aplicaciones terapéuticas, con vistas a descubrir nuevos e interesantes usos clínicos en el futuro.

Como ya anteriormente hemos explicado, la toxina produce una parálisis flácida del músculo, lo que resultará un problema cuando ésta no se produce de manera deseada ni controlada, dando lugar a una sintomatología patológica. Sin embargo, dicha parálisis puede suponer una gran ventaja terapéutica en el caso de ciertas enfermedades que cursan con una estimulación indeseada, continua o espástica de determinados músculos o glándulas.

Es la única neurotoxina ampliamente utilizada en terapéutica, y los serotipos utilizados van a ser el A y el B. A continuación, expondremos las formas farmacéuticas de la toxina que se encuentran actualmente comercializadas en España:

Especialidades	Tipo de toxina	Indicaciones aprobadas
Botox® 50 UI polvo para solución inyectable 100 UI polvo para solución inyectable 200 UI polvo para solución inyectable	Tipo A	<ul style="list-style-type: none"> - Blefaroespasma - Tortícolis espasmódica - Espasmo hemifacial - Espasticidad focal de la muñeca y de la mano o del tobillo y el pie secundarias a un ictus - Migraña crónica - Vejiga hiperactiva idiopática - Hiperactividad neurogénica del detrusor - Hiperhidrosis primaria de la axila
Xeomin® 50 UI polvo para solución inyectable 100 UI polvo para solución inyectable 200 UI polvo para solución inyectable	Tipo A	<ul style="list-style-type: none"> - Blefaroespasma - Tortícolis espasmódica - Espasticidad del miembro superior en adultos
Dysport® 500 UI polvo para solución inyectable	Tipo A	<ul style="list-style-type: none"> - Espasticidad del brazo y de la pierna en pacientes que han sufrido un ictus - Tortícolis espasmódica - Espasmo hemifacial. - Blefaroespasma - Espasticidad asociada con la deformidad dinámica del pie equino en niños con parálisis cerebral
Neurobloc® 10000 U/ml solución inyectable 5000 U/ml solución inyectable 2500 U/ml solución inyectable	Tipo B	<ul style="list-style-type: none"> - Tortícolis espasmódica (disonía cervical)

Tabla 1: formas farmacéuticas de la TB comercializadas en España.

Además de estas formas farmacéuticas, existen otras tres formulaciones de TB tipo A comercializadas, cuya aplicación se lleva a cabo únicamente con fines estéticos: Bocouture®, Vistabel® y Azzalure®.

6.3. Aplicaciones terapéuticas

A continuación se detallan algunas de las más importantes aplicaciones de la TB en la actualidad:

-Estrabismo: el oftalmólogo Alan Scott utilizó por primera vez la TB tipo A en 1980 para el tratamiento del estrabismo, 9 años antes de ser aprobada por la FDA.

Actualmente constituye una de las principales aplicaciones terapéuticas de la TB, y uno de los usos aprobados en España (para mayores de 12 años)

El estrabismo consiste en la desviación del alineamiento de un ojo respecto al otro, de manera que ambos no van a ser capaces de enfocar a un mismo lugar, lo que dará lugar a una imagen doble, pudiendo causar trastornos como pérdida de visión o de profundidad, aparte de la alteración estética que supone.

Una de las posibles causas de esta patología es el incremento de tono de alguno de los 6 músculos que controlan el movimiento ocular. Éstos deben trabajar coordinados para poder alinear y enfocar los dos ojos a un mismo objeto o lugar, por lo que, cuando existe dicha contracción excesiva de algún músculo, se producirá la desviación de uno de los ojos.

La administración de TB constituye un tratamiento alternativo para esta enfermedad, aparte del uso de gafas, parches, realización de ejercicios oculares o cirugía.

La inyección se realiza en los músculos extraoculares, produciendo una relajación de éstos, que resulta en la correcta alineación de ambos ojos, permitiendo así una visión correcta. Su efecto revertirá en un plazo de 2 a 3 meses, por lo que serán necesarias varias administraciones.

Previamente a su inoculación, la TB tipo A debe ser diluida de modo que se obtengan 2,5 UI por cada 0,1 cm³, se limpia y anestesia localmente la zona, se dirige el globo ocular en dirección contraria al músculo a inyectar y se procede a la inyección, aplicando posteriormente un antibiótico local (26,32,36).

-Blefaroespasmó y espasmo hemifacial: el blefaroespasmó es una anomalía de la función de los párpados provocada por una contracción sostenida, involuntaria y espasmódica de los músculos orbiculares, que va a cursar con el cierre involuntario de los ojos, pudiendo incluso llegar a provocar una ceguera funcional. Constituye, junto con la tortícolis espasmódica, una de las distonías focales más habituales en los adultos.

Su tratamiento, como el de muchas otras distonías va a ser puramente sintomático, pudiendo tratarse mediante fármacos anticolinérgicos o neurolépticos, aunque, en la actualidad, el tratamiento de elección está constituido por la inyección de la TB. Ésta producirá un alivio de los síntomas en un 70-90% de los pacientes tratados, manteniéndose el efecto de 2 a 4 meses, y será eficaz para todos los tipos de blefaroespasmó y espasmo hemifacial, independientemente de su etiología.

El espasmo hemifacial, por su parte, constituye un trastorno crónico del movimiento que, a pesar de no formar parte del conjunto de enfermedades que conforman las distonías, va a cursar con un cuadro clínico similar, con contracciones involuntarias unilaterales de los músculos inervados por el nervio facial, por lo que también compartirá como tratamiento de elección la infiltración con TB.

En ambos casos, el método de aplicación será muy similar, consistiendo éste en la quimiodenervación mediante la inyección subcutánea de la toxina en los músculos pertinentes. En caso del blefaroespasmó, se realizará en los músculos orbiculares del párpado, siendo la dosis inicial recomendada de 12,5 UI en tres puntos y, posteriormente de 2.5-5 UI por cada

punto de inyección. En el espasmo hemifacial, se inyectará en los músculos perioculares, variando las dosis y músculos de aplicación en función de la gravedad y frecuencia de los síntomas. Las dosis y método de inyección serán muy similares, pero la sensibilidad a la toxina en este caso será mayor, por lo que el efecto puede tardar menos en aparecer y ser más duradero que en el caso del blefaroespasmo (22-26).

-Tortícolis espasmódica o distonía cervical: perteneciente al grupo de las distonías focales, constituye, después del parkinson, el segundo trastorno del movimiento más común, y la más frecuente de las distonías.

Es causada por la contracción involuntaria y sostenida de determinados músculos del cuello y de los hombros, cursando con posturas anómalas, repetidos movimientos de torsión y dolor.

La aplicación de la TB tipo A como tratamiento, ha demostrado en varios ensayos clínicos ser más efectiva que el uso de medicación, produciendo una mejora de los síntomas como espasticidad y dolor en un 50% de los casos.

Las dosis y lugares de inyección dependerán del tipo de distonía, tratándose habitualmente de dosis más elevadas que en los casos anteriores por ser los músculos implicados de mayor tamaño, como el esternocleidomastoideo, el esplenio o el trapecio. El efecto tardará en aparecer de 1 a 2 semanas, siendo máximo a las 6, y desapareciendo entre 8 y 12 semanas después (25-27,36).

La FDA también ha autorizado la TB tipo B en el tratamiento de la distonía cervical, especialmente para casos de pacientes resistentes a la TB tipo A.

-Espasticidad en niños con parálisis cerebral

La parálisis cerebral infantil (PCI) es un trastorno que va a afectar predominantemente a la función motriz de niños, produciendo alteraciones posturales y del movimiento, causadas por un daño producido sobre el cerebro en desarrollo en la época fetal o durante los primeros años de vida. Podrá ir acompañada de otros trastornos sensoriales o cognitivos y se distinguirán diferentes formas de presentación en función de la sintomatología mostrada. La parálisis cerebral espástica va a estar caracterizada por la aparición de movimientos involuntarios tanto en los miembros superiores como en los inferiores.

El tratamiento de la enfermedad se abordará desde distintas perspectivas, incluyendo la fisioterapia, la cirugía y la farmacología. Dentro de ésta última encontraremos, entre muchos otros fármacos, la TB, como opción para minimizar la aparición de dichas contracciones espásticas (26,28).

-Espasticidad de miembros superiores e inferiores tras ACV (accidente cardiovascular)

La espasticidad es una de las secuelas más comunes tras padecer un accidente cardiovascular. Se estima que hasta un 38 % de la población presentará espasticidad un año después de haber sufrido un ictus, pudiendo llegar a ser incapacitante en algunos casos. Va a dar lugar a problemas motores, provocar dolor y causar complicaciones secundarias.

Esta espasticidad puede producirse en los miembros superiores, siendo la más frecuente en muñeca y dedos, o en los inferiores, destacando las de pies y tobillo.

Actualmente, la utilización de la TB supone una opción terapéutica en caso de fracaso de la terapia farmacológica con miorrelajantes, o como parte de un tratamiento multidisciplinar, y su administración suele llevarse a cabo con ayuda de electromiografía, para determinar la dosis necesaria y los puntos de inyección (21,24,25).

- Vejiga hiperactiva idiopática e hiperactividad neurógena del detrusor

Se trata de un síndrome de gran relevancia entre adultos de edad avanzada. Caracterizado por la aparición de contracciones involuntarias en el músculo vesical durante la fase de llenado, cursará con trastornos en la uresis tales como incremento de la frecuencia miccional y urgencia miccional, que pueden o no conllevar incontinencia urinaria de urgencia.

Cuando la causa de estas contracciones es indeterminada, hablamos de vejiga hiperactiva idiopática, mientras que, si éstas son secundarias a un trastorno neurológico como Esclerosis Múltiple o lesión medular subcervical, hablaremos de hiperactividad neurogénica del detrusor (HND). Su sintomatología será muy similar a la de otros trastornos de la próstata o infecciones de orina, por lo que será importante llevar a cabo un buen diagnóstico diferencial.

Habitualmente, suele inducir sobre los pacientes un sentimiento de vergüenza, llegando a desarrollar ansiedad o depresión con mayor frecuencia que aquellas personas que no la padecen, lo que afectará gravemente a su calidad de vida.

El tratamiento de primera línea consistirá en el uso de agentes anticolinérgicos, tales como la tolterodina, que actuarán bloqueando los receptores muscarínicos M2 y M3 de la vejiga, lo que llevará a una reducción de las contracciones involuntarias. La frecuente aparición de efectos adversos asociados a este tipo de medicamentos, junto con su falta de eficacia con el tiempo, están asociadas a una baja persistencia en su uso, por lo que ha sido necesario investigar una segunda opción terapéutica. La TB tipo A va a ser el fármaco de segunda elección, utilizada en caso de fracaso de los agentes antimuscarínicos o abandono de éstos por sus numerosos efectos adversos (30,31,36).

-Migraña crónica

Las migrañas crónicas son una patología caracterizada por la aparición de forma recurrente de fuertes cefaleas, pudiendo éstas ir acompañadas de otros síntomas como fotofobia, mareos, náuseas, vómitos o debilidad. La calidad de vida de aquellas personas que las sufran se verá gravemente afectada, especialmente en los casos crónicos, en los que los episodios se producen 15 o más días al mes.

La TB tipo A constituye, junto con la terapia con topiramato, uno de los tratamientos preventivos de esta patología, habiendo demostrado su eficacia y seguridad en numerosos ensayos controlados. La profilaxis con dicha toxina va a dar lugar a una disminución tanto de la frecuencia como de la magnitud de los síntomas, produciendo una mejora significativa en el día a día de las personas afectadas, gracias a su acción miorrelajante y analgésica (32,33).

-Hiperhidrosis

La hiperhidrosis es una enfermedad caracterizada por la producción y liberación de secreciones de forma abundante y descontrolada por parte de las glándulas sudoríparas. Afecta a casi un 3% de la población y supone una disminución de la calidad de vida de aquellas personas que la sufren, viéndose afectada tanto a nivel personal como social.

Dado que la TB va a bloquear las terminaciones nerviosas responsables de la estimulación de las glándulas sudoríparas, la aplicación de esta sustancia supondrá una gran ventaja terapéutica, presentando una solución intermedia entre la cirugía y el tratamiento conservador, que permite una remisión de los síntomas durante un periodo de aproximadamente 3 meses. La dosis recomendada es de 100-200 UI en cada extremidad para la hiperhidrosis palmar y de 200-250 UI para la axilar (34).

- Uso estético

Algunas formulaciones fueron autorizadas por el Ministerio de Sanidad para su uso exclusivo médico-estético, con el fin de inducir una mejoría temporal en el aspecto de intensidad moderada a grave de las líneas glabellares, del canto lateral (patas de gallo), de la frente, y líneas verticales del entrecejo, en pacientes adultos menores de 65 años, cuando la severidad de éstas supone un fuerte impacto psicológico para el paciente.

El número de unidades indicadas en su aplicación dependerá del tipo de formulación utilizada, ya que la potencia de cada una de ellas será diferente, por lo que las presentaciones no serán intercambiables entre sí (35-37).

6.4. Efectos adversos

A pesar de constituir un tratamiento seguro y eficaz para múltiples afecciones, respaldado en numerosos estudios y en la propia experiencia clínica, el uso de la TB, como el de cualquier otro medicamento, puede conllevar la aparición de efectos adversos.

Éstos suelen presentarse entre 1 y 2 semanas después de la administración de la toxina y, van a ser, en general, leves y transitorios, de modo que no van a requerir un tratamiento específico. Podremos dividirlos, fundamentalmente, en dos tipos; aquellos provocados por el método de administración, y los causados por la acción de la toxina en sí.

Los primeros van a ser comunes a cualquier medicación que se administre vía subcutánea, destacando entre ellos, la aparición de dolor localizado, inflamación, edema, eritema, prurito, etc. en la zona de aplicación.

De los producidos por la propia toxina, los más habituales van a ser aquellos derivados de la difusión local de ésta a partir del punto de inyección, produciendo una debilidad muscular que, en función del lugar de inyección, puede desencadenar efectos como ptosis, fotofobia o lagrimeo, en caso de tratamiento del blefaroespasma, espasmo hemifacial o estrabismo, o disfagia, boca seca o disfonía cuando es utilizada para tratar la tortícolis espasmódica. Éstos serán auto-limitados, de manera que desaparecerán sin necesidad de tratamiento tras una o dos semanas. Muy raramente, se han detectado otros efectos más graves como dificultad o insuficiencia respiratoria, hipersensibilidad, síndrome pseudo-gripal, disfagia o neumonía por aspiración (21,36).

La TB ha demostrado en varios estudios ser eficaz en el tratamiento de otras muchas patologías tales como fisura anal, lumbalgia crónica y espasticidad en lesiones medulares, por lo que se prevee que la lista de indicaciones aprobadas para ésta siga ampliándose en el futuro.

7. CONCLUSIONES

- La TB es una potente neurotoxina capaz de inhibir la liberación presináptica de acetilcolina, produciendo una parálisis flácida generalizada e incluso la muerte del paciente.
- El uso en bajas dosis de TB constituye hoy en día una terapia segura y eficaz para numerosas enfermedades, produciendo una clara mejoría en la calidad de vida de las personas que las padecen.
- La unión de la toxina al receptor colinérgico va a ser permanente, por lo que su acción terapéutica se mantendrá durante un plazo aproximado de 3 meses.
- Principalmente, va a ser utilizada para tratar enfermedades que cursan con espasmos musculares, aunque también va a contar con otras aplicaciones como el tratamiento del estrabismo, la vejiga hiperactiva, la hiperhidrosis o la prevención de migrañas, aparte de su uso en estética.
- La baja tasa de efectos adversos y su reducida gravedad, junto con la elevada eficacia del tratamiento, harán de la TB un medicamento eficiente.
- Se trata de una molécula potencialmente peligrosa, por lo que su administración deberá llevarse a cabo en un entorno adecuado y por personal cualificado, quedando restringido su uso al ámbito hospitalario.

8. BIBLIOGRAFÍA

- (1) Pérez, M., & Mota, M. (2008). Morfología y estructura bacteriana. *Temas de bacteriología y virología médica*.
- (2) Rivas, C., & Mota, M. (2006). Bacterias anaerobias. *U. d. República., Temas de Bacteriología y Virología Médica*, 356-357.
- (3) Smith, Theresa J., Karen K. Hill, and Brian H. Raphael. 2015. "Historical and Current Perspectives on Clostridium Botulinum Diversity." *Research in Microbiology*
- (4) Solomon, H. M., & Lilly Jr, T. (2001). BAM: Clostridium botulinum. *Bacteriological analytical manual*.
- (5) Ledermann, W. (2003). Historia del Clostridium botulinum. *Revista chilena de infectología*, 20, 39-41.
- (6) Tornese, M., Rossi, M. L., Coca, F., Cricelli, C., & Troncoso, A. (2008). Epidemiología y factores de riesgo asociados al botulismo de los alimentos y al botulismo infantil: ¿Dónde y cuándo? *Revista chilena de infectología*, 25(1), 22-27.
- (7) Townsend, C. T., Yee, L., & Mercer, W. A. (1954). Inhibition of the growth of Clostridium botulinum by acidification. *Journal of Food Science*, 19(1-6), 536-542.
- (8) Sugiyama, Hiroshi (1980). Clostridium botulinum neurotoxin. *Microbiological reviews*, 44(3), 419.
- (9) Pinillos, M. A., Gómez, J., Elizalde, J., & Dueñas, A. (2003). Intoxicación por alimentos, plantas y setas. In *Anales del sistema sanitario de Navarra* (Vol. 26, pp. 243-263). Gobierno de Navarra. Departamento de Salud.
- (10) Moreno, E., Pannocchia, C., & Carricondo, C. (2014). Botulismo por herida traumática. *Archivos argentinos de pediatría*, 112(2), e50-e52.
- (11) Zariquiey-Esteva, G., Galeote-Cózar, D., Santa-Candela, P., & Castanera-Duro, A. (2018). Botulismo en la UCI: proceso de cuidados. *Enfermería Intensiva*, 29(2), 86-93.
- (12) De Mello Sposito, M. M. (2009). Toxina Botulínica do Tipo A: mecanismo de acción. *Acta fisiátrica*, 16(1), 25-37.
- (13) Pérez Pérez, H., Rubio, C., Pozuelo, M. R., Revert, C., & Hardisson, A. (2003). Botulismo y toxina botulínica. *Revista de Toxicología*, 20(1).
- (14) González, G. R., Leiva, J., Rubio, M., & Fernández-Alonso, M. (2018). Tétanos y botulismo. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 12(51), 3000-3009.

- (15) Tejada M., & Guindel C. (2010). “Tratamiento Con Antitoxina Botulínica En Dos Casos de Botulismo Alimentario.” *Farmacia Hospitalaria* 34(1): 47–48.
- (16) AEMPS: Ficha técnica de AZZALURE 10 unidades/0,05 ml polvo para solución inyectable. (consultado junio 2019).
<https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/71300/FT_71300.html >
- (17) Cecilia Cortés-Monroy, Dra H, and Dra B Soledad Soza. (2014) 25 *Rev. Med. Clin. Condes* usos prácticos de la toxina botulínica en adultos en medicina física y rehabilitación.
- (18) Moguel-Ancheita, S. (2000). Treatment of the strabismus with botulism toxin. *Revista Mexicana de Pediatría*, 67(4), 166-171
- (19) Agustí, A., & Bosch, M. (2003). Usos terapéuticos de la toxina botulínica. *Butlletí d'informació terapèutica del Departament de Sanitat i Seguretat Social de la Generalitat de Catalunya*, 15, 11-4.
- (20) Betancourt Nápoles, R. (2014). Guía para el tratamiento con toxina botulínica de las distonías focales, el espasmo hemifacial y la espasticidad. *Revista Cubana de Neurología y Neurocirugía*, 4(2), 192-200.
- (21) Rueda, M. G. Tratamiento farmacológico de los trastornos del movimiento. *Guía neurológica*. Bogotá: Asociación Colombiana de Neurología, 247-62.
- (22) ALDE: “Distonia Craneal y Otros Espasmos Faciales | ALDE.” (Consultado Junio 2019) < <https://distonia.es/articulo-distonia-craneal-y-otros-espasmos-faciales/> >
- (23) Arnez, L., Carlos, J., Arostegui Bustillos, P., & Alanes Fernández, A. M. (2016). Uso de toxina botulínica en espasmo hemifacial: a propósito de un caso. *Revista médica la Paz*, 22(2), 56-59.
- (24) Rodríguez-Constenla I, Rodríguez-Regal A, Cebrián-Pérez E. Distonías: epidemiología, etiología, diagnóstico y tratamiento. *Rev Neurol* 2009;48 (Supl. 1):61-69
- (25) Carruthers. A & Carruthers. J. (2018). *Toxina botulínica*. Barcelona: Elsevier, 2-12.
- (26) Ceballos-Baumann, A. O. (2001). Evidence-based medicine in botulinum toxin therapy for cervical dystonia. *Journal of neurology*, 248(1), I14-I20.
- (27) Pascual-Pascual, S. I., Herrera-Galante, A., Póo, P., García-Aymerich, V., Aguilar-Barberà, M., Bori-Fortuny, I., & Vivancos-Matellano, F. (2007). Guía terapéutica de la espasticidad infantil con toxina botulínica. *Rev Neurol*, 44(5), 303-9.

- (28) Póo, P., Galván-Manso, M., Casartelli, M. J., López-Casas, J., Gassió-Subirats, R. M., Blanco, C., & Terricabras-Carol, L. (2008). Toxina botulínica en la parálisis cerebral infantil. *Rev neurol*, 47(supl 1), S1-S4.
- (29) Chaná, P., & Canales, G. (2003). Distonías ocupacionales. *Revista chilena de neuro-psiquiatría*, 41(1), 19-24.
- (30) Borau A, et al. Diagnóstico y tratamiento del paciente con hiperactividad neurogénica del músculo detrusor. Revisión sistemática. *Actas Urol Esp*. 2017.
- (31) Castro, D., Espuña, M., Prieto, M., & Badia, X. (2005). Prevalencia de vejiga hiperactiva en España: estudio poblacional. *Archivos Españoles de Urología* (Ed. impresa), 58(2), 131-138.
- (32) Pascual, J. (2012). Migraña crónica: tratamiento. *Rev Neurol*, 54(Suppl 2), S31-8.
- (33) Visens, L. S. (2014). Actualización en la prevención y tratamiento de la migraña. *Medicina* (Buenos Aires), 74(2).
- (34) Pérez, M. A. C., Grimalt, R., Solé, J. V., & Peri, J. M. (2002). Hiperhidrosis primaria. *Medicina Clínica*, 119(17), 659-665.
- (35) Guida, S., Farnetani, F., Nisticò, S. P., Mariarosaria, C. G., Babino, G., Pellacani, G., & Fulgione, E. (2018). New trends in botulinum toxin use in dermatology. *Dermatology Practical & Conceptual*, 8(4), 277.
- (36) Fernandez, R. A., López Laur, J. D., Ciccarelli, A. S., De Jong, L. I. T., Caballero, P. A., & Bianco, M. I. (2006). Toxina Botulínica para uso terapéutico.
- (37) Alcolea López, J. M. (2011). Actualización sobre aplicaciones de la toxina botulínica en estética facial. *Cirugía Plástica Ibero-Latinoamericana*, 37(1), 81-90.